ใบรับรองวิทยานิพนธ์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วิจัยและพัฒนาการเกษตร)

ปริญญา

วิจัยและพัฒนาการเกษตร | คณะเกษตร กำแพงแสน

สาขา | **ภาควิชา**

เรื่อง ฤทธิ์ต้านเชื้อราของสารสกัดจากพืชต่อเชื้อรา *Pseudocercospora dendrobii* และการควบคุมโรคใบปื้นเหลืองของกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์แดงพิริยา

Antifungal Activity of Plant Extracts Against *Pseudocercospora dendrobii* and Control of Yellow Leaf Blotch Disease in Dendrobium Orchid cv. 'Dang Piriya'

นามผู้วิจัย นางสาวจิรภา อิ่มประสิทธิชัย

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก .....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ชลิดา เล็กสมบูรณ์, วท.ด.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม .....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ธรรมศักดิ์ ทองเกตุ, Ph.D.)

ประธานสาขาวิชา .....

(รองศาสตราจารย์ธงชัย มาลา, Ph.D.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

.....

(รองศาสตราจารย์กัญจนา ธีระกุล, D.Agr.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ ..... **เดือน** ..... **พ.ศ.** .....

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

ฤทธิ์ต้านเชื้อราของสารสกัดจากพืชต่อเชื้อรา *Pseudocercospora dendrobii* และการควบคุมโรคใบปื้นเหลืองของกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์แดงพิริยา

Antifungal Activity of Plant Extracts Against *Pseudocercospora dendrobii* and Control of Yellow Leaf Blotch Disease in Dendrobium Orchid cv. ‘ Dang Piriya’

โดย

นางสาวจิรภา อิ่มประสิทธิชัย

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วิจัยและพัฒนาการเกษตร)
พ.ศ. 2554

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

จิรภา อิ่มประสิทธิชัย 2554: ฤทธิ์ต้านเชื้อราของสารสกัดจากพืชต่อเชื้อรา *Pseudocercospora dendrobii* และการควบคุมโรคใบปื้นเหลืองของกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์แดงพิริยา ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วิจัยและพัฒนาการเกษตร) สาขาวิจัยและพัฒนาการเกษตร คณะเกษตร กำแพงแสน อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: ผู้ช่วยศาสตราจารย์ชลิดา เล็กสมบูรณ์, วท.ด. 57 หน้า

โรคใบปื้นเหลืองของกล้วยไม้เกิดจากเชื้อรา *Pseudocercospora dendrobii* เป็นโรคหนึ่งที่ก่อให้เกิดความเสียหายอย่างมากในประเทศไทย การศึกษาการควบคุมโรคใบปื้นเหลืองด้วยสารสกัดจากข่า ไพล เจตมูลเพลิงแดง และสะเดา ทำการทดลองทั้งในห้องปฏิบัติการและในสภาพโรงเรือน โดยการทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชในการยับยั้งเชื้อรา *P. dendrobii* ในห้องปฏิบัติการ ทั้งการทดสอบการเจริญของเส้นใย และการงอกของสปอร์เชื้อรา เมื่อใช้แอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ในการสกัดสารจากพืชเพื่อยับยั้งเชื้อรา *P. dendrobii* ที่เจริญบนอาหาร V-8 juice agar พบว่า สารสกัดจากข่า และไพลที่ความเข้มข้น 5,000 มิลลิกรัมต่อลิตร สารสกัดจากเจตมูลเพลิงแดงที่ความเข้มข้น 7,500 มิลลิกรัมต่อลิตร และสารสกัดจากสะเดาที่ความเข้มข้น 30,000 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราได้ 100 เปอร์เซ็นต์ สารสกัดจากข่า และเจตมูลเพลิง - แดงที่ความเข้มข้น 2,500 มิลลิกรัมต่อลิตร สารสกัดจากไพล และสะเดาที่ความเข้มข้น 10,000 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อราได้ 100 เปอร์เซ็นต์ การศึกษาศักยภาพของสารสกัดจากพืชทั้ง 4 ชนิดในการลดความรุนแรงของโรคใบปื้นเหลืองที่สวนกล้วยไม้ไพบูลย์ไพรีพ่ายฤทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน โดยใช้สารสกัดจากพืชแต่ละชนิดที่ความเข้มข้น 20,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ฉีดพ่นกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์แดงพิริยา จากผลการทดลองพบว่า สารสกัดจากพืชสามารถยับยั้งโรคได้ ถึงแม้ว่าจะมีเชื้อจำนวนมากเข้าทำลายเนื้อเยื่อพืชอยู่ก่อนแล้ว โดยพบว่า สารสกัดจากเจตมูลเพลิงแดงสามารถยับยั้งโรคใบปื้นเหลืองได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สารสกัดจากเจตมูลเพลิงแดงสามารถลดความรุนแรงของโรคได้ 3 เดือนหลังจากฉีดพ่นสารสกัดลงบนใบทุก 7 วัน เป็นเวลา 4 เดือน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติระหว่างสารสกัดจากพืชชนิดอื่นและกรรมวิธีควบคุม เช่นเดียวกับสารเคมีคาร์เบนดาซิมและกรรมวิธีควบคุมที่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

_____ _____ ___ / ___ / ___

ลายมือชื่อนิสิต ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Chirapa Imprasittichai 2011: Antifungal Activity of Plant Extracts Against *Pseudocercospora dendrobii* and Control of Yellow Leaf Blotch Disease in Dendrobium Orchid cv. 'Dang Piriya'. Master of Science (Agricultural Research and Development), Major Field: Agricultural Research and Development, Faculty of Agriculture at Kamphaeng Saen. Thesis Adviser: Assistant Professor Chalida Leksomboon, Ph.D. 57 pages.

Yellow leaf blotch disease (YLB) of orchid caused by *Pseudocercospora dendrobii* is one of the most destructive diseases in Thailand. Disease control potential towards YLB provided by crude extracts obtained from *Alpinia galanga* Linn., *Plumbago indica* Linn., *Zingiber montanum* Koen. and *Azadirachta indica* Linn. was investigated *in vitro* and *in vivo*. Antifungal activity of the plant extracts on the fungus *P. dendrobii* were determined *in vitro* by means of mycelial growth and spore germination. The plants were extracted with 95% ethyl alcohol and the crude extracts were tested on it effectiveness to inhibit growth of *P. dendrobii* on V-8 juice agar. It was found that the crude extract of *A. galanga* and *Z. montanum* at 5,000 mg/l, the crude extract of *P. indica* at 7,500 mg/l and the crude extract of *A. indica* at 30,000 mg/l could 100% inhibit mycelial growth of the fungus. The crude extract of *A. galanga* and *P. indica* at 2,500 mg/l and the crude extract of *Z. montanum* and *A. indica* at 10,000 mg/l could inhibit spore germination of *P. dendrobii* at 100%. The potential of the four plant extracts to reduce disease severity of YLB was determined under Paiboonpaireepairit greenhouse at Kasetsart University, Kamphaengsaen Campus. The plant extract at 20,000 mg/l were sprayed seperately to Dendrobium Orchid cv. 'Dang Piriya'. Although the pathogen multiplied abundantly in the plant tissue, the plant extracts suppressed disease development. It was found that foliar spray of *P. indica* significantly suppressed YLB. The *P. indica* extract also reduced the disease severity 3 months after spraying crude extract on leaves of natural infected plants 7 days interval for 4 months. There was no significant difference between the other plant extract treatment and the control treatment. Also, there was no significant difference between fungicide (carbendazim) treatment and control treatment.

_____ _____ ___ / ___ / ___

Student's signature Thesis Advisor's signature

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้ากราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชลิดา เล็กสมบูรณ์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ธรรมศักดิ์ ทองเกตุ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่ได้กรุณาให้คำปรึกษาแนะนำ รวมถึงคำอบรมสั่งสอนระหว่างดำเนินงานวิจัย ตลอดจนการตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์เล่มนี้จนเสร็จสมบูรณ์ กราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.ศิริพรรณ ตันตาคม ประธานการสอบ รองศาสตราจารย์มานะ กาญจนมณีเสถียร ผู้ทรงคุณวุฒิภายนอก ที่ได้กรุณาแนะนำเพิ่มเติม ทำให้วิทยานิพนธ์เล่มนี้สมบูรณ์มากยิ่งขึ้น ขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่รวมถึงเพื่อนๆ พี่ๆ น้องๆทุกท่าน ที่ได้ให้ความช่วยเหลือด้านต่างๆจนสามารถทำงานวิจัยนี้สำเร็จได้ด้วยดี

กราบขอบพระคุณครอบครัวของข้าพเจ้าที่ให้การสนับสนุนและเป็นกำลังใจในการศึกษา ข้าพเจ้าขอมอบคุณประโยชน์ และความดีของวิทยานิพนธ์เล่มนี้แก่ ครอบครัว ครู อาจารย์ ทุกท่านที่เคยอบรมสั่งสอนข้าพเจ้า

ขอขอบพระคุณสวนจิตรกาญจน์ ออร์คิดส์ จังหวัดกาญจนบุรี สวนไพบูลย์ไพรีพ่ายฤทธิ์ ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรกำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม ที่กรุณาให้ความช่วยเหลือในด้านสถานที่ อุปกรณ์ต่างๆในการทำการทดสอบทั้งในห้องปฏิบัติการและในสภาพโรงเรือน จนสามารถทำงานวิจัยสำเร็จได้ด้วยดี

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้ได้รับการสนับสนุนจากทุนสนับสนุนคุณภาพงานวิจัยจากบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

จิรภา อิ่มประสิทธิชัย

กันยายน 2554

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญ

หน้า

สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(3)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	3
การตรวจเอกสาร	4
อุปกรณ์และวิธีการ	15
ผลและวิจารณ์	21
ผล	21
วิจารณ์	42
สรุปและข้อเสนอแนะ	47
สรุป	47
ข้อเสนอแนะ	49
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	50
ประวัติการศึกษาและการทำงาน	57

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ประสิทธิภาพของสารสกัดจากข่า ไพล เจตมูลเพลิงแดง และสะเดา ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *P. dendrobii*	25
2	ประสิทธิภาพของสารสกัดจากข่า ไพล เจตมูลเพลิงแดง และสะเดา ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆในการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา *P. dendrobii*	31
3	เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคใบปื้นเหลืองในกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์แดงพิริยาหลังการฉีดพ่นสารสกัดจากพืชและสารเคมีที่ระยะเวลาต่างๆในสภาพโรงเรือน	38
4	เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคใบปื้นเหลืองในกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์แดงพิริยาที่เพิ่มขึ้นในระยะเวลาต่างๆหลังการฉีดพ่นสารสกัดจากพืชและสารเคมีที่ระยะเวลาต่างๆในสภาพโรงเรือน	39
5	เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคใบปื้นเหลืองในกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์แดงพิริยาที่เพิ่มขึ้นในระยะเวลาต่างๆหลังการฉีดพ่นสารสกัดจากพืชและสารเคมีในสภาพโรงเรือน กลุ่มที่แสดงอาการของโรคเริ่มต้น 1-25 เปอร์เซ็นต์	40
6	เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคใบปื้นเหลืองในกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์แดงพิริยาที่เพิ่มขึ้นในระยะเวลาต่างๆหลังการฉีดพ่นสารสกัดจากพืชและสารเคมีในสภาพโรงเรือน กลุ่มที่แสดงอาการของโรคเริ่มต้น 26-50 เปอร์เซ็นต์	41

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	ลักษณะโคโลนีของเชื้อรา *P. dendrobii* บนอาหาร V-8 juice agar เมื่ออายุ 20 วัน	21
2	แถบดีเอ็นเอขนาด 680 bp จากการตรวจเชื้อด้วยเทคนิค PCR โดยใช้ไพรเมอร์ ITS4/ITS5	22
3	ลักษณะโคโลนีของเชื้อรา *P. dendrobii* เมื่อทดสอบกับสารสกัดจากข่า ที่ความเข้มข้นต่างๆโดยวิธี poisoned food technique	26
4	ลักษณะโคโลนีของเชื้อรา *P. dendrobii* เมื่อทดสอบกับสารสกัดจากไพล ที่ความเข้มข้นต่างๆโดยวิธี poisoned food technique	27
5	ลักษณะโคโลนีของเชื้อรา *P. dendrobii* เมื่อทดสอบกับสารสกัดจากเจตมูลเพลิงแดง ที่ความเข้มข้นต่างๆโดยวิธี poisoned food technique	28
6	ลักษณะโคโลนีของเชื้อรา *P. dendrobii* เมื่อทดสอบกับสารสกัดจากสะเดา ที่ความเข้มข้นต่างๆโดยวิธี poisoned food technique	29
7	ลักษณะสปอร์ของเชื้อรา *P. dendrobii* เมื่อทดสอบกับสารสกัดจากข่า ที่ความเข้มข้นต่างๆโดยวิธี spore drop technique	32
8	ลักษณะสปอร์ของเชื้อรา *P. dendrobii* เมื่อทดสอบกับสารสกัดจากไพล ที่ความเข้มข้นต่างๆโดยวิธี spore drop technique	33
9	ลักษณะสปอร์ของเชื้อรา *P. dendrobii* เมื่อทดสอบกับสารสกัดจากเจตมูลเพลิงแดง ที่ความเข้มข้นต่างๆโดยวิธี spore drop technique	34
10	ลักษณะสปอร์ของเชื้อรา *P. dendrobii* เมื่อทดสอบกับสารสกัดจากสะเดา ที่ความเข้มข้นต่างๆโดยวิธี spore drop technique	35

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ฤทธิ์ต้านเชื้อราของสารสกัดจากพืชต่อเชื้อรา *Pseudocercospora dendrobii* และการควบคุมโรคใบปื้นเหลืองของกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์แดงพิริยา

Antifungal Activity of Plant Extracts Against *Pseudocercospora dendrobii* and Control of Yellow Leaf Blotch Disease in Dendrobium Orchid cv. 'Dang Piriya'

คำนำ

กล้วยไม้เป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยวที่อยู่ในวงศ์ Orchidaceae มีอยู่ประมาณ 15,000 ถึง 25,000 ชนิด เป็นพืชเศรษฐกิจที่มีความสำคัญของไทย เนื่องจากเป็นไม้ส่งออกขายต่างประเทศ ในปี 2552 ทำรายได้ส่งออก 2,366.4 ล้านบาท (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2552) พันธุ์กล้วยไม้ที่นิยมปลูกเป็นการค้าเพื่อการส่งออกส่วนใหญ่ประมาณร้อยละ 80 เป็นกล้วยไม้สกุลหวาย (Dendrobium) โดยประเทศที่นำเข้ากล้วยไม้จากประเทศไทยมากที่สุดคือ ประเทศญี่ปุ่น กล้วยไม้ได้รับความนิยมอย่างต่อเนื่องทั้งในและต่างประเทศเนื่องจากมีลักษณะดอกและมีสีสันลวดลายสวยงาม มีอายุการใช้งานได้นาน

ปัญหาสำคัญในการผลิตกล้วยไม้เพื่อให้ได้คุณภาพตามที่ตลาดต้องการและเพื่อการส่งออกคือ ปัญหาด้านโรคพืช ซึ่งโรคที่สำคัญ และทำความเสียหายให้กับกล้วยไม้ในหลายสกุล โดยเฉพาะสกุลหวาย คือ โรคใบปื้นเหลือง (Yellow leaf blotch) สาเหตุเกิดจากเชื้อรา *Pseudocercospora dendrobii* (นิยมรัฐ, 2542) ลักษณะสำคัญของโรคใบปื้นเหลืองที่เห็นได้ชัดเจนคือ แผลที่เกิดจากการเข้าทำลายของเชื้อราเกิดได้ทั้งด้านหน้าใบ และหลังใบ ใบจะมีจุดกลมหรือเป็นปื้นสีเหลือง แผลบนใบมีไม่จำกัด เมื่อพลิกดูใต้ใบตรงบริเวณรอยแผลมักเห็นเป็นกลุ่มผงสีเทาดำอยู่บนแผล โรคนี้ถ้าเป็นมากใบอาจเหลืองร่วงก่อนกำหนด ทำให้ต้นกล้วยไม้ทิ้งใบหมด ไม่มีใบทำหน้าที่สังเคราะห์แสง ต้นกล้วยไม้มีอาการโทรม ทำให้ดอกกล้วยไม้มีจำนวนและขนาดลดลง ในการป้องกันกำจัดเกษตรกรได้มีการนำสารเคมีป้องกันกำจัดโรคพืชพวกคาร์เบนดาซิม แมนโคเซบ เข้ามาใช้ ซึ่งการใช้สารเคมีมากเกินความจำเป็นส่งผลให้เชื้อราสาเหตุโรคต้านทานต่อสารเคมี ทำให้การใช้สารเคมีไม่สามารถควบคุมโรคได้ในหลายๆพื้นที่ และสารเคมียังส่งผลกระทบต่อมนุษย์ สัตว์ และ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สิ่งแวดล้อม จึงได้เกิดความพยายามที่จะควบคุมโรคของกล้วยไม้โดยหาสิ่งทดแทนสารเคมี เช่น การใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ และการใช้สารสกัดจากพืชเป็นต้น

การวิจัยในครั้งนี้ จึงทำการศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรค และประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืชในการควบคุมโรคใบปื้นเหลืองของกล้วยไม้สกุลหวายเพื่อการพัฒนานำไปใช้ทดแทนสารเคมีในระบบเกษตรยั่งยืน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชในการยับยั้งเชื้อรา *P. dendrobii* สาเหตุโรคใบปื้นเหลืองของกล้วยไม้สกุลหวาย

2. เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืชในการควบคุมโรคใบปื้นหลืองของกล้วยไม้สกุลหวาย

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การตรวจเอกสาร

1. กล้วยไม้และความสำคัญทางเศรษฐกิจ

กล้วยไม้จัดอยู่ใน Family Orchidaceae ซึ่งเป็นวงศ์ที่ใหญ่ที่สุดและมีวิวัฒนาการมากที่สุดในบรรดาพืชไม้ดอกทั้งหมด สามารถพบได้ทั่วโลกเนื่องจากการปรับตัวเองเพื่อให้สามารถเจริญเติบโตได้ในสภาพแวดล้อมนั้นๆ กล้วยไม้เป็นพืชหลายฤดู อยู่ในจำพวกพืชใบเลี้ยงเดี่ยว แบ่งออกเป็น 2 ประเภทตามสภาพที่พบตามธรรมชาติคือ กล้วยไม้ดิน (terrestrial orchids) และกล้วยไม้อิงอาศัย (epiphyte orchids) (จิตราพรรณ, 2542) กล้วยไม้เป็นพืชที่มีส่วนต่างๆสมบูรณ์ คือ มีราก ต้น ใบ ดอก และผล รากของกล้วยไม้ไม่มีรากแก้ว รากกลมอวบเป็นเส้นเล็กแข็งหรือแบนลีบ มีทั้งรากดิน รากกึ่งดิน รากอากาศและรากกึ่งอากาศ ลำต้นไม่มีแก่นไม้และเปลือก เนื้อในเสมอกันแบ่งเป็นลำต้นแท้ มีข้อและปล้องเหมือนพืชใบเลี้ยงเดี่ยวทั่วไป มีการเจริญเติบโตทางยอด ลำต้นเทียมหรือลำลูกกล้วยไว้สะสมอาหาร มีลำต้นเป็นเหง้า ข้อและปล้องถี่ เจริญในแนวนอนไปตามผิวของเครื่องปลูก ใบจัดเป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยว มีเส้นขนานกันตามแนวยาวของใบ ใบมีลักษณะต่างกันออกไปเช่นรูปแถบ รูปกลมยาวหรือลดรูปเป็นเพียงเกล็ด แผ่นใบบางคล้ายใบหมาก หนาอวบน้ำหรือเป็นแท่งกลม ส่วนมากไม่มีส่วนที่เป็นก้านใบชัดเจน สีของใบเป็นสีเขียวสด บางชนิดมีลวดลาย ดอกเป็นดอกสมบูรณ์เพศ ดอกออกที่ปลายลำต้น ซอกใบหรือข้างลำต้น ดอกเป็นดอกเดี่ยวหรือเป็นช่อ แต่ละดอกมีลักษณะคือ มีกลีบรองดอกหรือกลีบชั้นนอก มักมีลักษณะและสีสันคล้ายใบ กลีบดอก 6 กลีบแบ่งออกเป็น 2 ชั้น ชั้นนอก 3 กลีบ ชั้นใน 3 กลีบ กลีบชั้นนอกอยู่ข้างบน 1 กลีบ ข้างๆหรือข้างล่าง 2 กลีบ กลีบคู่ล่างนี้จะมีขนาด รูปร่างและสีสันเหมือนกันแต่กลีบบนอาจต่างออกไป สำหรับกลีบชั้นใน 3 กลีบ กลีบหนึ่งอยู่ข้างล่าง อีก 2 กลีบอยู่ข้างบน กลีบคู่นี้จะมีขนาดรูปทรง สีสันเหมือนกัน ส่วนกลีบล่างจะเปลี่ยนไปโดยมีขนาดเล็กลงหรือโตขึ้นและมีสีสันผิดไปจากกลีบคู่บน กลีบคู่ล่างมีชื่อเรียกเฉพาะว่าปากหรือกระเป๋า (จิตราพรรณ, 2542; กรมวิชาการเกษตร , 2542)

กล้วยไม้เป็นพืชเศรษฐกิจที่มีความสำคัญของไทยเพราะเป็นพืชส่งออกขายต่างประเทศทำรายได้เข้าประเทศปีละหลายพันล้านบาทและมีปริมาณที่เพิ่มขึ้นทุกปี โดยประเทศไทยเป็นประเทศผู้ส่งออกกล้วยไม้ตัดดอกอันดับหนึ่งของโลก ตลาดส่งออกที่สำคัญได้แก่ ญี่ปุ่น อิตาลี และอเมริกาเป็นต้น จากข้อมูลของสำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร (2552) พบว่าในปี 2539 ประเทศไทยมีพื้นที่เพาะปลูกกล้วยไม้ 14,400 ไร่ และเพิ่มเป็น 20,739 ไร่ในปี 2550 กล้วยไม้ที่นิยมปลูกเพื่อ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตัดดอกมากที่สุดคือ กล้วยไม้สกุลหวาย (Dendrobium) ส่วนกล้วยไม้ที่เกษตรกรนิยมปลูกรองลงมา คือสกุลออนซิเดียม (Oncidium) แวนด้า (Vanda) และมอคคารา (Mokara) เป็นต้น

2. โรคใบปื้นเหลือง (Yellow Leaf Blotch)

โรคของกล้วยไม้ทั้งหมดจากดรรชนีโรคพืชในประเทศไทยมี 21 โรค (พัฒนา และคณะ, 2537) เช่นโรคใบปื้นเหลือง โรคเน่าดำ โรคใบจุด โรคดอกสนิม โรคแอนแทรคโนส โรคเน่าเละ โรคยอดบิด แมลงศัตรูที่สำคัญได้แก่ เพลี้ยไฟ ไรแดง เป็นต้น

โรคใบปื้นเหลืองเป็นโรคที่มีความสำคัญต่อการผลิตกล้วยไม้ ในประเทศไทยพบว่าสามารถเกิดได้ในกล้วยไม้เกือบทุกสกุลโดยเฉพาะสกุลหวาย (นิยมรัฐ, 2542) นอกจากนี้ยังพบการแพร่ระบาดของโรคนี้ในกล้วยไม้สกุลหวายที่หมู่เกาะฮาวาย ประเทศสหรัฐอเมริกาอีกด้วย (Uchida, 1994) ลักษณะสำคัญของโรคใบปื้นเหลืองที่เห็นได้ชัดเจนคือ แผลที่เกิดจากการเข้าทำลายของเชื้อราเกิดได้ทั้งด้านหน้าใบและหลังใบ แผลที่เห็นเป็นหย่อมหรือเป็นปื้นสีเหลือง จำนวนแผลบนใบมีไม่จำกัด ด้านหลังใบตรงบริเวณรอยแผลมักมีผงคล้ายฝุ่นสีน้ำตาลดำหรือเทาดำอยู่บนแผล ผงนี้คือเส้นใยและสปอร์ของเชื้อราที่เป็นสาเหตุของโรค เชื้อมักเข้าทำลายที่ใบแก่หรือใบที่เจริญเต็มที่แล้วมากกว่าใบอ่อน ใบที่เกิดวงแผลสีเหลืองมาก อาจร่วงก่อนกำหนด ถ้าเป็นโรครุนแรงกล้วยไม้ทิ้งใบหมด ไม่มีใบสังเคราะห์แสงทำหน้าที่สังเคราะห์อาหารให้แก่พืช (นิยมรัฐ, 2544) ต้นกล้วยไม้มีอาการโทรม ทำให้ดอกกล้วยไม้มีจำนวนและขนาดลดลง (อำไพวรรณ, 2540) สปอร์ของเชื้อสาเหตุสามารถปลิวไปตามลม และโดยการฟุ้งกระจายของสปอร์ไปกับละอองน้ำขณะฉีดพ่นให้น้ำ โรคนี้มักพบในช่วงปลายฤดูฝนจนถึงต้นฤดูหนาวเพราะมีอากาศเย็นและความชื้นสูง (กุลฉวี, 2526)

ในการควบคุมโรคนั้นจำเป็นต้องมีการควบคุมตั้งแต่ในแปลงปลูกเพื่อที่จะสามารถควบคุมโรคและลดความเสียหายจากการเข้าทำลายของเชื้อโรค แนวทางปฏิบัติในการควบคุมโรคที่สำคัญคือการควบคุมโรคโดยการเขตกรรม โดยการจัดการระบายอากาศให้ดีเพื่อลดความชื้น กำจัดใบกล้วยไม้ที่เป็นโรคซึ่งร่วงหล่นอยู่ตามกระถางหรือตามพื้นดิน ระวังเรื่องการขาดธาตุอาหารเพราะจะทำให้กล้วยไม้อ่อนแอง่ายต่อการเข้าทำลายของเชื้อโรค และการควบคุมโดยการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดโรคพืช เช่น คาร์เบนดาซิม เบโนมิล แมนโคเซบเป็นต้น (อำไพวรรณ และคณะ, 2543)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

3. ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *P. dendrobii* Deighton

โรคใบปื้นเหลืองของกล้วยไม้เกิดจากเชื้อรา *P. dendrobii* Deighton จัดอยู่ใน Subdivision Deuteromycotina ซึ่งเป็นราพวก imperfect fungi เชื้อรานี้สร้างเส้นใยสีชีดจนถึงสีน้ำตาลเข้ม เส้นใยมีผนังกั้น (septate) ผนังเซลล์บางเรียบ ก้านชูสปอร์ (conidiophore) อยู่รวมเป็นกระจุก (Kwun and Park, 2007) มีขนาดเล็กจนถึงปานกลาง รูปร่างเป็นทรงกระบอก มีผนังกั้น อาจแตกหรือไม่แตกกิ่งก้าน สีเขียวมะกอกจนถึงสีน้ำตาลปนเขียว ผนังบางเรียบ ก้านชูสปอร์มีขนาดกว้าง 4-6 ไมโครเมตร ยาว 25-75 ไมโครเมตร (Pattana *et al*., 1980) ขยายพันธุ์โดยการสร้างโคนิเดีย (conidia) ลักษณะเป็นรูปทรงกระบอกจนถึงรูปทรงคล้ายเข็ม เรียวยาว ปลายแหลม มีขนาดกว้าง 2-4.5 ไมโครเมตร ยาว 15-80 ไมโครเมตร มี 3-8 septate สีเขียวชีดจนถึงน้ำตาลปนเขียว scar ไม่ชัดเจนหรือแทบมองไม่เห็น (Braun and Crous, 2007) germ tube งอกทางด้านปลายและทางด้านฐานของสปอร์ (Hartman *et al*., 1991) โคนิเดียเกิดบนก้านชูสปอร์ซึ่งงอกติดกันเป็นกระจุกที่บริเวณแผลด้านใต้ใบ (Deighton, 1987) อุณหภูมิที่เหมาะในการเจริญของเส้นใยคือ 25 องศาเซลเซียส (Rosa and Menezes, 2001)

จากงานวิจัยส่วนมากพบว่า ได้มีการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อ *P. dendrobii* และศึกษาการเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่างๆ โดยการเลี้ยงเชื้อรา *Pseudocercospora* spp. และ *Cercospora* spp. ต้องใช้เวลานานในการเพาะเลี้ยงซึ่ง El-Gholl *et al*. (1982) ได้ทำการทดลองพบว่าการเลี้ยงเชื้อรา *Pseudocercospora* spp. และ *Cercospora* spp. บนอาหาร V-8 juice agar ที่อุณหภูมิ 20-25 องศาเซลเซียส สามารถที่จะชักนำให้มีการสร้างเส้นใยของเชื้อราได้ดีแต่มีข้อจำกัดคือ การใช้ระยะเวลานานในการเพาะเลี้ยงเชื้อและเป็นการยากที่จะชักนำให้เชื้อสร้างสปอร์ได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อ

4. เทคนิค Polymerase chain reaction (PCR)

การจำแนกเชื้อราสาเหตุโรคพืชทั่วไปศึกษาจากสัณฐานวิทยาของตัวเชื้อ การเข้าทำลายพืชอาศัยเป็นหลัก ต่อมาได้มีการนำเทคนิคอื่นมาใช้ในการจำแนกเพื่อให้ได้ความถูกต้องแม่นยำและรวดเร็วมากขึ้น โดยในปัจจุบันมีการนำเทคนิคการตรวจลายพิมพ์ดีเอ็นเอด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่พอลีเมอเรส (Polymerase chain reaction หรือ PCR) ซึ่งเป็นวิธีที่แม่นยำและรวดเร็ว นำมาใช้ในการวินิจฉัยโรคพืชหลายชนิด ซึ่งเทคนิค PCR นั้นเป็นเทคนิคที่ใช้เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอเป้าหมายโดย

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ใช้เอนไซม์พอลีเมอเรสซ้ำกันหลายๆรอบเพื่อให้ได้ดีเอ็นเอปริมาณเพิ่มขึ้นเป็นทวีคูณ การสังเคราะห์ดีเอ็นเอจะเกิดขึ้นได้จำเป็นต้องมีไพรเมอร์ด้วย (สุรินทร์, 2545) โดยไพรเมอร์ที่เลือกใช้คือคู่ไพรเมอร์ ITS4 และ ITS5 ซึ่งได้จากลำดับนิวคลีโอไทด์ของ internal transcribe spacer (ITS) ซึ่งเป็นตำแหน่งที่มีความหลากหลายทางพันธุกรรมสูง (Mitchell and Zuccaro, 2006) สามารถใช้ในการจำแนกความแตกต่างระหว่างสายพันธุ์ได้ โดย George *et al*. (2000) ได้ทำการตรวจวินิจฉัยเชื้อราในกลุ่ม *Cercospora apii* และเชื้อราชนิดอื่นๆในสกุล *Cercospora* และ *Pseudocercospora* ด้วยเทคนิค PCR โดยใช้คู่ไพรเมอร์ ITS4 และ ITS5 พบว่าคู่ไพรเมอร์นี้ให้แถบดีเอ็นเอขนาด 550 bp ในเชื้อรา *Cercospora* spp. และ *Pseudocercospora* spp. ทุกไอโซเลทที่ทดลอง ยกเว้นเชื้อรา *C. caricis* ที่ได้ดีเอ็นเอขนาด 680 bp ณัฐพงษ์ (2553) ทำการตรวจวินิจฉัยเชื้อรา *Cercospora* spp. ด้วยเทคนิค PCR โดยเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอตรงบริเวณบางส่วนของยีน beta-tubulin (TUB1) โดยใช้ไพรเมอร์ TB2L forward (5’-GTT TCC AGA TCA CCC ACT CC-3’) และ CER2R reverse (5’-TGA GCT CTG GAA CGG TGA CAG CAC-3’) พบว่าได้แถบดีเอ็นเอขนาด 474 bp และยังไม่พบรายงานการใช้เทคนิค PCR ตรวจสอบเชื้อ *P. dendrobii*

5. พืชที่นำมาศึกษาประสิทธิภาพในการควบคุมโรคใบปื้นเหลืองของกล้วยไม้

การใช้ประโยชน์จากพืช แต่เดิมมุ่งเน้นศึกษาเพื่อนำไปใช้งานด้านการแพทย์ โดยเฉพาะพืชสมุนไพรนั้นได้มีการนำมาใช้เป็นยาหรือเป็นองค์ประกอบของยารักษาโรคในมนุษย์ (วิมลมาศ, 2526) และด้วยคุณสมบัติของพืชสมุนไพรที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ได้จึงมีการศึกษาผลของสารสกัดจากพืชสมุนไพรในการยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคพืช โดยพืชที่นำมาศึกษามีดังนี้

ข่า (Galangal)

มีชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Alpinia galanga* (Linn.) Swartz. เป็นพืชในวงศ์ Zingiberaceae มีชื่อท้องถิ่นที่แตกต่างกันเช่น ข่าหยวก ข่าหลวง สะเอเชย เสะเออเคย เป็นพืชที่มีลำต้นอยู่ใต้ดินเรียกว่า "เหง้า" มีข้อและปล้องเห็นได้ชัดเจน เนื้อในสีเหลืองและมีกลิ่นหอม เฉพาะลำต้นที่อยู่เหนือพื้นดินสูงถึง 2 เมตร ใบสีเขียว ออกสลับข้างกัน รูปร่างรียาว ปลายแหลม ดอกออกเป็นช่อที่ยอด ดอกย่อยมีขนาดเล็กสีขาวนวล ด้านในของกลีบดอกมีสีแดงอยู่ด้านหนึ่ง ผลเปลือกแข็ง รูปร่างกลมรี มีฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย โดยสารสกัดข่าด้วยไดเอทิลอีเธอร์ ปิโตรเลียมอีเธอร์ และน้ำกลั่นสามารถฆ่าเชื้อ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

แบคทีเรีย *Escherichia coli* ที่เป็นสาเหตุของอาการจุกแน่น เสียดท้อง โดยพบ eugenol เป็นสารสำคัญในการออกฤทธิ์ฆ่าเชื้อรา โดยสารสกัดข่าด้วยน้ำกลั่น เมทานอล ไดคลอโรมีเทน เฮกเซน หรือแอลกอฮอล์สามารถฆ่าเชื้อ *Microsporum gypseum, Trichophyton rubum* และ *Trichophyton mentagrophyte* ที่เป็นสาเหตุของโรคกลากเกลื้อนได้

การนำสารสกัดข่ามาใช้ในการทดสอบกับเชื้อสาเหตุโรคพืช มีรายงานไว้ดังนี้

Yulia *et al.* (2006) ศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืชบางชนิดในการยับยั้งเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของมะม่วง พบว่า สารสกัดจากข่าสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ 60 -100 เปอร์เซ็นต์ และสารสกัดจากเอทานอลให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งการงอกของสปอร์ได้ดีกว่าสารสกัดจากน้ำ

อนุวัฒน์ (2545) ทดสอบสารสกัดหยาบจากข่าในการยับยั้งเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของมะม่วง พบว่าสารสกัดหยาบที่ความเข้มข้น 5,000 ppm สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราได้ 100 เปอร์เซ็นต์

สมศักดิ์ (2548) ศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากข่า กระเทียม และกระเจี๊ยบในการยับยั้งเชื้อราที่ผลส้มเขียวหวาน พบว่าสารสกัดจากกระเทียมสามารถยับยั้งเชื้อรา *Aspergillus niger* ได้ดีที่สุด รองลงมาคือ สารสกัดจากข่า และกระเจี๊ยบ ตามลำดับ

เอมลิน (2548) ทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากข่า ตะไคร้ต้น และตะไคร้หอม ในการยับยั้งเชื้อรา *Phytophthora* sp. สาเหตุโรคเน่าดำของกล้วยไม้สกุลแวนด้า ซึ่งได้ทดสอบที่ความเข้มข้น 4 ระดับคือ 10, 50, 100 และ 500 ppm พบว่าสารสกัดจากข่าที่ความเข้มข้นสูงสุด มีประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อได้ดีที่สุด คือ 85.52 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือตะไคร้หอม และตะไคร้ต้น ตามลำดับ

สุภัทรา และคณะ (2549) ได้ศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดหยาบ 17 ชนิด ที่ได้จากสมุนไพรวงศ์ขิง ในการต่อต้านการเจริญของเส้นใยของรา 6 ชนิด คือ *Colletorichum capsici, C. gloeosporioides, Dothiorella* sp., *Lasiodiplodia theobromae, Pestalotiopsis* sp. และ *Pythium aphanidermatum* พบว่า สารสกัดจากขิงความเข้มข้น 10,000 ppm ยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *C. capsici*,

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

C. gloeosporioides และ *P. aphanidermatum* ได้ ส่วนสารสกัดหยาบที่ได้จากขิง เร่ว ข่า ขมิ้นอ้อย และว่านชักมดลูก ยับยั้งการงอกของสปอร์ของ *C. capsici*, *C. gloeosporioides* และ *Pestalotiopsis* sp. ได้

ชลิดา และชัยณรงค์ (2550) ศึกษาประสิทธิภาพของพืชสมุนไพร ในการควบคุมเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสในพริก พบว่าสารสกัดจากข่าที่ความเข้มข้น 30,000 ppm สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ 100 เปอร์เซ็นต์ และที่ระดับความเข้มข้น 15,000 ppm สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์ได้ 100 เปอร์เซ็นต์

รวีวรรณ (2551) ทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยและสารสกัดจากข่า ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช 4 ชนิด ได้แก่ *Pyricularia oryzae, Sclerotium rolfsii, Curvularia lunata* และ *Colletotrichum gloeosporioides* ที่ความเข้มข้น 1,000 5,000, 10,000 และ 100,000 ppm พบว่าสารสกัดจากข่ายับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. rolfsii* ได้ในระดับความเข้มข้น 100,000 ppm ในขณะที่น้ำมันหอมระเหยจากข่าสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. oryzae* และ *S. rolfsii* ได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ในทุกระดับความเข้มข้น และยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Curvularia lunata* และ *C. gloeosporioides* ได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ตั้งแต่ระดับความเข้มข้น 3,000 ppm ขึ้นไป

เจตมูลเพลิงแดง (Red leadwort)

มีชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Plumbago indica* Linn. (Syn. *P. rosea*) เป็นพืชในวงศ์ Plumbaginaceae มีชื่อท้องถิ่นที่แตกต่างกัน เช่น ปิดปิวแดง (ภาคเหนือ,อีสาน) คุ้ยวู่ (กระเหรี่ยง – กาญจนบุรี) ตั้งชูโว้ (กระเหรี่ยง - แม่ฮ่องสอน) ไฟใต้ดิน (ภาคใต้) เป็นต้น (สิริวรรณ, 2547) เป็นไม้พุ่ม สูง 0.8 – 1.5 เมตร ลำต้นกลม เรียบ สีเขียวปนแดงถึงแดงเข้มบริเวณข้อ ยอดอ่อนสีแดง ใบเดี่ยวรูปไข่หรือรูปไข่แกมรี กว้าง 3 – 5 เซนติเมตร ยาว 6 – 10 เซนติเมตร เรียงสลับ เมื่อยังอ่อนใบมีสีเขียวปนแดงและเปลี่ยนเป็นสีเขียวเข้มเมื่อแก่ ก้านใบสีเขียวปนแดง ออกดอกเป็นช่อที่ปลายกิ่ง ดอกย่อยมีสีแดง บริเวณกลีบเลี้ยงพบต่อมที่มีลักษณะเหนียว ผลเป็นฝักกลม เมื่อแก่จะแห้ง และแตกได้ ขยายพันธุ์โดยการเพาะเมล็ดและปักชำกิ่ง ส่วนที่นำมาใช้เป็นยาคือ ใบ ดอก ต้น และราก พบสารสำคัญบริเวณรากมากที่สุดโดยรากมีสรรพคุณบำรุงธาตุ บำรุงโลหิต ขับระดู รักษาโรคผิวหนัง และแก้ท้องเสีย สารสำคัญที่พบได้แก่ plumbugin, plumbaginol, dimethyl ether plumbagin, trimethyl ether plumbagin, 6 – hydroxyl plumbagin และ methyl ether plumbagin เป็นต้น

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

มีรายงานถึงฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาว่าเจตมูลเพลิงแดงมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus candidus, A. flavus* และ *A. niger* (ศูนย์สมุนไพรทักษิณ, 2550)

การนำสารสกัดเจตมูลเพลิงแดงมาใช้ในการทดสอบกับเชื้อสาเหตุโรคพืช มีรายงานไว้ดังนี้

เทอดพันธ์ (2544) พบว่าสารสกัดจากเจตมูลเพลิงแดงมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อรา *Pestalotiopsis* sp. สาเหตุโรคใบจุดของลำไยได้

ชลิดา และคณะ (2545) รายงานว่าสารสกัดจากรากเจตมูลเพลิงแดง สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria brassicicola, Curvularia lunata, Colletotrichum gloeosporioides* และ *Pestalotiopsis* sp. ได้

สิริวรรณ และคณะ (2546) ทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดด้วยเอทานอลจากส่วนของราก ใบ และลำต้นเจตมูลเพลิงแดง ในการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสมะม่วง จำนวน 3 ไอโซเลท พบว่าสารสกัดจากราก แสดงผลการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อราทุกไอโซเลทได้ 100 เปอร์เซ็นต์ และไม่พบการยับยั้งในการใช้สารสกัดจากใบ และก้านใบ

สิริวรรณ (2547) รายงานว่าสารสกัดจากเจตมูลเพลิงแดง มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนส และ *Lasiodiplodia theobromae, Phomopsis mangiferae* และ *Dothiorella dominicana* สาเหตุโรคขั้วผลเน่าของมะม่วง โดยพบว่าสารสกัดจากเจตมูลเพลิงแดง ทำให้พื้นที่ในการเกิดโรคบนผลมะม่วงลดลง และไม่พบสารตกค้างจากเจตมูลเพลิงแดงบนผลมะม่วง

ธีรพล (2548) ศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากเจตมูลเพลิงแดงในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของพริก ที่เกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum capsici* โดยการปลูกเชื้อด้วยวิธีทำแผลใช้เวลาบ่มเชื้อ 6 ชั่วโมงพบว่าสารสกัดช่วยลดขนาดของแผลบนผลพริก โดยขนาดของแผลเล็กสุดเมื่อมีการใช้สารสกัดพืชก่อนการปลูกเชื้อ

ชลิดา และชัยณรงค์ (2550) ศึกษาประสิทธิภาพของพืชสมุนไพรในการควบคุมเชื้อรา

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Colletotrichum gloeosporioides สาเหตุโรคแอนแทรคโนสพริก พบว่าสารสกัดจากเจตมูลเพลิง - แดงที่ความเข้มข้น 9,000 ppm สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ 100 เปอร์เซ็นต์ และที่ความเข้มข้น 7,000 ppm สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อราได้ 100 เปอร์เซ็นต์

ชาครีย์ (2550) ศึกษาสารสกัดพืช 5 ชนิด ได้แก่ กระเจี๊ยบแดง ทองพันชั่ง มังคุด หูปลาช่อนแดง และเจตมูลเพลิงแดง ในการต่อต้านเชื้อรา *Colletotrichum capsici* 4 ไอโซเลท และ *C. gloeosporioides* 7 ไอโซเลท พบว่าสารสกัดพืชทุกชนิด มีฤทธิ์ในการต่อต้านเชื้อรา เมื่อทดสอบด้วยวิธี Poisoned Food Technique โดยสารสกัดจากเจตมูลเพลิงแดงสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ทุกไอโซเลท เมื่อนำสารสกัดเจตมูลเพลิงแดงที่ระดับความเข้มข้น 10,000 15,000 20,000 25,000 30,000 35,000 และ 40,000 ppm ไปทดสอบการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา *C. gloeosporioides* จำนวน 7 ไอโซเลท พบว่าที่ระดับความเข้มข้น 10,000 ppm สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อราทุกไอโซเลทที่ทำการทดสอบได้ 100 เปอร์เซ็นต์

ไพล (Cassumunar)

มีชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Zingiber montanum* (Koen.) Theilade , *Zingiber cassumunar* Roxb. เป็นพืชในวงศ์ Zingiberaceae ไพลเป็นไม้ล้มลุก สูง 0.7 – 1.5 เมตร มีเหง้าใต้ดิน เปลือกนอกสีน้ำตาลแกมเหลือง เนื้อในสีเหลืองแกมเขียว กลิ่นเฉพาะ แทงหน่อหรือลำต้นเทียมขึ้นเป็นกอ ประกอบด้วยกาบหรือโคนใบหุ้มซ้อนกัน ใบเดี่ยวเรียงสลับ รูปขอบขนาน แกนใบหอก กว้าง 3.5 – 5.5 เซนติเมตร ยาว 18 – 35 เซนติเมตร ดอกช่อแทงจากเหง้าใต้ดิน กลีบดอกสีนวล ใบประดับสีม่วง ผลแห้งรูปกลม มีรายงานพบสาร curcumin ซึ่งมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อหนองได้ดี มีสาร beta – sitosterol มีฤทธิ์ลดการอักเสบ ฤทธิ์เป็นยาชาเฉพาะที่ ฤทธิ์ต้านฮิสตามีน ฤทธิ์แก้ปวด ฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย โดยสารสกัดจากไพลด้วยไดคลอโรมีเทน แสดงฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* และ *Pseudomonas aeruginosa* โดยมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ (MIC) เท่ากับ 250 และ 125 ไมโครกรัม / แผ่น และมีฤทธิ์ต้านเชื้อราโดยมีรายงานว่าสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราโรคพืชหลายชนิด ได้แก่ *Candida albicans, Alternaria alternata, Aspergillus fumigatus, Fusarium oxysporum, Microsporum gypseum* และ *Rhizopus* sp. เป็นต้น นอกจากนี้น้ำมันหอมระเหยจากไพล มีฤทธิ์ต่อต้านเชื้อรา *Aspergillus flavus* ได้

การนำสารสกัดไพลมาใช้ในการทดสอบกับเชื้อสาเหตุโรคพืช มีรายงานไว้ดังนี้

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Kishore and Dwivedi (1991) รายงานว่าสาร zerumbone ซึ่งเป็นสารพวก sesquiterpene ที่สกัดได้จากไพลมีฤทธิ์ต้านเชื้อรา *Rhozoctonia solani* ซึ่งเป็นเชื้อราที่ทำให้เกิดโรคเน่าในพืช โดยมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่มีผลฆ่าเชื้อราได้เท่ากับ 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งได้ผลดีกว่ายาฆ่าเชื้อราบางชนิด โดยการทดลองใช้ป้องกันการเน่าของเมล็ดพืชที่เกิดจากเชื้อรา *R. solani* พบว่าสามารถป้องกันได้ถึง 85.7 เปอร์เซ็นต์

บัญญัติ (2518) ทดสอบประสิทธิภาพของเครื่องเทศ 27 ชนิด ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ 33 ชนิด พบว่า กานพลู สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราทุกชนิดที่ใช้ทดลอง โดยยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Rhizopus* sp. ได้ดีที่สุด กระชายยับยั้งการเจริญของ *Rhizopus* sp. ข่ายับยั้งการเจริญของ *Curvularia* sp. ขิงแก่ยับยั้งการเจริญของ *Alternaria* sp. และ *Aspergillus* sp. ขิงอ่อนยับยั้งการเจริญของ *Curvularia* sp. และ *Rhizopus* sp. ดอกจันทน์ยับยั้งการเจริญของ *Alternaria* sp. ตะไคร้ยับยั้งการเจริญของ *Rhizopus* sp. และ *Penicillium* sp. ใบกะเพราและใบมะกรูดยับยั้งการเจริญของ *Cunninghamella* sp. และ *Aspergillus* sp. ใบโหระพา ผิวมะกรูด พริกขี้หนูผลยาวและผลสั้น พริกชี้ฟ้า ไพล ลูกผักชี ลูกจันทน์ ใบสะระแหน่ พริกไทย หัวหอมแดง หัวกระเทียม อบเชย ยี่หร่า ยับยั้งการเจริญของ *Rhizopus* sp., *Penicillium* sp., *Aspergillus* sp., *Cunninghamella* sp., *Alternaria* sp., *Fusarium* sp., *Curvularia* sp. และ *Mucor* sp. เป็นต้น

สิริวิภา และคณะ (2537) ได้รายงานถึงประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยจาก ไพล กระชาย และตะไคร้ ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Alternaria porri* สาเหตุโรคใบจุดสีม่วงของหอมแดง ที่ระดับความเข้มข้น 0.05 0.1 0.2 0.5 และ 1 เปอร์เซ็นต์ พบว่าน้ำมันหอมระเหยที่สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ได้แก่ ตะไคร้ ตั้งแต่ 0.05 เปอร์เซ็นต์ กระชายตั้งแต่ 0.2 เปอร์เซ็นต์ และไพล ตั้งแต่ 0.5 เปอร์เซ็นต์ ขึ้นไป

อัจฉรา และอภิชาติ (2540) ศึกษาผลของสารออกฤทธิ์จากพืช 4 ชนิด คือ เหง้าไพล เปลือกมังคุด เหง้าว่านน้ำ และเหง้าขมิ้นชัน พบว่าผงบดแห้งของเหง้าไพล 15 เปอร์เซ็นต์ และเปลือกมังคุด 5 เปอร์เซ็นต์ ทำให้การเจริญของเชื้อราลดลง 47 และ 36 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

กานดา และวิไลลักษณ์ (2547) ศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืชสมุนไพร 5 ชนิด คือ ข่า ทองพันชั่ง พลู ไพล และฟ้าทะลายโจร ที่ระดับความเข้มข้น 10,000 20,000 30,000 และ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

40,000 ppm ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา 2 ชนิด คือ *Phomopsis asparagi* และ *Colletotrichum gloeosporioides* สาเหตุโรคลำต้นไหม้และโรคแอนแทรคโนสในหน่อไม้ฝรั่ง พบว่าสารสกัดจากไพลที่ความเข้มข้นสูงสุด สามารถยับยั้งเชื้อ *Phomopsis asparagi* ได้ 45.23 เปอร์เซ็นต์ และสามารถยับยั้งเชื้อ C. *gloeosporioides* ได้ 56.79 เปอร์เซ็นต์

สุภัทรา และคณะ (2549) ศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดหยาบ 17 ชนิด ที่ได้จากสมุนไพรวงศ์ขิง ในการต่อต้านการเจริญของเส้นใย ของรา 6 ชนิด คือ *Colletotrichum capsici, C. gloeosporioides, Dothiorella* sp., *Lasiodiplodia theobromae, Pestalotiopsis* sp.และ *Pythium aphanidermatum* พบว่า สารสกัดจากไพลยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C. gloeosporioides*, *P. aphanidermatum, Dothiorella* sp., *L. theobromae* และ *Pestalotiopsis* sp. ได้

สะเดา (Neem Tree)

มีชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Azadirachta indica* เป็นพืชในวงศ์ Meliaceae มีชื่อท้องถิ่นที่แตกต่างกัน เช่น สะเลียม กาเดา ไม้เดา จะตัง เป็นพืชยืนต้นขนาดกลาง สูง 12-15 เมตร ขึ้นได้ในป่า หรือปลูกไว้ตามบ้าน ทุกส่วนมีรสขม เรือนยอดเป็นพุ่มกลม เปลือกของลำต้นสีน้ำตาลเทาหรือเทาปนดำ แตกระแหงเป็นร่องเล็กๆตามต้น แต่เปลือกของกิ่งอ่อนเรียบ ใบเป็นช่อแบบขนนก ใบย่อยรูปหอก ขอบใบหยัก ใบออกเวียนกัน ตอนปลายกิ่งจะผลิใบใหม่พร้อมกับผลิดอกในฤดูหนาว ดอกเป็นช่อสีขาว ผลกลมรี อวบน้ำ ผลแก่สีเหลือง ภายในผลมี 1 เมล็ด ซึ่งเป็นที่ทราบกันดีว่ามีการใช้ประโยชน์จากสารสกัดสะเดาในการป้องกันและกำจัดแมลงศัตรูพืช เช่น หนอนกระทู้ชนิดต่างๆ หนอนใยผัก หนอนชอนใบ หนอนม้วนใบ หนอนบุ้ง เพลี้ยไฟ ไรแดง เป็นต้น (โชคชัย, 2537) สารสกัดสะเดายังนำมาใช้เป็นสารป้องกันและยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรคพืชได้อีกหลายชนิด เช่น เชื้อราสาเหตุโรคกล้าเน่าของมะเขือเทศ โรคราน้ำค้าง เชื้อแบคทีเรีย *Erwinia carotovora* ยับยั้งการแพร่ขยายพันธุ์ของเชื้อไวรัสโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ (ToSWW) โดยที่น้ำมันสะเดาสามารถป้องกันการเพิ่มปริมาณประชากรเพลี้ยไฟที่เป็นพาหะนำโรคและมีผลทำให้การระบาดของเชื้อลดลงตามไปด้วย (อัญชลี, 2551)

การนำสารสกัดสะเดามาใช้ในการทดสอบกับเชื้อสาเหตุโรคพืช มีรายงานไว้ดังนี้

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Amadioha (2000) ศึกษาการควบคุมโรคใบไหม้ของข้าวที่เกิดจากเชื้อรา *Pyricularia oryzae* โดยใช้สารสกัดสะเดา แบ่งเป็น สารสกัดน้ำมันหอมระเหย สกัดด้วยแอลกอฮอล์ และสกัดด้วยน้ำ พบว่าสารสกัดน้ำมันหอมระเหยสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ดีที่สุด รองลงมาคือสกัดด้วยแอลกอฮอล์ และน้ำ ตามลำดับ

Verma and Kharwar (2006) ศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดสะเดาในการยับยั้งเชื้อรา *Curvularia lunata* พบว่าสารสกัดสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้สูงสุด 78.8 เปอร์เซ็นต์ ที่ความเข้มข้น 60,000 ppm

อุดมศักดิ์ (2540) ทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืชสมุนไพร 3 ชนิด คือ สาบเสือ ฟ้าทะลายโจร และสะเดา ที่ความเข้มข้น 20,000 40,000 60,000 80,000 และ 100,000 ppm ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา 3 ชนิด คือ *Sclerotium rolfsii, Fusarium oxysporum* และ *Paecilomyces lilacinus* พบว่า สะเดา สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *F. oxysporum* ได้ดีที่ทุกความเข้มข้นโดยที่ความเข้มข้นต่ำ (20,000 ppm) ยับยั้งได้ 64.30 เปอร์เซ็นต์ และที่ความเข้มข้นสูงสุด (100,000 ppm) ยับยั้งได้ 82.28 เปอร์เซ็นต์ และที่ความเข้มข้นเดียวกันนี้ สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. lilacinus* ได้ 59.16 และ 93.58 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนเชื้อ *S. rolfsii* ต้องใช้สารที่ความเข้มข้นสูง (80,000 – 100,000 ppm) จึงสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ดี

วิทยา (2541) ศึกษาผลของสารสกัดสะเดาที่มีต่อการเจริญของเชื้อ *Sclerotium rolfsii* สาเหตุโรคโคนเน่าพริก ที่ระดับความเข้มข้น 0 4,000 5,000 และ 6,000 ppm โดยวิธีจุ่มแช่เมล็ดพริก 24 ชั่วโมง ที่ความเข้มข้นต่างๆ ผลการทดลองพบว่า หลังจากปลูกเชื้อเป็นเวลา 24 ชั่วโมง สารสกัดสะเดาสามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยได้ โดยวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อราเฉลี่ยได้เท่ากับ 1.25 1.12 0.75 และ 0.5 เซนติเมตร ตามลำดับ

วิภา (2544) ทดสอบสารสกัดจากพืชสมุนไพร 3 ชนิด คือ มะรุม กะเพรา และสะเดา ต่อเชื้อรา*Colletotrichum gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของมะละกอ พบว่าสารสกัดจากสะเดาที่ระดับความเข้มข้น 2,500 5,000 10,000 15,000 และ 20,000 ppm สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ 13.3 28.9 45.6 60 และ 74.4 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

อุปกรณ์และวิธีการ

1. เชื้อรา *Pseudocercospora dendrobii* ที่ใช้สำหรับการทดลอง

1.1 การแยกเชื้อรา *P. dendrobii*

เก็บตัวอย่างใบกล้วยไม้ที่แสดงอาการโรคใบปื้นเหลืองจากแปลงของเกษตรกรในจังหวัดกาญจนบุรี มาแยกเชื้อให้บริสุทธิ์ด้วยวิธี tissue transplanting method โดยตัดใบพืชบริเวณที่เป็นโรคให้คาบเกี่ยวกับบริเวณที่เป็นเนื้อเยื่อปกติเป็นชิ้นเล็กๆ ขนาดประมาณ 0.5x0.5 เซนติเมตร แช่ชิ้นพืชในคลอรอกซ์ 10 เปอร์เซ็นต์ เพื่อฆ่าเชื้อที่ผิวนอกเป็นเวลา 3-5 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 2 ครั้ง ซับให้แห้งด้วยกระดาษทิชชู่นึ่งฆ่าเชื้อ จากนั้นนำชิ้นใบพืชวางบนอาหาร V-8 juice agar โดยวางจานเลี้ยงเชื้อจานละ 4 ชิ้น นำเชื้อที่แยกได้เลี้ยงบนอาหาร V-8 juice agar (El-Gholl *et al*., 1982) บ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 วัน

1.2 การจำแนกเชื้อรา *P. dendrobii*

1.2.1 การสกัดดีเอ็นเอ

ตัวอย่างที่นำมาสกัดดีเอ็นเอได้แก่ เส้นใยของเชื้อราที่ทำการแยกเชื้อไว้และเลี้ยงบนอาหาร V-8 juice agar เป็นเวลา 20 วัน ใบกล้วยไม้ที่แสดงอาการของโรคใบปื้นเหลืองและใบกล้วยไม้ที่ไม่เป็นโรค ใช้วิธีดัดแปลงจาก George *et al*. (2000) โดยนำตัวอย่าง 0.1 กรัม บดด้วยไนโตรเจนเหลวจากนั้นเติม cetyltrimethylammonium bromide (CTAB) ที่มีความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 500 ไมโครลิตรและ β-mercaptoethanol ที่มีความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 5 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน บ่มที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที เติม chloroform-isoamyl alcohol (24:1) ในปริมาณที่เท่ากัน นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 13,000 รอบต่อนาที เก็บส่วนใสและวัดปริมาตรไว้ จากนั้นตกตะกอนดีเอ็นเอโดยเติมเอทานอลที่มีความเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์ ในปริมาตร 2 เท่าของส่วนใสที่มีอยู่ในหลอด นำไปปั่นเหวี่ยงแล้วเก็บตะกอน ละลายตะกอนดีเอ็นเอใน TE buffer ปริมาตร 20 ไมโครลิตร เก็บรักษาดีเอ็นเอที่สกัดไว้ที่อุณหภูมิ - 20 องศาเซลเซียส

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

1.2.2 การตรวจเชื้อด้วยเทคนิค PCR

เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยคู่ไพรเมอร์ ITS4 (5’ TCCTCCGCTTATTGATATGC 3’) และ ITS5 (5’ GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG 3’) (White *et al*., 1990) โดยปฏิกิริยาประกอบด้วยดีเอ็นเอปริมาตร 1.25 ไมโครลิตร dNTPs (2.5 มิลลิโมลาร์) ปริมาตร 0.5 ไมโครลิตร 1x PCR buffer ปริมาตร 2.5 ไมโครลิตร $MgCl_2$ (25 มิลลิโมลาร์) ปริมาตร 3 ไมโครลิตร ไพรเมอร์ ITS4 (10 ไมโครโมลาร์) ปริมาตร 1 ไมโครลิตร ไพรเมอร์ ITS5 (10 ไมโครโมลาร์) ปริมาตร 1 ไมโครลิตร Taq DNA polymerase (Fermentas) (6.25 units) ปริมาตร 1.25 ไมโครลิตร ในปริมาตรรวม 25 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน จากนั้นนำเข้าเครื่อง DNA thermal cycler (Bioer Technology, Model TC-25/H) การสังเคราะห์ดีเอ็นเอประกอบด้วย initial denaturation ที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 นาที denaturation ที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 45 วินาที annealing ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 45 วินาที และ extension ที่อุณหภูมิ 68 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 45 วินาที จำนวน 30 รอบและตามด้วย final extension ที่อุณหภูมิ 68 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที ตรวจวิเคราะห์ผลด้วย agarose gel electrophoresis 1 เปอร์เซ็นต์ ใช้ความต่างศักย์ไฟฟ้า 100 โวลต์ เป็นเวลา 60 นาที ตรวจดูแถบดีเอ็นเอภายใต้แสงอัลตราไวโอเลต

2. การเตรียมตัวอย่างสารสกัดจากพืช

พืชที่ใช้ในการทดลองได้แก่ ข่า ไพล เจตมูลเพลิงแดง และสะเดา โดยนำส่วนเหง้าของไพลและข่า รากของเจตมูลเพลิงแดง มาตัดเป็นชิ้นเล็กใช้ทั้งที่ยังสด ส่วนสะเดาใช้เมล็ด จากนั้นนำตัวอย่างพืชที่เตรียมไว้บรรจุในภาชนะแก้วที่มีฝาปิดแล้วสกัดสารโดยใช้เอทิลแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ เป็นตัวทำละลาย แช่ตัวอย่างในตัวทำละลาย 48 ชั่วโมงหรือจนกระทั่งสารองค์ประกอบในตัวอย่างพืชแพร่ออกมาในตัวทำละลายมากที่สุดโดยพิจารณาจากการเปลี่ยนสีของตัวทำละลายในภาชนะบรรจุ จากนั้นกรองแยกเอาชิ้นพืชออกจากตัวอย่างสารสกัด แล้วนำสารสกัดไปผ่านขั้นตอนการระเหยตัวทำละลาย โดยใช้เครื่อง rotary evaporator ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ทำการระเหยตัวทำละลายออกจนกระทั่งสารสกัดพืชมีลักษณะข้น นำตัวอย่างสารสกัดที่ได้มาระเหยให้แห้งและชั่งน้ำหนักของสารที่ได้ จากนั้นคำนวณเป็นค่าความเข้มข้นของสารสกัดในหน่วยมิลลิกรัมต่อลิตร เก็บสารสกัดพืชไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ตลอดการทดลอง

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

3. การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชต่อเชื้อรา *P. dendrobii* สาเหตุโรคใบปื้นเหลือง

3.1 การเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่างๆ

นำเชื้อรา *P. dendrobii* มาทดสอบการเจริญของเส้นใยเชื้อรา และการสร้างสปอร์บนอาหารเลี้ยงเชื้อ 5 ชนิด คือ Potato Dextrose Agar (PDA) Nutrient Glucose Agar (NGA) Synthetic Mucor Agar (SMA) V-8 juice agar และอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมใบกล้วยไม้ที่เตรียมโดย นำใบกล้วยไม้มาหั่นเป็นชิ้นเล็กๆ ต้มในน้ำให้เดือด กรองเหลือเฉพาะน้ำ จากนั้นเติม dextrose และวุ้น โดยเชื้อบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 วัน

3.2 การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชในการยับยั้งการเจริญเชื้อราสาเหตุโรค

ทดสอบโดยวิธี poisoned food technique โดยเตรียมอาหาร V-8 juice agar ปริมาตร 100 มิลลิลิตร แล้วผสมสารสกัดพืชที่ต้องการทดสอบลงในอาหาร V-8 juice agar ให้ได้ความเข้มข้นดังนี้ สารสกัดจากข่า ไพล และเจตมูลเพลิงแดง ใช้ความเข้มข้น 1,000 2,500 5,000 7,500 และ 10,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนสารสกัดจากสะเดาใช้ความเข้มข้น 1,000 10,000 15,000 20,000 25,000 และ 30,000 มิลลิกรัมต่อลิตร จากนั้นเทอาหาร V-8 juice agar ที่ผสมสารสกัดแต่ละความเข้มข้นลงในจานเลี้ยงเชื้อปริมาตร 20 มิลลิลิตรต่อหนึ่งจานเลี้ยงเชื้อ ทำการทดลอง 4 ซ้ำ ในชุดควบคุม จะไม่ผสมสารสกัดพืช หลังจากผิวหน้าของอาหารที่ผสมสารสกัดและชุดควบคุมแห้งสนิท นำชิ้นวุ้นที่ได้จากการใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1 เซนติเมตร เจาะเส้นใยรอบโคโลนีเชื้อรา *P. dendrobii* ที่มีอายุ 20 วัน วางลงบนผิวหน้าอาหารที่ผสมสารสกัดพืช บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ตรวจผลเมื่อเชื้อราในชุดควบคุมเจริญ 1/2 ของจานเลี้ยงเชื้อ ตรวจผลโดยการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อราที่เจริญ และนำค่าที่ได้มาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเส้นใยโดยใช้สูตร

เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเส้นใย = $\left[(A-B)/A\right] \times 100$

เมื่อ A คือค่าเฉลี่ยของเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อราชุดควบคุม

B คือค่าเฉลี่ยของเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อราชุดผสมสารสกัด

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

3.3 การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชในการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อราสาเหตุโรค

ทดสอบด้วยวิธี spore drop technique โดยการนำแผ่นสไลด์แก้วที่ผ่านการอบฆ่าเชื้อด้วยความร้อนที่อุณหภูมิ 180 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมงวางลงบนไม้จิ้มฟันที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว จากนั้นเติมน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อปริมาตร 15 มิลลิลิตรลงในจานเลี้ยงเชื้อเพื่อให้มีความชื้น แล้วเตรียมสปอร์แขวนลอย (spore suspension) ของเชื้อรา *P. dendrobii* โดยใช้พู่กันจุ่มแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ ซับให้แห้ง ปัดสปอร์เชื้อราบนใบกล้วยไม้ที่แสดงอาการโรคใบปื้นเหลือง ปัดบริเวณใต้ใบลงในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (กรพินธุ์, 2551) และปรับความเข้มข้นให้ได้ 10^4สปอร์ต่อมิลลิลิตร โดยใช้ haemacytometer แล้วผสมสปอร์แขวนลอยกับสารสกัดพืชให้ได้ความเข้มข้นดังนี้ สารสกัดจากข่า ไพล และเจตมูลเพลิงแดง ใช้ในระดับความเข้มข้น 2,500 5,000 7,500 และ 10,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนสารสกัดจากสะเดาใช้ในระดับความเข้มข้น 2,500 5,000 7,500 10,000 20,000 และ 30,000 มิลลิกรัมต่อลิตร จากนั้นหยดสปอร์แขวนลอยที่ได้ผสมกับสารสกัดพืชแล้วปริมาตร 150 ไมโครลิตร ลงบนแผ่นสไลด์แก้ว บ่มเชื้อไว้ 24 ชั่วโมง ทำการทดลอง 4 ซ้ำ ชุดควบคุมไม่ผสมสารสกัดพืช เมื่อครบกำหนดนำแผ่นสไลด์ดังกล่าวมาหยดด้วย lactophenol ปิดด้วยกระจกปิดสไลด์ นำไปตรวจนับจำนวนสปอร์ที่งอกภายใต้กล้องจุลทรรศน์โดยสุ่มนับสปอร์จำนวน 10 สปอร์ต่อหนึ่งซ้ำ หาค่าเฉลี่ย จากนั้นคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการงอกของสปอร์โดยใช้สูตร

$$\text{เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการงอกของสปอร์} = \left[(A-B)/A\right] \times 100$$

เมื่อ A คือค่าเฉลี่ยของจำนวนสปอร์เชื้อราที่งอกบนสไลด์แก้วในชุดควบคุม

B คือค่าเฉลี่ยของจำนวนสปอร์เชื้อราที่งอกบนสไลด์แก้วในชุดผสมสารสกัด

4. การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืชในการยับยั้งการเกิดโรคในสภาพโรงเรือน

ทำการทดสอบโดยใช้กล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์แดงพิริยา อายุ 3 ปี ที่สวนไพบูลย์ไพรีพ่าย - ฤทธิ์ ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ.นครปฐม ต้นกล้วยไม้ที่ใช้ทดสอบนี้มีทั้งต้นที่แสดงอาการของโรคใบปื้นเหลืองอยู่ก่อนแล้วและต้นที่ไม่แสดงอาการของโรคโดยวางไว้รวมกัน สำหรับสารสกัดจากพืชที่ใช้ในการทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมโรคนั้น ได้แก่ สารสกัดจากข่า ไพล เจตมูลเพลิงแดง และสะเดา

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ใช้สารสกัดที่ความเข้มข้น 20,000 มิลลิกรัมต่อลิตรทุกสารสกัด วางแผนการทดลองแบบ RCBD (randomized complete block design) โดยในแต่ละกรรมวิธีมีต้นกล้วยไม้ที่ไม่ได้ทำการฉีดพ่นสารสกัดและสารเคมีวางกั้นไว้เพื่อไม่ให้ละอองสารสกัดของแต่ละกรรมวิธีปนกัน ทำการทดลองกรรมวิธีละ 4 ซ้ำ ซ้ำละ 20 ต้นในชุดเปรียบเทียบใช้น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อแทน โดยกำหนดกรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ฉีดพ่นสารสกัดจากข่าที่ความเข้มข้น 20,000 มิลลิกรัมต่อลิตร
กรรมวิธที่ 2 ฉีดพ่นสารสกัดจากไพลที่ความเข้มข้น 20,000 มิลลิกรัมต่อลิตร
กรรมวิธีที่ 3 ฉีดพ่นสารสกัดจากเจตมูลเพลิงแดงที่ความเข้มข้น 20,000 มิลลิกรัมต่อลิตร
กรรมวิธีที่ 4 ฉีดพ่นสารสกัดจากสะเดาที่ความเข้มข้น 20,000 มิลลิกรัมต่อลิตร
กรรมวิธีที่ 5 ฉีดพ่นสารเคมีคาร์เบนดาซิม (50%WP) ที่ 4,000 มิลลิกรัมต่อลิตร
กรรมวิธีที่ 6 ฉีดพ่นน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ

ทุกกรรมวิธีฉีดพ่นทุก 7 วัน เป็นเวลา 4 เดือน บันทึกการพัฒนาของแผล ความรุนแรงของการเกิดโรคบนใบ นำข้อมูลของขนาดแผลที่ได้มาประเมินการเกิดโรค โดยประเมินการเกิดโรคทั้งหมด 4 ครั้ง ทุกๆ 1 เดือน รวมเป็นเวลา 4 เดือน เพื่อสังเกตความรุนแรงของโรคที่เพิ่มขึ้น เปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม โดยประเมินระดับการเกิดโรค ดังนี้

ระดับ 0 ไม่แสดงอาการของโรค
ระดับ 1 แสดงอาการของโรค 1-25 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่ใบ
ระดับ 2 แสดงอาการของโรค 26-50 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่ใบ
ระดับ 3 แสดงอาการของโรค 51-75 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่ใบ
ระดับ 4 แสดงอาการของโรค 76-100 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่ใบ

นำค่าการประเมินที่ได้มาคำนวณค่าดัชนีการเกิดโรค คิดเป็นเปอร์เซ็นต์

$$\text{ดัชนีการเกิดโรค} = \frac{\text{ผลรวมของ (จำนวนใบที่แสดงอาการ x ระดับอาการ)}}{\text{จำนวนใบทั้งหมด x ระดับอาการสูงสุด}} \times 100$$

นำค่าที่ได้มาวิเคราะห์หาความแตกต่างทางสถิติโดยใช้โปรแกรมวิเคราะห์ SPSS

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สถานที่ทำการทดลอง

ห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน และสวนไพบูลย์ไพรีพ่ายฤทธิ์ ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ. นครปฐม

ระยะเวลาที่ทำการทดลอง

ดำเนินการทดลองระหว่างเดือน ตุลาคม 2551 ถึง ธันวาคม 2553

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

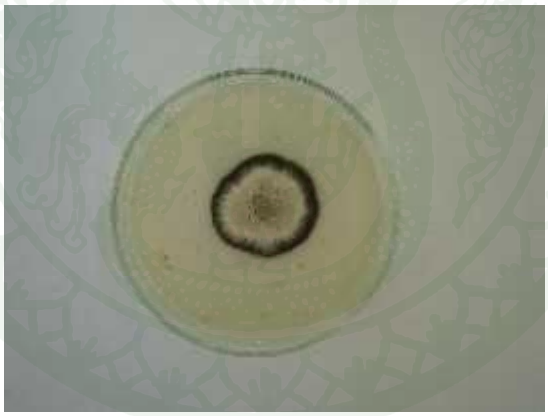
ผลและวิจารณ์

ผล

1. เชื้อรา *P. dendrobii* ที่ใช้สำหรับการทดลอง

1.1 การแยกเชื้อรา *P. dendrobii*

การแยกเชื้อจากใบกล้วยไม้ที่เป็นโรคใบปื้นเหลืองด้วยวิธี tissue transplanting method พบว่าได้เชื้อรามีลักษณะโคโลนีสีเทา บริเวณขอบโคโลนีมีสีดำ บนอาหาร V-8 juice agar และโคโลนีของเชื้อเจริญได้ช้า โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนี 4 เซนติเมตรที่อายุ 20 วัน ดังแสดงในภาพที่ 1 และพบว่าไม่มีการสร้างสปอร์

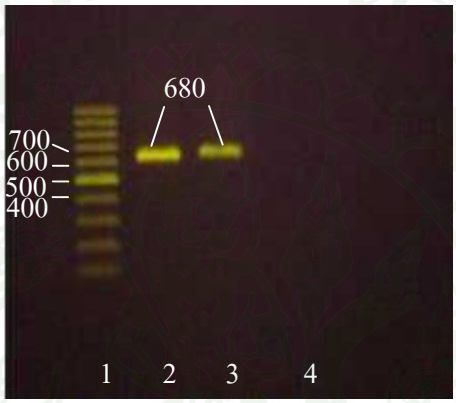


ภาพที่ 1 ลักษณะโคโลนีของเชื้อรา *P. dendrobii* บนอาหาร V-8 juice agar เมื่ออายุ 20 วัน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

1.2 การจำแนกเชื้อรา *P. dendrobii*

เมื่อนำเส้นใยของเชื้อราที่ทำการแยกไว้และเลี้ยงบนอาหาร V-8 juice agar มาสกัดดีเอ็นเอและตรวจสอบเชื้อด้วยเทคนิค PCR พบว่า ได้แถบดีเอ็นเอขนาด 680 bp จากตัวอย่างดีเอ็นเอที่สกัดจากเชื้อและดีเอ็นเอที่สกัดจากใบกล้วยไม้ที่เป็นโรค ส่วนใบกล้วยไม้ที่ไม่แสดงอาการของโรคใบปื้นเหลืองไม่ปรากฏแถบดีเอ็นเอ (ภาพที่ 2)



ภาพที่ 2 แถบดีเอ็นเอขนาด 680 bp จากการตรวจเชื้อด้วยเทคนิค PCR โดยใช้ไพรเมอร์ ITS4/ITS5
ช่องที่ 1 ดีเอ็นเอมาตรฐาน (100 bp DNA marker)
ช่องที่ 2 เชื้อรา *P. dendrobii*
ช่องที่ 3 ใบกล้วยไม้ที่แสดงอาการโรคใบปื้นเหลือง
ช่องที่ 4 ใบกล้วยไม้ที่ไม่แสดงอาการโรคใบปื้นเหลือง

เมื่อนำดีเอ็นเอที่ได้ส่งตรวจวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์โดยบริษัท First Base Labratories Sdn Bhd นำลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้ไปวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม BLASTN ในฐานข้อมูลของ GenBank พบว่ามีความเหมือนกับเชื้อ *P. pseudoeucalyptorum* 97 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งในฐานข้อมูลของ GenBank ยังไม่พบข้อมูลของเชื้อ *P. Dendrobii* และผลของลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้คือ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

CNGTAGGGGCTTCCTACCTGATCCGAGGTCAACCTTAAGTAAAGATTTAACGGCCGC
GGCCACCCGCACTCCGAAGCGAATTAGAAAATCCACAACGCTTAGAGACGAATGGC
TCAGCCGGAGACTTTAAGGCGCGCGGAGCCGCGACGCCCAATACCAAGCCAGGCTT
GAGTGGTGAAATGACGCTCGAACAGGCATGCCCTTCGGAATACCAAAGGGCGCAAT
GTGCGTTCAAAGATTCGATGATTCACTGAATTCTGCAATTCACATTACTTATCGCATT
TCGCTGCGTTCTTCATCGATGCCAGAACCAAGAGATCCGTTGTTGAAAGTTTTGTTTA
ATTTGTTTAAACTCCGACGCAAAGATGCAGTGTTTGGAGACCTTCGGGGGCGCCCGG
CGACGTAGTGCCGGCAGGGTCGCCCCCGAAGCAACAGATGTGTTCACAAAGGGTTG
GAGGTCGGGCGTGAGCCCTCACTCAGTAATGATCCCTCCGCAGGTTCACCTACGGAG
ACCTTGTTACGATTTTACTTCCAA

2. การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชต่อเชื้อราสาเหตุโรค

2.1 ประสิทธิภาพการเจริญของเชื้อ *P. dendrobii* บนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่างๆ

จากการทดสอบประสิทธิภาพในการเจริญของเส้นใย และการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *P. dendrobii* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ 5 ชนิด คือ PDA NGA SMA V-8 juice agar และ อาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมใบกล้วยไม้ พบว่าเชื้อราสามารถเจริญได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อทุกชนิด แต่เส้นใยเจริญได้ช้า ไม่พบการสร้างสปอร์บนอาหารเลี้ยงเชื้อ และพบว่าเส้นใยของเชื้อราเจริญได้ดีที่สุดบนอาหารเลี้ยงเชื้อ V-8 juice agar จึงเลือกใช้อาหาร V-8 juice agar ในการทดลองต่อไป

2.2 การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรค

2.2.1 ประสิทธิภาพของสารสกัดจากข่าต่อการเจริญของเชื้อรา *P. dendrobii*

จากการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากข่าในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *P. dendrobii* ด้วยวิธี poisoned food technique โดยใช้ความเข้มข้น 7 ระดับคือ 1,000 2,500 5,000 7,500 10,000 และ 20,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำการทดลอง 4 ซ้ำ แล้วคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเส้นใยพบว่า ที่ระดับความเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถยับยั้งการเจริญได้ 23.17 เปอร์เซ็นต์ ที่ระดับความเข้มข้น 2,500 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ยับยั้งการเจริญได้ 53.33 เปอร์เซ็นต์ และที่ระดับความเข้มข้น 5,000 7,500 10,000 15,000 และ 20,000 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยได้ 100 เปอร์เซ็นต์ โดยพบว่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดข่าในอาหาร V-8 juice agar ที่ใช้ทดสอบ (ตารางที่ 1)

2.2.2 ประสิทธิภาพของสารสกัดจากไพลต่อการเจริญของเชื้อรา *P. dendrobii*

จากการทดสอบของสารสกัดจากไพลในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *P. dendrobii* ด้วยวิธี poisoned food technique โดยใช้ความเข้มข้น 7 ระดับคือ 1,000 2,500 5,000 7,500 10,000 และ 20,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำการทดลอง 4 ซ้ำ พบว่าที่ระดับความเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถยับยั้งการเจริญได้ 16.66 เปอร์เซ็นต์ ที่ระดับความเข้มข้น 2,500 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถยับยั้งการเจริญได้ 52.33 เปอร์เซ็นต์ และที่ระดับความเข้มข้น 5,000 7,500 10,000 15,000 และ 20,000 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยได้ 100 เปอร์เซ็นต์ โดยพบว่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดไพลในอาหาร V-8 juice agar ที่ใช้ทดสอบ (ตารางที่ 1)

2.2.3 ประสิทธิภาพของสารสกัดจากเจตมูลเพลิงแดงต่อการเจริญของเชื้อรา *P. dendrobii*

จากการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากเจตมูลเพลิงแดงในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *P. dendrobii* ด้วยวิธี poisoned food technique โดยใช้ความเข้มข้น 7 ระดับคือ 1,000 2,500 5,000 7,500 10,000 และ 20,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำการทดลอง 4 ซ้ำ พบว่าที่ระดับความเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราได้ ที่ระดับความเข้มข้น 2,500 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถยับยั้งการเจริญได้ 28.33 เปอร์เซ็นต์ ที่ระดับความเข้มข้น 5,000 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถยับยั้งการเจริญได้ 51.33 เปอร์เซ็นต์ และที่ระดับความเข้มข้น 7,500 10,000 15,000 และ 20,000 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยได้ 100 เปอร์เซ็นต์ โดยพบว่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดเจตมูลเพลิงแดงในอาหาร V-8 juice agar ที่ใช้ทดสอบ (ตารางที่ 1)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2.2.4 ประสิทธิภาพของสารสกัดจากสะเดาต่อการเจริญของเชื้อรา *P. dendrobii*

จากการทดสอบของสารสกัดจากสะเดาในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *P. dendrobii* ด้วยวิธี poisoned food technique โดยใช้ความเข้มข้น 6 ระดับ คือ 1,000 10,000 15,000 20,000 25,000 และ 30,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำการทดลอง 4 ซ้ำ พบว่าที่ระดับความเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราได้ ที่ระดับความเข้มข้น 10,000 มิลลิกรัมต่อลิตรสามารถยับยั้งการเจริญได้ 25 เปอร์เซ็นต์ ที่ระดับความเข้มข้น 15,000 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถยับยั้งการเจริญได้ 27.63 เปอร์เซ็นต์ ที่ระดับความเข้มข้น 20,000 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถยับยั้งการเจริญได้ 48.54 เปอร์เซ็นต์ ที่ระดับความเข้มข้น 25,000 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถยับยั้งการเจริญได้ 52 เปอร์เซ็นต์ และที่ระดับความเข้มข้น 30,000 มิลลิกรัมต่อลิตรสามารถยับยั้งการเจริญได้ 100 เปอร์เซ็นต์ โดยพบว่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดเจตมูลเพลิงแดงในอาหาร V-8 juice agar ที่ใช้ทดสอบ (ตารางที่ 1)

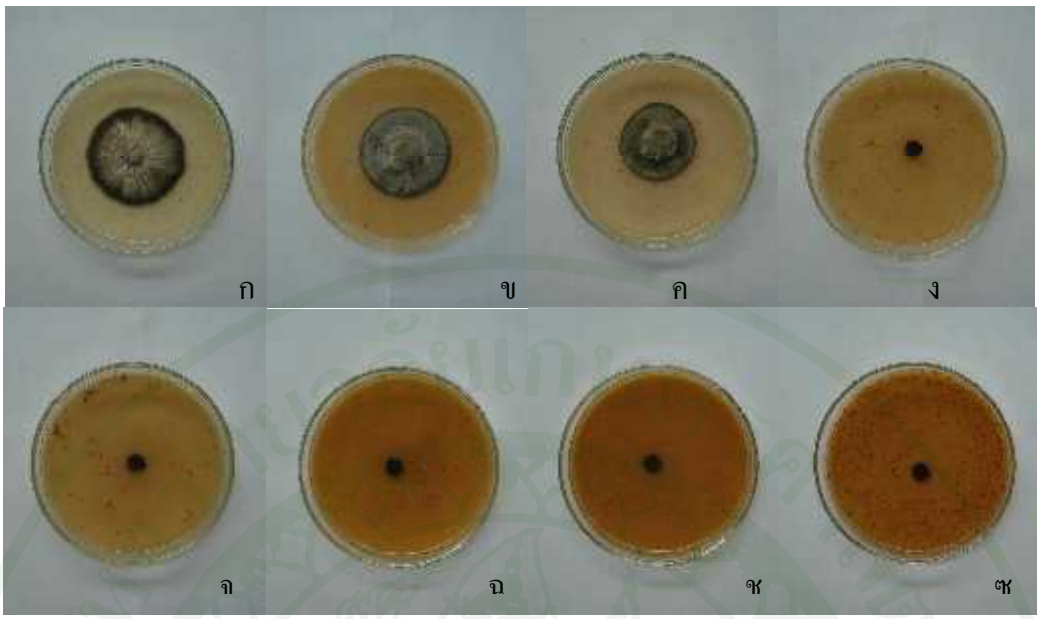
ตารางที่ 1 ประสิทธิภาพของสารสกัดจากข่า ไพล เจตมูลเพลิงแดง และสะเดาที่ระดับความเข้มข้นต่างๆในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *P. dendrobii*

สารสกัด	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเส้นใยของเชื้อราที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ (มิลลิกรัมต่อลิตร)									
	0[1/]	1,000	2,500	5,000	7,500	10,000	15,000	20,000	25,000	30,000
ข่า	0	23.17	53.33	100	100	100	100	100	NT	NT
ไพล	0	16.66	52.33	100	100	100	100	100	NT	NT
เจตมูลฯ	0	0	28.33	51.33	100	100	100	100	NT	NT
สะเดา	0	0	NT	NT	NT	25	27.63	48.54	52	100

1/ ชุดควบคุมที่ไม่เติมสารสกัดพืช

NT ไม่ได้ทำการทดลอง

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 3 ลักษณะโคโลนีของเชื้อ *P. dendrobii* เมื่อทดสอบกับสารสกัดจากข่าที่ความเข้มข้นต่างๆ โดยวิธี poisoned food technique

ก. *P. dendrobii* ชุดควบคุมที่ไม่ผสมสารสกัด

ข. *P. dendrobii* กับสารสกัดจากข่าที่ระดับความเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร

ค. *P. dendrobii* กับสารสกัดจากข่าที่ระดับความเข้มข้น 2,500 มิลลิกรัมต่อลิตร

ง. *P. dendrobii* กับสารสกัดจากข่าที่ระดับความเข้มข้น 5,000 มิลลิกรัมต่อลิตร

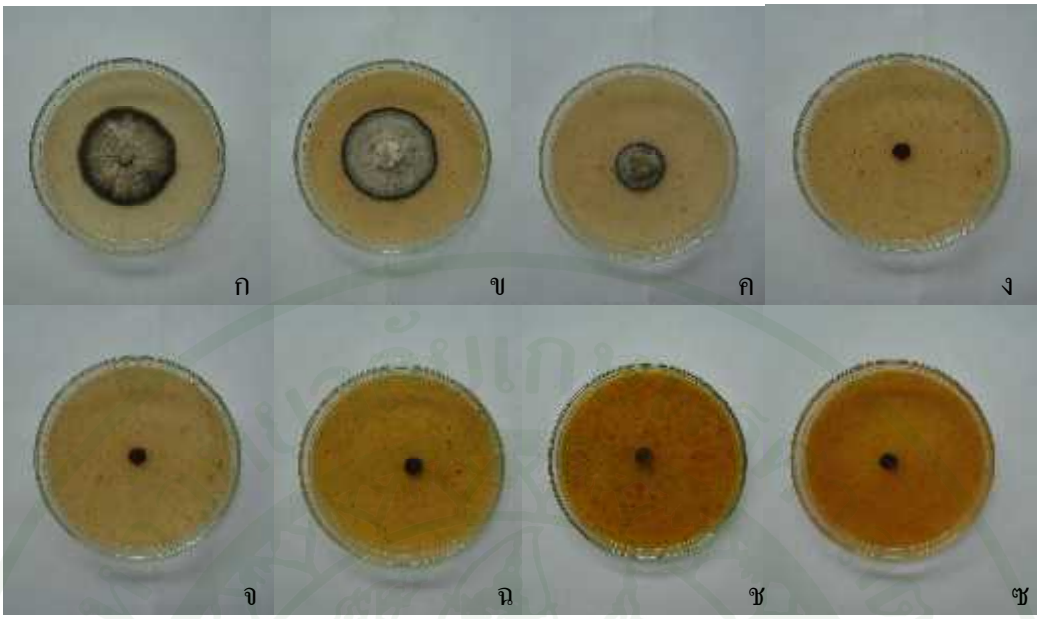
จ. *P. dendrobii* กับสารสกัดจากข่าที่ระดับความเข้มข้น 7,500 มิลลิกรัมต่อลิตร

ฉ. *P. dendrobii* กับสารสกัดจากข่าที่ระดับความเข้มข้น 10,000 มิลลิกรัมต่อลิตร

ช. *P. dendrobii* กับสารสกัดจากข่าที่ระดับความเข้มข้น 15,000 มิลลิกรัมต่อลิตร

ฌ. *P. dendrobii* กับสารสกัดจากข่าที่ระดับความเข้มข้น 20,000 มิลลิกรัมต่อลิตร

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 4 ลักษณะโคโลนีของเชื้อ *P. dendrobii* เมื่อทดสอบกับสารสกัดจากไพลที่ความเข้มข้นต่างๆ โดยวิธี poisoned food technique

ก. *P. dendrobii* ชุดควบคุมที่ไม่ผสมสารสกัด

ข. *P. dendrobii* กับสารสกัดจากไพลที่ระดับความเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร

ค. *P. dendrobii* กับสารสกัดจากไพลที่ระดับความเข้มข้น 2,500 มิลลิกรัมต่อลิตร

ง. *P. dendrobii* กับสารสกัดจากไพลที่ระดับความเข้มข้น 5,000 มิลลิกรัมต่อลิตร

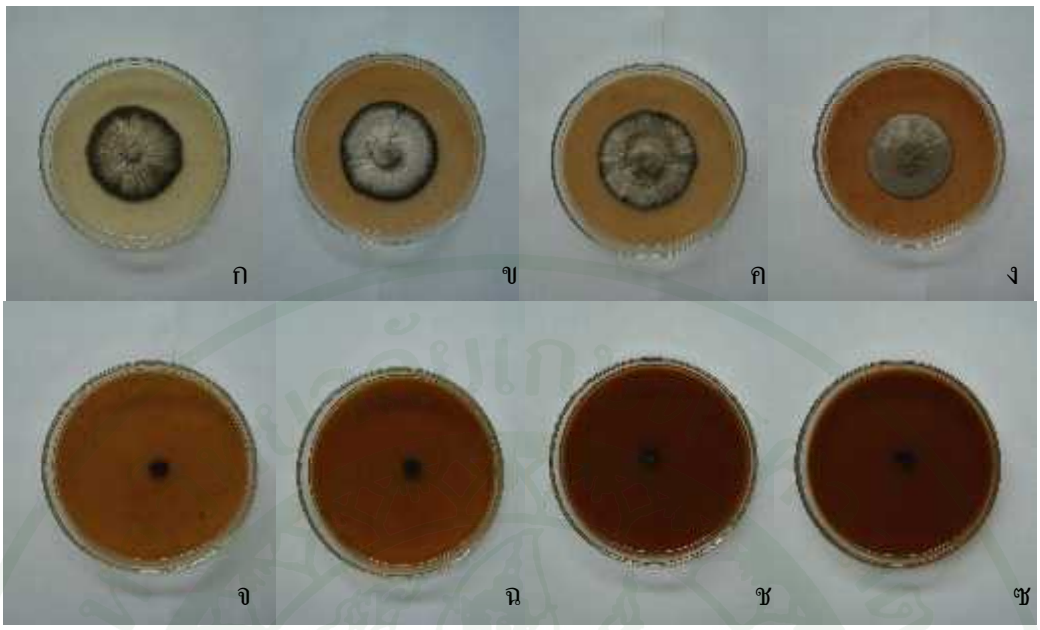
จ. *P. dendrobii* กับสารสกัดจากไพลที่ระดับความเข้มข้น 7,500 มิลลิกรัมต่อลิตร

ฉ. *P. dendrobii* กับสารสกัดจากไพลที่ระดับความเข้มข้น 10,000 มิลลิกรัมต่อลิตร

ช. *P. dendrobii* กับสารสกัดจากไพลที่ระดับความเข้มข้น 15,000 มิลลิกรัมต่อลิตร

ซ. *P. dendrobii* กับสารสกัดจากไพลที่ระดับความเข้มข้น 20,000 มิลลิกรัมต่อลิตร

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 5 ลักษณะโคโลนีของเชื้อ *P. dendrobii* เมื่อทดสอบกับสารสกัดจากเจตมูลเพลิงแดงที่ความเข้มข้นต่างๆ โดยวิธี poisoned food technique

ก. *P. dendrobii* ชุดควบคุมที่ไม่ผสมสารสกัด

ข. *P. dendrobii* กับสารสกัดจากเจตมูลฯที่ระดับความเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร

ค. *P. dendrobii* กับสารสกัดจากเจตมูลฯที่ระดับความเข้มข้น 2,500 มิลลิกรัมต่อลิตร

ง. *P. dendrobii* กับสารสกัดจากเจตมูลฯที่ระดับความเข้มข้น 5,000 มิลลิกรัมต่อลิตร

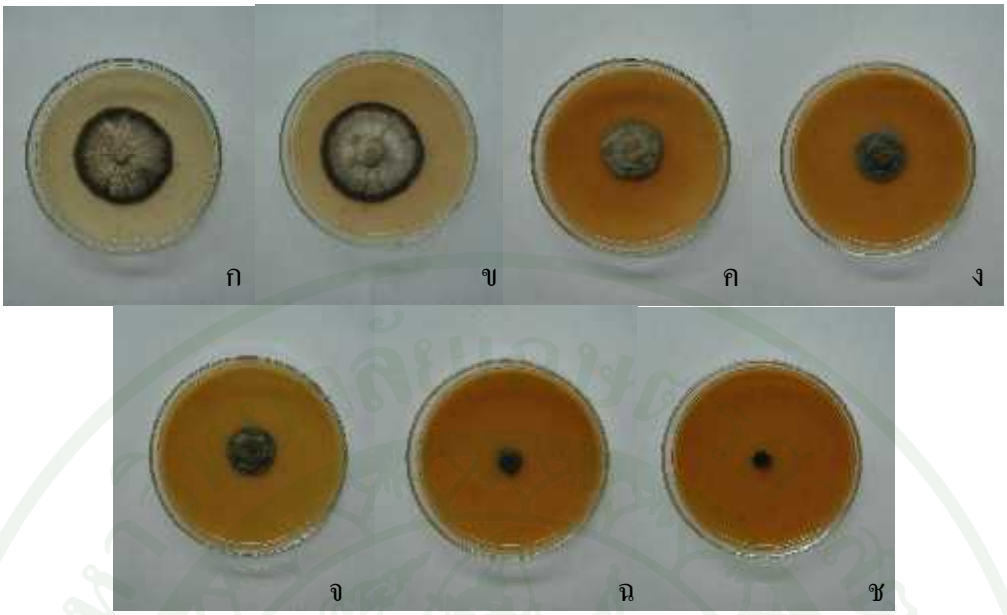
จ. *P. dendrobii* กับสารสกัดจากเจตมูลฯที่ระดับความเข้มข้น 7,500 มิลลิกรัมต่อลิตร

ฉ. *P. dendrobii* กับสารสกัดจากเจตมูลฯที่ระดับความเข้มข้น 10,000 มิลลิกรัมต่อลิตร

ช. *P. dendrobii* กับสารสกัดจากเจตมูลฯที่ระดับความเข้มข้น 15,000 มิลลิกรัมต่อลิตร

ซ. *P. dendrobii* กับสารสกัดจากเจตมูลฯที่ระดับความเข้มข้น 20,000 มิลลิกรัมต่อลิตร

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 6 ลักษณะโคโลนีของเชื้อ *P. dendrobii* เมื่อทดสอบกับสารสกัดจากสะเดาที่ความเข้มข้นต่างๆ โดยวิธี poisoned food technique

ก. *P. dendrobii* ชุดควบคุมที่ไม่ผสมสารสกัด

ข. *P. dendrobii* กับสารสกัดจากสะเดาที่ระดับความเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร

ค. *P. dendrobii* กับสารสกัดจากสะเดาที่ระดับความเข้มข้น 10,000 มิลลิกรัมต่อลิตร

ง. *P. dendrobii* กับสารสกัดจากสะเดาที่ระดับความเข้มข้น 15,000 มิลลิกรัมต่อลิตร

จ. *P. dendrobii* กับสารสกัดจากสะเดาที่ระดับความเข้มข้น 20,000 มิลลิกรัมต่อลิตร

ฉ. *P. dendrobii* กับสารสกัดจากสะเดาที่ระดับความเข้มข้น 25,000 มิลลิกรัมต่อลิตร

ช. *P. dendrobii* กับสารสกัดจากสะเดาที่ระดับความเข้มข้น 30,000 มิลลิกรัมต่อลิตร

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2.3 การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชในการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อราสาเหตุโรค

2.3.1 ประสิทธิภาพของสารสกัดจากข่าในการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา *P. dendrobii*

จากการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากข่าในการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา *P. dendrobii* ด้วยวิธี spore drop technique โดยใช้ความเข้มข้น 4 ระดับคือ 2,500 5,000 7,500 และ 10,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำการทดลอง 4 ซ้ำ จากนั้นคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการงอกของสปอร์ พบว่าที่ระดับความเข้มข้น 2,500 5,000 7,500 และ 10,000 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์ได้ 100 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 2)

2.3.2 ประสิทธิภาพของสารสกัดจากไพลในการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา *P.dendrobii*

จากการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากไพลในการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา *P. dendrobii* ด้วยวิธี spore drop technique โดยใช้ความเข้มข้น 4 ระดับคือ 2,500 5,000 7,500 และ 10,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำการทดลอง 4 ซ้ำ พบว่าที่ระดับความเข้มข้น 2,500 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์ได้ 7.44 เปอร์เซ็นต์ ที่ระดับความเข้มข้น 5,000 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์ได้ 66.66 เปอร์เซ็นต์ ที่ระดับความเข้มข้น 7,500 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์ได้ 85.22 เปอร์เซ็นต์ ที่ระดับความเข้มข้น 10,00 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์ได้ 100เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 2)

2.3.3 ประสิทธิภาพของสารสกัดจากเจตมูลเพลิงแดงในการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา *P. dendrobii*

จากการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากเจตมูลเพลิงแดงในการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา *P. dendrobii* ด้วยวิธี spore drop technique โดยใช้ความเข้มข้น 4 ระดับคือ 2,500 5,000 7,500 และ 10,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำการทดลอง 4 ซ้ำ พบว่าที่ระดับความเข้มข้น 2,500 5,000 7,500 และ 10,000 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถยับยั้งการงอกของของสปอร์ได้ 100 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 2)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2.3.4 ประสิทธิภาพของสารสกัดจากสะเดาในการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา *P. dendrobii*

จากการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากสะเดาในการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา *P. dendrobii* ด้วยวิธี spore drop technique โดยใช้ความเข้มข้น 6 ระดับคือ 2,500 5,000 7,500 10,000 20,000 และ 30,000 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าที่ระดับความเข้มข้น 2,500 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถยับยั้งการงอกของของสปอร์ได้ 6.66 เปอร์เซ็นต์ ที่ระดับความเข้มข้น 5,000 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์ได้ 28.33 เปอร์เซ็นต์ ที่ระดับความเข้มข้น 7,500 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์ได้ 53.33 เปอร์เซ็นต์และที่ระดับความเข้มข้น 10,000 20,000 และ 30,000 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์ได้ 100 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 ประสิทธิภาพของสารสกัดจากข่า ไพล เจตมูลเพลิงแดง และสะเดาที่ระดับความเข้มข้นต่างๆในการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา *P. dendrobii*

สารสกัด	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการงอกของสปอร์ของเชื้อราที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ (มิลลิกรัมต่อลิตร)						
	0[1/]	2,500	5,000	7,500	10,000	20,000	30,000
ข่า	0	100	100	100	100	NT	NT
ไพล	0	7.44	66.66	85.22	100	NT	NT
เจตมูลเพลิงแดง	0	100	100	100	100	NT	NT
สะเดา	0	6.66	28.33	53.33	100	100	100

1/ ชุดควบคุมที่ไม่เติมสารสกัดพืช

NT ไม่ได้ทำการทดลอง

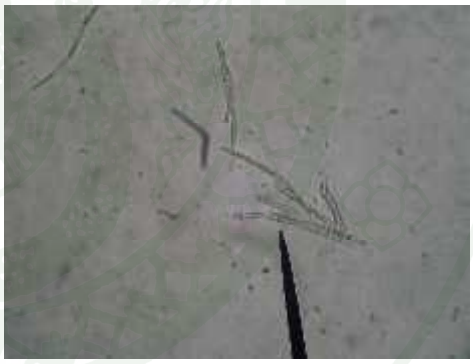
ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ก

ข

ค

ง



จ

ภาพที่ 7 ลักษณะสปอร์ของ *P. dendrobii* เมื่อทดสอบกับสารสกัดจากข่าที่ความเข้มข้นต่างๆ โดยวิธี spore drop technique

ก. สปอร์ *P. dendrobii* ชุดควบคุมที่ไม่ผสมสารสกัด

ข. สปอร์ *P. dendrobii* กับสารสกัดจากข่าที่ระดับความเข้มข้น 2,500 มิลลิกรัมต่อลิตร

ค. สปอร์ *P. dendrobii* กับสารสกัดจากข่าที่ระดับความเข้มข้น 5,000 มิลลิกรัมต่อลิตร

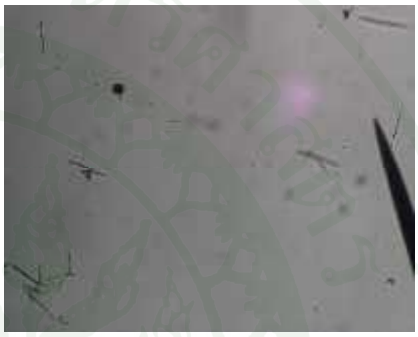
ง. สปอร์ *P. dendrobii* กับสารสกัดจากข่าที่ระดับความเข้มข้น 7,500 มิลลิกรัมต่อลิตร

จ. สปอร์ *P. dendrobii* กับสารสกัดจากข่าที่ระดับความเข้มข้น 10,000 มิลลิกรัมต่อลิตร

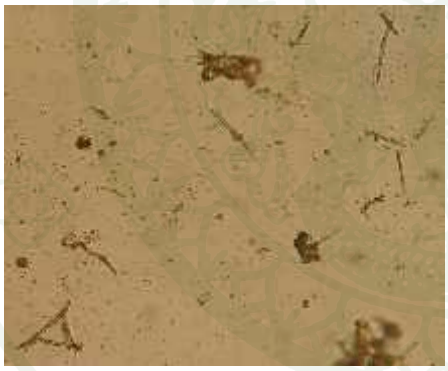
ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ก

ข



ค



ง

จ

ภาพที่ 8 ลักษณะสปอร์ของ *P. dendrobii* เมื่อทดสอบกับสารสกัดจากไพลที่ความเข้มข้นต่างๆ โดยวิธี spore drop technique

ก. สปอร์ *P. dendrobii* ชุดควบคุมที่ไม่ผสมสารสกัด

ข. สปอร์ *P. dendrobii* กับสารสกัดจากไพลที่ระดับความเข้มข้น 2,500 มิลลิกรัมต่อลิตร

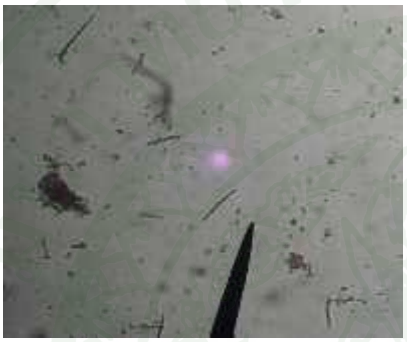
ค. สปอร์ *P. dendrobii* กับสารสกัดจากไพลที่ระดับความเข้มข้น 5,000 มิลลิกรัมต่อลิตร

ง. สปอร์ *P. dendrobii* กับสารสกัดจากไพลที่ระดับความเข้มข้น 7,500 มิลลิกรัมต่อลิตร

จ. สปอร์ *P. dendrobii* กับสารสกัดจากไพลที่ระดับความเข้มข้น 10,000 มิลลิกรัมต่อลิตร

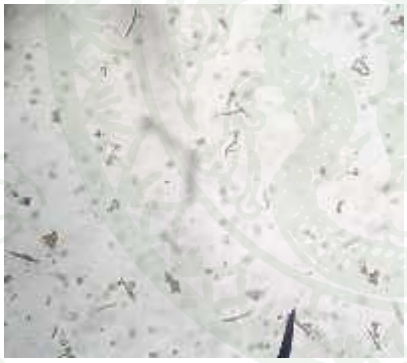
ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ก

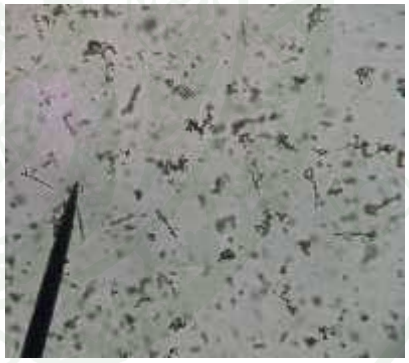


ข

ค



ง



จ

ภาพที่ 9 ลักษณะสปอร์ของ *P. dendrobii* เมื่อทดสอบกับสารสกัดจากเจตมูลเพลิงแดง ที่ความเข้มข้นต่างๆ โดยวิธี spore drop technique

ก. สปอร์ *P. dendrobii* ชุดควบคุมที่ไม่ผสมสารสกัด

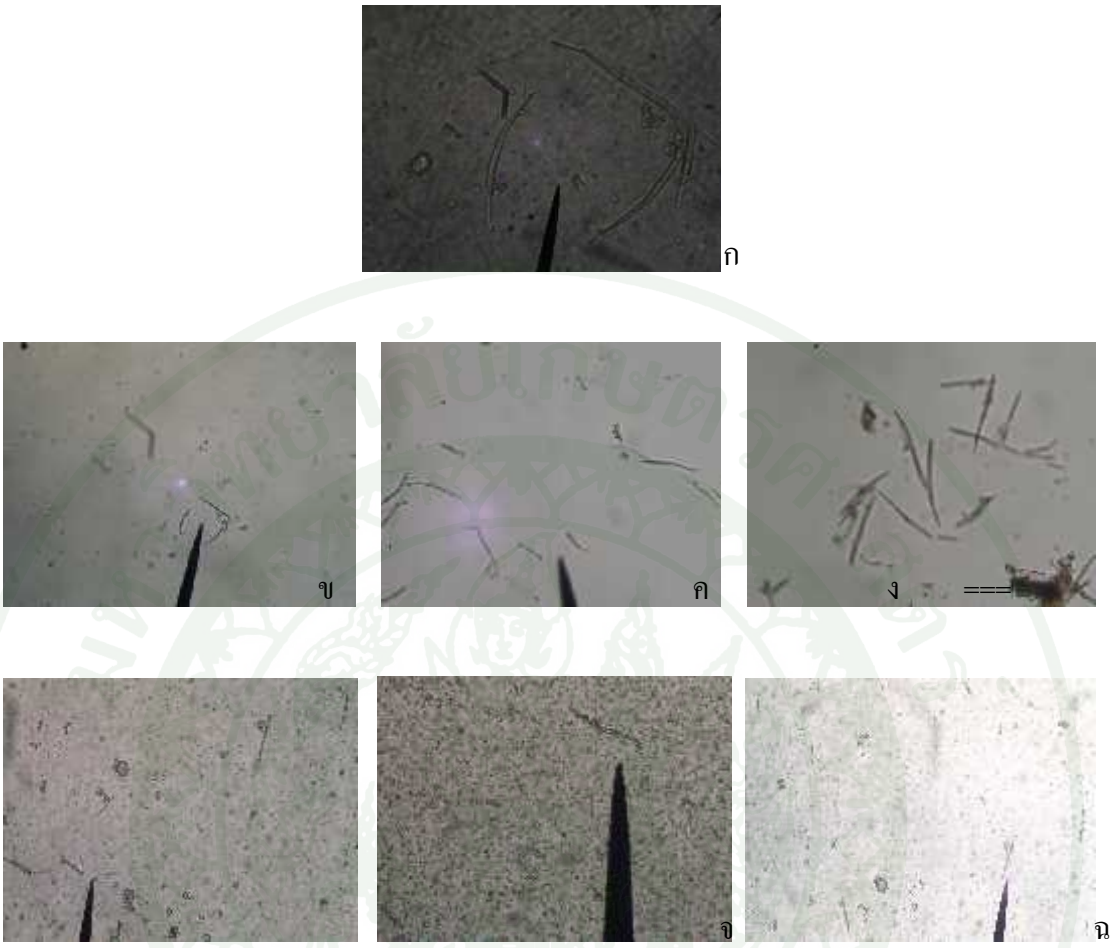
ข. สปอร์ *P. dendrobii* กับสารสกัดจากเจตมูลฯที่ความเข้มข้น 2,500 มิลลิกรัมต่อลิตร

ค. สปอร์ *P. dendrobii* กับสารสกัดจากเจตมูลฯที่ความเข้มข้น 5,000 มิลลิกรัมต่อลิตร

ง. สปอร์ *P. dendrobii* กับสารสกัดจากเจตมูลฯที่ความเข้มข้น 7,500 มิลลิกรัมต่อลิตร

จ. สปอร์ *P. dendrobii* กับสารสกัดจากเจตมูลฯที่ความเข้มข้น 10,000 มิลลิกรัมต่อลิตร

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 10 ลักษณะสปอร์ของ *P. dendrobii* เมื่อทดสอบกับสารสกัดจากสะเดาที่ความเข้มข้นต่างๆ โดยวิธี spore drop technique

ก. สปอร์ *P. dendrobii* ชุดควบคุมที่ไม่ผสมสารสกัด

ข. สปอร์ *P. dendrobii* กับสารสกัดจากสะเดาที่ระดับความเข้มข้น 2,500 มิลลิกรัมต่อลิตร

ค. สปอร์ *P. dendrobii* กับสารสกัดจากสะเดาที่ระดับความเข้มข้น 5,000 มิลลิกรัมต่อลิตร

ง. สปอร์ *P. dendrobii* กับสารสกัดจากสะเดาที่ระดับความเข้มข้น 7,500 มิลลิกรัมต่อลิตร

จ. สปอร์ *P. dendrobii* กับสารสกัดจากสะเดาที่ระดับความเข้มข้น 10,000มิลลิกรัมต่อลิตร

ฉ. สปอร์ *P. dendrobii* กับสารสกัดจากสะเดาที่ระดับความเข้มข้น 20,000มิลลิกรัมต่อลิตร

ช. สปอร์ *P. dendrobii* กับสารสกัดจากสะเดาที่ระดับความเข้มข้น 30,000 มิลลิกรัมต่อลิตร

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

3. การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืชในการยับยั้งการเกิดโรคในสภาพโรงเรือน

จากการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืชในการยับยั้งการเกิดโรคในสภาพโรงเรือนโดยการฉีดพ่นสารสกัดลงบนใบกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์แดงพิริยาอายุ 3 ปี เป็นเวลา 4 เดือน เมื่อมองจากภาพรวมพบว่า หลังพ่นสารสกัด 1 เดือน ทุกกรรมวิธีการฉีดพ่นสารไม่มีผลแตกต่างกันตามสถิติ แต่เมื่อดูจากเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเพิ่มขึ้นที่น้อยที่สุดคือ กรรมวิธีพ่นสารสกัดจากเจตมูลเพลิงแดง ส่วนกรรมวิธีที่เกิดโรคเพิ่มขึ้นมากที่สุดคือ กรรมวิธีควบคุม เมื่อพ่นสารสกัดเป็นเวลา 2 เดือน พบว่า มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยกรรมวิธีพ่นสารสกัดจากเจตมูลเพลิงแดงมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเพิ่มขึ้นน้อยที่สุด ส่วนกรรมวิธีพ่นสารสกัดจากสะเดาและกรรมวิธีควบคุมมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเพิ่มขึ้นมากที่สุด เมื่อพ่นสารสกัดเป็นเวลา 3 เดือน พบว่าการเกิดโรคมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยกรรมวิธีพ่นสารสกัดจากเจตมูลเพลิงแดงมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเพิ่มขึ้นน้อยที่สุด สอดคล้องกับเดือนที่ 2 ส่วนกรรมวิธีพ่นสารสกัดจากไพล สะเดา คาร์เบนดาซิม และกรรมวิธีควบคุมไม่มีความแตกต่างกัน เมื่อพ่นสารสกัดครบ 4 เดือน พบว่าทุกกรรมวิธีไม่มีผลแตกต่างกันทางสถิติ แต่เมื่อดูจากเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคที่เพิ่มขึ้น พบว่ากรรมวิธีพ่นสารสกัดจากเจตมูลเพลิงแดงมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเพิ่มขึ้นน้อยที่สุด สอดคล้องกับผลที่ได้จากการวิเคราะห์ทุกเดือน ส่วนกรรมวิธีที่เกิดโรคเพิ่มขึ้นมากที่สุดคือ กรรมวิธีควบคุม และมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเพิ่มขึ้นใกล้เคียงกับกรรมวิธีฉีดพ่นสารสกัดจากสะเดา (ตารางที่ 3 และ 4)

เมื่อวิเคราะห์ผลโดยแบ่งกลุ่มพืชตามการเกิดโรคเริ่มต้นก่อนทำการทดลองออกเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่เกิดโรคในช่วง 1-25 เปอร์เซ็นต์ และกลุ่มที่เกิดโรค 26-50 เปอร์เซ็นต์ พบว่าในกลุ่มที่เกิดโรคเริ่มต้นก่อนการทดลอง 1-25 เปอร์เซ็นต์ เมื่อพ่นสารสกัดจากพืชและสารเคมีครบ 1 เดือน พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยกรรมวิธีพ่นสารสกัดจากเจตมูลเพลิงแดง และสะเดามีการเกิดโรคเพิ่มขึ้นน้อยที่สุด เมื่อพ่นครบ 2, 3 และ 4 เดือนที่พบว่าทุกกรรมวิธีไม่มีผลแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่5) ส่วนในกลุ่มที่เกิดโรคเริ่มต้นก่อนการทดลองที่ 26-50 เปอร์เซ็นต์นั้น พบว่าหลังพ่นครบ 1 เดือน สารสกัดจากเจตมูลเพลิงแดงมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคที่เพิ่มขึ้นน้อยที่สุดเช่นเดียวกันกับผลที่ได้เมื่อพ่นครบ 2, 3 และ 4 เดือน (ตารางที่ 6)

เมื่อวิเคราะห์ผลโดยแบ่งกลุ่มพืชตามการเกิดโรคเริ่มต้นที่ต่างกันคือ 1-25 เปอร์เซ็นต์ และ 26-50 เปอร์เซ็นต์ สามารถบอกได้ว่าการควบคุมการเกิดโรค โดยการพ่นสารสกัดและสารเคมีในต้น

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ที่มีอาการของโรคน้อย คือ 1-25 เปอร์เซ็นต์ นั้นสามารถยับยั้งการเกิดโรคได้มากกว่าต้นที่มีอาการของโรคเพิ่มขึ้น คือ 26-50 เปอร์เซ็นต์ โดยเปรียบเทียบกันทุกกรรมวิธี หลังจากฉีดพ่นสารสกัดและสารเคมีครบ 1-4 เดือน พบว่า ในกลุ่มที่เกิดโรคเริ่มต้นน้อยกว่ามีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคที่เพิ่มขึ้นในแต่ละเดือนน้อยกว่ากลุ่มที่เกิดโรคเริ่มต้นมากกว่า อย่างไรก็ตาม พบว่าในกลุ่มพืชที่แสดงอาการโรคเริ่มต้นก่อนการทดลอง 26-50 เปอร์เซ็นต์ เมื่อมีการฉีดพ่นสารสกัดจากเจตมูลเพลิงแดง สามารถยับยั้งการเกิดโรคได้ดีกว่ากรรมวิธีอื่นๆ โดยแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 6)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 3 เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคใบปื้นเหลืองในกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์แดงพิริยาหลังการฉีดพ่นสารสกัดจากพืชและสารเคมีที่ระยะเวลาต่างๆในสภาพโรงเรือน

กรรมวิธี	เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคในระยะเวลาต่างๆ				
	ก่อนพ่น	หลังพ่นสารสกัด			
	สารสกัด	1 เดือน	2 เดือน	3 เดือน	4 เดือน
กรรมวิธีควบคุม	47.08	68.81	90.52a	91.62a	95.31
คาร์เบนดาซิม	45.37	65.51	88.19a	90.28a	93.29
ข่า	46.28	63.09	81.08ab	84.27a	85.55
ไพล	46.74	68.64	84.96ab	88.26a	91.06
เจตมูลฯ	45.14	57.64	71.53b	71.53b	80.55
สะเดา	46.04	66.28	89.46a	90.36a	94.05
F-test	ns	ns	*	*	ns
cv (%)	22.51	21.29	22.46	20.12	19.51

หมายเหตุ ns ไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ

* แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 4 เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคใบปื้นเหลืองในกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์แดงพิริยาที่เพิ่มขึ้นในระยะเวลาต่างๆหลังการฉีดพ่นสารสกัดจากพืชและสารเคมีในสภาพโรงเรือน

กรรมวิธี	เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเพิ่มขึ้นหลังการฉีดพ่นสารสกัดในระยะเวลาต่างๆ			
	1 เดือน	2 เดือน	3 เดือน	4 เดือน
กรรมวิธีควบคุม	21.73	43.52a	44.54a	48.23
คาร์เบนดาซิม	20.14	42.82a	44.91a	47.91
ข่า	16.80	34.79ab	37.99ab	39.27
ไพล	21.89	38.22ab	41.51a	44.32
เจตมูลฯ	12.50	26.39b	26.39b	35.42
สะเดา	20.27	43.45a	44.34a	48.04
F-test	ns	*	*	ns
cv (%)	24.57	23.25	26.56	20.27

หมายเหตุ ns ไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ

* แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 5 เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคใบปื้นเหลืองในกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์แดงพิริยาที่เพิ่มขึ้นในระยะ เวลาต่างๆหลังการฉีดพ่นสารสกัดจากพืชและสารเคมีในสภาพโรงเรือนกลุ่มที่แสดงอาการของโรคเริ่มต้น 1-25 เปอร์เซ็นต์

กรรมวิธี	เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเพิ่มขึ้นหลังการฉีดพ่นสารสกัดในระยะเวลาต่างๆ			
	1 เดือน	2 เดือน	3 เดือน	4 เดือน
กรรมวิธีควบคุม	15.00ab	23.33	27.50	40.00
คาร์เบนดาซิม	23.75a	48.75	48.75	48.75
ข่า	20.87ab	28.87	35.33	39.66
ไพล	11.87ab	21.25	29.06	38.87
เจตมูลฯ	6.66b	23.33	35.83	40.00
สะเดา	6.66b	31.66	44.16	56.66
F-test	*	ns	ns	ns
cv (%)	25.07	26.27	28.56	28.75

หมายเหตุ ns ไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ

* แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 6 เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคใบปื้นเหลืองในกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์แดงพิริยาที่เพิ่มขึ้นในระยะเวลาต่างๆหลังการฉีดพ่นสารสกัดจากพืชและสารเคมีในสภาพโรงเรือนกลุ่มที่แสดงอาการของโรคเริ่มต้น 26-50 เปอร์เซ็นต์

กรรมวิธี	เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเพิ่มขึ้นหลังการฉีดพ่นสารสกัดในระยะเวลาต่างๆ			
	1 เดือน	2 เดือน	3 เดือน	4 เดือน
กรรมวิธีควบคุม	20.65ab	40.49ab	46.27a	51.91a
คาร์เบนดาซิม	26.46a	50.20a	52.08a	52.79a
ข่า	21.94ab	39.75ab	45.55a	45.25ab
ไพล	26.89a	43.22a	46.51a	47.31ab
เจตมูลฯ	17.50b	31.39b	31.39b	38.41b
สะเดา	25.26ab	48.45a	48.64a	57.66a
F-test	*	*	*	*
cv (%)	11.57	10.74	14.85	16.10

หมายเหตุ * แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิจารณ์

โรคใบปื้นเหลืองของกล้วยไม้เกิดจากเชื้อรา *Pseudocercospora dendrobii* เป็นโรคที่มีความสำคัญในการเข้าทำลายกล้วยไม้ โดยเฉพาะกล้วยไม้สกุลหวาย พบการระบาดของโรคทั่วไปในแหล่งปลูกกล้วยไม้ของประเทศไทย การควบคุมโรคใช้วิธีการฉีดพ่นสารเคมีเป็นสำคัญ จากรายงานฤทธิ์ของสารจากพืชในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ การวิจัยนี้จึงทำการศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชในการยับยั้งเชื้อรา *P. dendrobii* สาเหตุโรคใบปื้นเหลืองของกล้วยไม้ โดยการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืชในการยับยั้งการเจริญของเส้นใย และการงอกของสปอร์เชื้อรา พบปัญหาเบื้องต้นในการแยกเชื้อราบริสุทธิ์เพื่อนำมาใช้ในการทดสอบ เนื่องจากเชื้อรา *P. dendrobii* เป็นเชื้อที่เลี้ยงได้ยากบนอาหารเลี้ยงเชื้อ ซึ่งจากรายงานของ El-Gholl (1982) พบว่าเชื้อรานี้สามารถเจริญได้ดี และสร้างสปอร์ได้บนอาหาร V-8 juice agar โดยเจริญได้ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 เซนติเมตร ในเวลา 21 วัน และ Tzen *et al*. (1992) ได้รายงานว่าเชื้อราสามารถเจริญได้ดีบนอาหาร SMA โดยเจริญได้ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 เซนติเมตร ในเวลา 21 วัน และบนอาหาร V-8 juice agar เส้นใยของเชื้อราเจริญดีโดยเจริญได้ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5.5 เซนติเมตร ในเวลา 21 วัน แต่อย่างไรก็ตาม จากการทดลองนี้พบว่า เชื้อราที่แยกได้และนำมาเลี้ยงบนอาหาร V-8 juice agar ที่ได้นั้นแตกต่างกัน คือเจริญได้ช้าโดยโคโลนีเชื้อรามีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 4.5 เซนติเมตร ที่อายุ 20 วัน และไม่มีการสร้างสปอร์ ความแตกต่างนี้น่าจะมาจากสภาพแวดล้อมที่ใช้ในการเลี้ยงเชื้อ ทั้งนี้ได้ทำการทดลองเลี้ยงเชื้อบนอาหารชนิดต่างๆ ได้แก่ PDA NGA SMA V-8 juice agar และอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมใบกล้วยไม้ พบว่าเชื้อที่แยกได้เจริญได้ดีที่สุดบนอาหาร V-8 juice agar และไม่สร้างสปอร์ เมื่อเชื้อไม่สร้างสปอร์ จึงทำให้ไม่สามารถตรวจสอบ และจำแนกเชื้อที่แยกได้ จึงทำการตรวจสอบเชื้อโดยใช้เทคนิค PCR จากเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคโดยใช้คู่ไพรเมอร์ ITS4 และ ITS5 ซึ่งเป็นคู่ไพรเมอร์ที่ได้จากส่วนของ internal transcribe spacer ซึ่งเป็นตำแหน่งที่มีความหลากหลายทางพันธุกรรมสูง และใช้ในการตรวจสอบเชื้อราหลายชนิด จากการทดลองพบว่าได้แถบดีเอ็นเอที่มีขนาด 680 bp เช่นเดียวกับการตรวจสอบกับใบกล้วยไม้ที่แสดงอาการของโรค และมีขนาดเท่ากับแถบดีเอ็นเอที่ได้จากเชื้อรา *Cercospora caricis* ตามรายงานของ George *et al*. (2000) แต่ไม่พบรายงานการใช้ไพรเมอร์ ITS4 และ ITS5 ในการตรวจสอบเชื้อ *P. dendrobii* มีรายงานการใช้ตรวจสอบเชื้อรา *Cercospora* และ *Pseudocercospora* spp. ชนิดต่างๆ โดยพบว่าแถบดีเอ็นเอที่ได้มีขนาดต่างจากเชื้อ *Cercospora apii* *Pseudocercospora conyzae* *P. purpurea* และ *P. cavarae* ซึ่งให้แถบดีเอ็นเอขนาด 550 bp เมื่อนำผลผลิตดีเอ็นเอที่ได้มาวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์และเปรียบเทียบผลในฐานข้อมูล GenBank ด้วยโปรแกรม BLASTN พบว่ามีความเหมือนกับเชื้อ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Pseudocercospora pseudoeucalyptorum 97 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งในฐานข้อมูล GenBank ยังไม่มีข้อมูลของเชื้อ *P. dendrobii* อย่างไรก็ตาม ผลการตรวจสอบเชื้อราที่แยกได้ว่าเป็นเชื้อราสาเหตุโรคใบปื้นเหลืองคือ แถบดีเอ็นเอที่ได้จากเส้นใยของเชื้อราที่แยกได้จากใบกล้วยไม้ที่เป็นโรคมีขนาดเท่ากับแถบดีเอ็นเอของใบกล้วยไม้ที่แสดงอาการของโรค ต่างกับใบกล้วยไม้ที่ไม่แสดงอาการของโรคซึ่งไม่แสดงแถบดีเอ็นเอ จากผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าไพรเมอร์ ITS4 และ ITS5 สามารถนำมาใช้ตรวจสอบเชื้อ *P. dendrobii* ได้ในเบื้องต้น อย่างไรก็ตามควรทำการศึกษาความเฉพาะเจาะจงของไพรเมอร์ ITS4 และ ITS5 โดยตรวจสอบเพิ่มเติมกับเชื้อราชนิดอื่นๆ โดยเฉพาะเชื้อราที่มีโอกาสปนเปื้อนในสวนกล้วยไม้ และสร้างไพรเมอร์ที่มีความเฉพาะเจาะจงต่อเชื้อรา *P. dendrobii* เพื่อใช้การตรวจสอบเชื้อ

เนื่องจากการเลี้ยงเชื้อบนอาหาร V-8 juice agar ไม่พบการสร้างสปอร์ของเชื้อ จึงเตรียมสปอร์โดยการปัดสปอร์จากใบกล้วยไม้โดยตรง ซึ่งพบว่าวิธีนี้ต้องเลือกใบที่แสดงอาการของโรคเพียงอาการเดียวเท่านั้น และมีข้อจำกัดของการเตรียมสปอร์เชื้อ *P. dendrobii* คือ จำเป็นต้องเลือกใช้ใบกล้วยไม้ที่แสดงอาการของโรคและมีสปอร์มากพอ และต้นกล้วยไม้ที่เป็นโรคต้องไม่ผ่านการฉีดพ่นสารเคมีอย่างน้อย 1-2 เดือน เพราะจากการทดสอบโดยปัดสปอร์เชื้อราจากใบกล้วยไม้ในสวนทั่วไปที่ฉีดพ่นสารเคมีตามปกติ พบว่าสปอร์ของเชื้อราไม่สามารถงอกได้ภายใน 24 ชั่วโมง เปรียบเทียบกับกล้วยไม้ที่แสดงอาการโรคใบปื้นเหลืองที่ไม่ได้รับการฉีดพ่นสารเคมีนั้น สปอร์ของเชื้อราสามารถงอกได้ภายใน 24 ชั่วโมง ซึ่งการศึกษาต่อไปในอนาคตอาจมีการศึกษาถึงวิธีการเลี้ยงเชื้อรา *P. dendrobii* บนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่างๆ ที่สภาวะแวดล้อมที่ต่างกันให้สามารถเจริญได้ดีและมีการสร้างสปอร์ได้ในปริมาณมากต่อไป

การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืชในการยับยั้งเชื้อรา *P. dendrobii* การทดลองนี้ เลือกใช้สารสกัดจากพืช 4 ชนิด ได้แก่ เหง้าข่า เหง้าไพล รากเจตมูลเพลิงแดง และเมล็ดสะเดา แม้ว่ายังไม่พบรายงานการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืชในการยับยั้งเชื้อรา *P. dendrobii* มาก่อน แต่จากรายงานเกี่ยวกับสารสกัดทั้ง 4 ชนิดนี้ในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืชชนิดอื่น พบว่าสารสกัดจากพืชทั้ง 4 ชนิด มีศักยภาพในการนำไปใช้ โดยสารสกัดจากข่าสามารถยับยั้งเชื้อรา *Colletotrichum capsici* และ *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของพริก (อนุวัฒน์, 2545; สุภัทรา และคณะ, 2549; กอบชัย, 2550; ชลิดา และ ชัยณรงค์, 2550; รวีวรรณ, 2551; ธีรวัฒน์, 2553) สารสกัดจากไพลสามารถยับยั้งเชื้อรา *C. capsici* และ *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของพริก (สุภัทรา และคณะ, 2549; ธีรวัฒน์, 2553) เชื้อรา *Rhizotonia*

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

solani สาเหตุโรคเน่าในพืช (Kishore and Dwivedi, 1991) เชื้อรา *Phomopsis asparagi* สาเหตุโรคลำต้นไหม้ในหน่อไม้ฝรั่ง (กานดา และ วิไลลักษณ์, 2547) สารสกัดจากเจตมูลเพลิงแดงสามารถยับยั้งเชื้อรา *C. gloeosorioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของมะม่วง (ชลิดา และคณะ, 2545; สิริวรรณ และคณะ, 2546; สิริวรรณ, 2547) เชื้อรา *C. gloeosorioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของพริก(ชาครีย์, 2550) เชื้อรา *Pestalotiopsis* sp. สาเหตุโรคใบจุดของลำไย (เทอดพันธุ์, 2544) และสารสกัดจากสะเดาสามารถยับยั้งเชื้อรา *C. gloeosorioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของมะละกอ (วิภา, 2544) และสามารถควบคุมเชื้อรา *Pyricularia oryzae* สาเหตุโรคใบไหม้ของข้าว (Amadioha, 2000) และเมื่อทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดพืช 4 ชนิด ในการยับยั้งเชื้อรา *P. dendrobii* ด้วยวิธี poisoned food technique พบว่าสารสกัดทั้ง 4 ชนิด สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. dendrobii* ได้ โดยพบว่าสารสกัดจากพืชแต่ละชนิดมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อได้แตกต่างกัน สารสกัดที่ออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเส้นใยได้ดีที่สุดคือ สารสกัดจากข่า และไพล รองลงมาคือเจตมูล - เพลิงแดง และสะเดา ตามลำดับ โดยความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราได้ 100 เปอร์เซ็นต์ มีดังนี้ สารสกัดจากข่า และไพล ความเข้มข้น 5,000 มิลลิกรัมต่อลิตร เจตมูลเพลิง - แดงความเข้มข้น 7,500 มิลลิกรัมต่อลิตร และสะเดาความเข้มข้น 30,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนสารสกัดพืชที่ออกฤทธิ์ยับยั้งการงอกของสปอร์ได้ดีที่สุดคือ สารสกัดจากข่า และเจตมูลเพลิงแดง โดยพบว่า ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์ได้ 100 เปอร์เซ็นต์คือ 2,500 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนไพล และสะเดาความเข้มข้น 10,000 มิลลิกรัมต่อลิตร แสดงให้เห็นว่าพืชที่ใช้ในการทดลองนี้ทั้ง 4 ชนิด มีสารออกฤทธิ์ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุของโรคใบปื้นเหลืองของกล้วยไม้ได้ ในการทดลองนี้ใช้แอลกอฮอล์เป็นตัวทำละลาย เนื่องจากมีคุณสมบัติในการทำละลายได้กว้าง ทั้งสารที่มีขั้วและไม่มีขั้ว (นันทวัน, 2526) โดย Pongpan *et al*. (1982) รายงานว่าได้นำพืชสมุนไพร 200 ชนิด มาทำการสกัดโดยใช้แอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ คลอโรฟอร์ม และปิโตรเลียมอีเธอร์ เป็นตัวทำละลาย ทดสอบกับจุลินทรีย์ 7 ชนิด พบว่าสารสกัดที่สกัดด้วยแอลกอฮอล์ มีประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ได้ดีที่สุด รองลงมาได้แก่ สารสกัดที่สกัดด้วยคลอโรฟอร์ม และ ปิโตรเลียมอีเธอร์ ตามลำดับ Thummapimook (2009) ศึกษาสารสกัดจากข่าในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของพริก โดยใช้ตัวทำละลายที่แตกต่างกัน พบว่า เอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ เป็นตัวทำละลายได้ดีกว่าตัวทำละลายทุกชนิดที่ทำการศึกษา ได้แก่ เอทานอลเหล้าขาว 40 ดีกรี น้ำกลั่น น้ำประปา และน้ำบาดาล และจากรายงานของ Yulia *et al*. (2006) ศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากอบเชย ข่า และใบกระวาน โดยใช้เอทานอล และน้ำเป็นตัวทำละลาย พบว่าสารสกัดจากเอทานอลมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา C. *gloeosporioides* ได้ดีกว่าสารสกัดจากน้ำ ซึ่งจากรายงานต่างๆพบว่า แอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สามารถใช้เป็นตัวทำละลายที่ดีในการสกัดสารจากพืชมาใช้ควบคุมโรคพืชได้

เมื่อนำสารสกัดจากพืชทั้ง 4 ชนิด ทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมโรคใบปื้นเหลืองกล้วยไม้ในสภาพโรงเรือน โดยเลือกใช้สารสกัดที่ความเข้มข้น 20,000 มิลลิกรัมต่อลิตร เนื่องจากมีรายงานการศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืชในการนำไปใช้ควบคุมโรค พบว่าการใช้สารสกัดจากข่าที่ความเข้มข้น 20,000 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือ 2 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งการเกิดโรคได้ โดยการทดลองในสภาพโรงเรือนนี้ทดลองกับกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์แดงพิริยาซึ่งอยู่ในโรงเรือนของภาควิชาพืชสวน โดยฉีดพ่นทุก 7 วัน เป็นเวลา 4 เดือน พบว่าหลังฉีดพ่นสารสกัดเป็นเวลา 2 เดือน และ 3 เดือน สารสกัดจากเจตมูลเพลิงแดงมีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคได้ดีที่สุด โดยมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเพิ่มขึ้นน้อยที่สุด และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่มีการฉีดพ่นสารใดๆ อย่างไรก็ตาม สารสกัดจากเจตมูลเพลิงแดงไม่สามารถยับยั้งการเกิดโรคได้ถึง 100 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งต่างจากผลในห้องปฏิบัติการ อาจเป็นเพราะต้นกล้วยไม้ที่ใช้ในการทดลองเริ่มจากต้นที่เป็นโรคอยู่แล้ว ดังนั้นประสิทธิภาพของสารสกัดในการควบคุมโรคอาจไม่ดีเท่าที่ควรเพราะเชื้อราสาเหตุโรคมีการเข้าทำลายพืชแล้ว จากการทดสอบในห้องปฏิบัติการพบว่า สารสกัดจากพืช เช่น สารสกัดจากเจตมูลเพลิงแดง และข่านั้น สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์ได้ 100 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้ความเข้มข้นเพียง 2,500 มิลลิกรัมต่อลิตร แต่ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยให้ได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ต้องใช้สารสกัดที่ความเข้มข้น 7,500 และ 5,000 มิลลิกรัมต่อลิตรตามลำดับ ดังนั้นถ้านำสารสกัดไปใช้กับพืชที่ยังไม่เกิดโรค น่าจะให้ผลในการควบคุมโรคได้ดีกว่านี้ ซึ่งจากผลการทดลองได้แสดงให้เห็นว่า เมื่อแบ่งกลุ่มพืชที่แสดงอาการโรคก่อนการปลูกเชื้อเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่แสดงอาการของโรคเริ่มต้น 1-25 เปอร์เซ็นต์ และกลุ่มที่แสดงอาการของโรคเริ่มต้น 26-50 เปอร์เซ็นต์ พบว่าในกลุ่มต้นที่แสดงอาการของโรคเริ่มต้นน้อยกว่าให้ผลในการควบคุมโรคที่ดีกว่าเมื่อเทียบกับกลุ่มของต้นที่แสดงอาการของโรคที่เพิ่มมากขึ้น อย่างไรก็ตามเมื่อฉีดพ่นสารสกัดครบ 4 เดือน พบว่าทุกกรรมวิธีไม่มีผลแตกต่างกันทางสถิติ โดยมีการเกิดโรคสูงสุดในทุกกรรมวิธี แม้แต่การใช้สารเคมี ซึ่งควบคุมโรคได้เพียงระยะหนึ่งเท่านั้น เนื่องจากพืชมีการติดเชื้อแล้ว และสารสกัดจากพืชที่ใช้ในการทดลองน่าจะเป็นสารที่ไม่สามารถดูดซึมได้ การนำไปใช้ให้เกิดประสิทธิภาพ จึงควรนำไปใช้ป้องกันก่อนการเกิดโรค และศึกษาถึงความถี่ในการฉีดพ่น โดยไม่มีรายงานความคงทนของสารสกัดจากพืชที่ใช้ในการทดลอง แต่มีรายงานความคงทนของสารสกัดบางชนิดในสภาพห้องปฏิบัติการ เช่น สารสกัดหยาบจากเปลือกทับทิมสามารถคงฤทธิ์อยู่ได้นาน 3 เดือน สารสกัดจากใบทองพันชั่ง คงฤทธิ์อยู่ได้ไม่เกิน 3 วัน (อุไรวรรณ, 2544) ดังนั้นจึงควรทำการทดสอบความคงทนของสารสกัดจากเจตมูลเพลิงแดง ข่า

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ไพล และสะเดา ต่อไป ส่วนกรรมวิธีที่ฉีดพ่นสารเคมีคาร์เบนดาซิมนั้น ในการทดลองในสภาพโรงเรือนพบว่า ให้ผลในการยับยั้งการเกิดโรคได้น้อยกว่าสารสกัดจากพืชเกือบทุกกรรมวิธี อาจมีสาเหตุมาจากการดื้อยาของเชื้อรา และในการพ่นสารเคมีของเกษตรกรนั้นพบว่ามีการใช้ยาร่วมกันมากกว่า 1 ชนิดในการฉีดพ่นเพื่อควบคุมโรค และอาจมีการฉีดพ่นที่มากกว่า 1 ครั้งใน 1 สัปดาห์ จึงทำให้กรรมวิธีที่ใช้สารเคมีคาร์เบนดาซิมเพียงชนิดเดียว และฉีดพ่น 1 ครั้งต่อ 1 สัปดาห์ในการทดลองนี้ให้ผลที่ไม่ดีเมื่อเทียบกับกรรมวิธีอื่นๆ ซึ่งจากผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืชซึ่งดีกว่าสารเคมี จึงเป็นทางเลือกในการนำไปใช้ อย่างไรก็ตามควรศึกษาการต้านทานของเชื้อต่อสารสกัดจากพืชชนิดต่างๆ

เมื่อเปรียบเทียบผลการทดลองในห้องปฏิบัติการ และในสภาพโรงเรือน พบว่าในห้องปฏิบัติการ สารสกัดจากไพล และข่า สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราได้ดีที่สุด สารสกัดจากข่า และเจตมูลเพลิงแดง สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อราได้ดีที่สุด แต่เมื่อทดสอบในสภาพโรงเรือนพบว่า สารสกัดจากเจตมูลเพลิงแดงสามารถยับยั้งการเกิดโรคได้ดีกว่าสารสกัดจากไพล แสดงให้เห็นว่าการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืช เพื่อนำไปใช้ควบคุมโรคในระดับห้องปฏิบัติการ ควรทำการทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการงอกของสปอร์ร่วมกับการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราด้วย เนื่องจากสารสกัดจากพืชที่ยับยั้งการงอกของสปอร์ได้ดี มีประสิทธิภาพในการนำไปใช้ควบคุมโรคพืชได้ดีกว่าสารสกัดจากพืชที่ยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราได้ดีเพียงอย่างเดียว

จากการทดลองพบว่า สารสกัดจากพืชที่เลือกใช้ทั้ง 4 ชนิด ซึ่งมีฤทธิ์กว้างกับเชื้อสาเหตุโรคพืชชนิดอื่นด้วย และสารสกัดจากเจตมูลเพลิงแดงมีประสิทธิภาพดีที่สุดในการยับยั้งการเกิดโรคในสภาพโรงเรือนกล้วยไม้ จึงควรมีการศึกษาเพิ่มเติมเพื่อให้เกิดประสิทธิภาพในการนำไปใช้ และพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เพื่อนำไปใช้ในการป้องกันกำจัดโรคพืชที่เกิดจากเชื้อราต่อไป

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สรุปและข้อเสนอแนะ

สรุป

การแยก และเลี้ยงเชื้อ *Pseudocercospora dendrobii* สาเหตุโรคใบปื้นเหลืองในกล้วยไม้ บนอาหารเลี้ยงเชื้อ V-8 juice agar เชื้อมีอัตราการเจริญโดยมีเส้นผ่านศูนย์กลาง 4.5 เซนติเมตรเมื่ออายุ 20 วัน และไม่มีการสร้างสปอร์

การตรวจเชื้อรา *P. dendrobii* ด้วยเทคนิค PCR โดยใช้คู่ไพรเมอร์ ITS4 และ ITS5 พบว่าได้แถบดีเอ็นเอที่มีขนาด 680 bp

การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืช 4 ชนิด ได้แก่ ข่า ไพล เจตมูลเพลิงแดงและสะเดาในห้องปฏิบัติการ ด้วยวิธี poisoned food technique พบว่าสารสกัดพืชทั้ง 4 ชนิด สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยของเชื้อรา *P. dendrobii* สาเหตุโรคใบปื้นเหลืองของกล้วยไม้สกุลหวายได้ โดยที่สารสกัดจากข่าและไพลมีประสิทธิภาพดีที่สุด โดยสารสกัดจากข่าและไพลที่ความเข้มข้น 5,000 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถยับยั้งการเจริญได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ส่วนสารสกัดจากเจตมูลเพลิงแดง และสะเดาที่ความเข้มข้น 7,500 และ 30,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ

การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืชในการยับยั้งการงอกของสปอร์ในห้องปฏิบัติการด้วยวิธี spore drop technique พบว่าสารสกัดจากข่าและเจตมูลเพลิงแดงมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการงอกของสปอร์ของเชื้อรา *P. dendrobii* ได้ดีที่สุด ส่วนสารสกัดจากสะเดามีประสิทธิภาพในการยับยั้งการงอกของสปอร์ได้น้อยที่สุด โดยสารสกัดจากข่า และเจตมูลเพลิงแดงที่ความเข้มข้น 2,500 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์ได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ส่วนสารสกัดจากไพล และสะเดาที่ความเข้มข้น 10,000 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์ได้ 100 เปอร์เซ็นต์

การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืชในการยับยั้งการเกิดโรคใบปื้นเหลืองในสภาพโรงเรือนเมื่อระยะเวลา 4 เดือน พบว่าสารสกัดจากเจตมูลเพลิงแดงมีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคใบปื้นเหลืองได้ดีที่สุด รองลงมาคือกรรมวิธีที่ใช้สารสกัดจากข่า และไพล ส่วนสารเคมีคาร์เบนดาซิม และสารสกัดจากสะเดามีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคใกล้เคียงกัน ซึ่งสารสกัด

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

จากสะเดามีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคใบปื้นเหลืองน้อยที่สุด และพบว่าสารสกัดจากพืชให้ผลในการยับยั้งการเกิดโรคได้ดีกว่ากับต้นที่เป็นโรคน้อยกว่า

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ข้อเสนอแนะ

การใช้สารสกัดจากพืชเพื่อให้ได้ผลที่ดียิ่งขึ้น ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมในเรื่องการใช้ในสภาพโรงเรือนจริง กับต้นกล้วยไม้ที่ยังไม่เป็นโรค และศึกษาระดับความเข้มข้น อัตราการใช้ความถี่ในการใช้ที่เหมาะสมเพื่อประสิทธิภาพที่สูงสุดและคุ้มค่ามากที่สุดต่อไป

การเลี้ยงเชื้อรา *Pseudocercospora dendrobii* บนอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อให้ได้ผลของการเจริญของเชื้อที่ดีขึ้น และสามารถสร้างสปอร์ได้ ควรมีการศึกษาถึงการเลี้ยงเชื้อบนอาหารชนิดต่างๆกันในสภาวะแวดล้อมที่ต่างกัน เช่นอุณหภูมิ แสง เพื่อให้ได้อาหารเลี้ยงเชื้อที่มีประสิทธิภาพต่อไป

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

กรพินธุ์ ทนกล้า. 2551. **การใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคใบปื้นเหลืองของกล้วยไม้สกุลหวาย สาเหตุจากเชื้อรา *Pseudocercospora dendrobii*.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, วิทยาเขตกำแพงแสน, นครปฐม.

กรมวิชาการเกษตร. 2542. **คู่มือการปฏิบัติปลูกเลี้ยงกล้วยไม้.** กลุ่มไม้ดอกไม้ประดับ, กองส่งเสริมพืชสวน, กรมส่งเสริมการเกษตร, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. กรุงเทพฯ. 103 น.

กอบชัย อัยอารีย์. 2550. **การประเมินผลของสารสกัดจากข่าและไพลในการการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของพริก.** ปัญหาพิเศษปริญญาตรี, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

กานดา คำทมูล และ วิไลลักษณ์ วาดี. 2547. **รายงานการวิจัยการศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืชสมุนไพรในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Phomopsis asparagi* และ *Colletotrichum gloeosporioides* ในหน่อไม้ฝรั่ง.** มหาวิทยาลัยราชภัฏนครปฐม.

กุลฉวี กำจายภัย. 2526. **โรคและแมลงศัตรูกล้วยไม้.** บริษัทบางกอกฟลาวเออร์เซ็นเตอร์ จำกัด. 114 น.

จิตราพรรณ พิลึก. 2542. **การปลูกเลี้ยงกล้วยไม้**. ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 74 น.

ชลิดา เล็กสมบูรณ์, อุดม ฟ้ารุ่งสาง และ นวลวรรณ ฟ้ารุ่งสาง. 2545. **รายงานความก้าวหน้าโครงการวิจัยทุนอุดหนุนวิจัยผลของสารสกัดเจตมูลเพลิงแดงต่อการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์สาเหตุโรคพืช ประจำปีงบประมาณ 2545**. 10 หน้า. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ชลิดา เล็กสมบูรณ์ และ ชัยณรงค์ รัตนกรีฑากุล. 2550. **อนาคตที่สดใสของการควบคุมโรคแอนแทรคโนสพริก: สมุนไพรไทย**. แหล่งที่มา: http://www.ku.ac.th/e-magazine/may50/agri/chilli.htm, 15กรกฎาคม 2550.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ชาครีย์ เหล่ามโนธรรม. 2550. **ฤทธิ์ต้านเชื้อราของสารสกัดพืชบางชนิดต่อเชื้อรา *Colletotrichum* spp. สาเหตุโรคแอนแทรคโนสพริก.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, วิทยาเขตกำแพงแสน, นครปฐม.

โชคชัย พรหมแพทย์. 2537. **ไม้สะเดาและการใช้สารสกัดจากสะเดาป้องกันกำจัดแมลง.** อโกรคอมมิวนิก้า. กรุงเทพฯ.

ณัฐพงษ์ นวลดี. 2553. **การหาลักษณะเฉพาะทางพันธุกรรมและการควบคุมเชื้อรา *Cercospora spp.* ที่ต้านทานสารเคมีคาร์เบนดาซิมโดยใช้เชื้อแอกติโนไมซีสต์.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

เทอดพันธ์ ธรรมรัตนพงษ์. 2544. **ประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากเจตมูลเพลิงแดงที่มีต่อการเจริญของเชื้อรา *Pestalotiopsis* sp. สาเหตุโรคใบจุดดำของลำไย.** ปัญหาพิเศษปริญญาตรี. มหาวิทยาลัยแม่โจ้.

ธีรพล วิชินโรจน์จรัล. 2548. **ศักยภาพของสารสกัดจากเจตมูลเพลิงแดงในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสพริก.** ปัญหาพิเศษปริญญาตรี. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, วิทยาเขตกำแพงแสน, นครปฐม.

ธีรวัฒน์ สนธิหา. 2553. **การควบคุมโรคแอนแทรคโนสของพริกโดยการใช้สารสกัดจากพืช.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, วิทยาเขตกำแพงแสน, นครปฐม.

นิยมรัฐ ไตรศรี. 2542. **โรคของกล้วยไม้และการป้องกันกำจัด.** กลุ่มงานวิจัยโรคพืชผักไม้ดอกและไม้ประดับ. กองโรคพืชและจุลชีววิทยา, กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ. 49 น.

นิยมรัฐ ไตรศรี. 2544. **คู่มือโรคไม้ดอกไม้ประดับและการป้องกันกำจัด.** กลุ่มงานวิจัยโรคพืชผักไม้ดอกและไม้ประดับ. กองโรคพืชและจุลชีววิทยา, กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ. 49 น.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

นันทวัน บุญประภัศร. 2536. การตรวจสอบทางเคมีเบื้องต้นของสารสกัดจากพืช. *ใน* **ยาและผลิตภัณฑ์ธรรมชาติเล่มที่ 1**. น. 116-129. ภาควิชาเภสัชวินิจฉัย คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.

บัญญัติ สุขศรีงาม. 2518. **ประสิทธิภาพของเครื่องเทศบางชนิดในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

พัฒนา สนธิรัตน, ประไพศรี พิทักษ์ไพรวัน, ธนวัฒน์ กำแหงฤทธิรงค์, วิรัช ชูบำรุง และ อุบล คือประโดน. 2537. **ดรรชนีโรคพืชในประเทศไทย.** กลุ่มงานวิทยาไมโค กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ. 285 น.

รวีวรรณ เดือมขันมณี. 2551. **การทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยและสารสกัดจากข่าต่อเชื้อราสาเหตุโรคพืชบางชนิด.** คณะเทคโนโลยีการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคล.

วิทยา ทวีนุช. 2541. ผลของสารสกัดสะเดาต่อการควบคุมโรคโคนเน่าพริก. *ใน* **การประชุมสัมมนาทางวิชาการ สถาบันเทคโนโลยีราชมงคล ครั้งที่ 15 (สาขาพืชศาสตร์)**. 338 หน้า. กรุงเทพฯ.

วิภา เพิ่มผลนิรันดร์. 2544. **การทดสอบสารสกัดจากพืชสมุนไพรต่อเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของมะละกอในห้องปฏิบัติการ**. ปัญหาพิเศษปริญญาตรี. มหาวิทยาลัยนเรศวร.

วิมลมาศ ลิปิพันธ์. 2526. **ฤทธิ์การฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดจากพืชสมุนไพร.** ไทยเภสัชสาร 8: 21-32.

ศูนย์สมุนไพรทักษิน. 2550. **เจตมูลเพลิงแดง**. ข้อมูลสมุนไพร. แหล่งที่มา: http://herbal.pharmacy.psu.ac.th/data/herbal/plumbago rosea.html, 9 มกราคม 2550

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สมศักดิ์ ไชยฤทธิ์. 2548. **การศึกษาประสิทธิภาพสารสกัดข่า กระเทียม และกระเจี๊ยบในการยับยั้งเชื้อราที่ผลส้มเขียวหวาน**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์.

สิริวรรณ สมิทธิอาภรณ์. 2547. **การควบคุมโรคแอนแทรคโนสและโรคขั้วผลเน่าในมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้โดยการใช้สารสกัดจากพืช**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, วิทยาเขตกำแพงแสน, นครปฐม.

สิริวรรณ สมิทธิอาภรณ์, ชลิดา เล็กสมบูรณ์, สมศิริ แสงโชติ, อุดม ฟ้ารุ่งสาง, กวิศร์ วานิชกุล และ นพพร สายัมพล. 2546. ผลของสารสกัดจากเจตมูลเพลิงแดงต่อการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของมะม่วง. 133-137น. *ใน* **รายงานการประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 41 (สาขาพืช).** มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

สิริวิภา สัจพงษ์, ประเทืองศรี สินไชยศรี และ พรรณผกา รัตนโกศล. 2537. ประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืชในการป้องกันกำจัดโรคใบจุดสีม่วงของหอมแดง. **รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2537 ศูนย์วิจัยพืชสวนศรีษะเกษ สถาบันวิจัยพืชสวน กรมวิชาการ**. หน้า 248-249.

สุภัทรา จามกระโทก, ชัยณรงค์ รัตนกรีฑากุล, ชลิดา เล็กสมบูรณ์, นวลวรรณ ฟ้ารุ่งสาง และ อุดม ฟ้ารุ่งสาง. 2549. ผลของสารสกัดหยาบจากพืชสมุนไพรวงศ์ขิงในการต่อต้านราสาเหตุโรคพืชหลังการเก็บเกี่ยว, น. 98-101. *ใน* **วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร ปีที่ 37 ฉบับที่ 2 (พิเศษ).** มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สุรินทร์ ปิยะโชคณากุล. 2545. **จีโนมและเครื่องหมายดีเอ็นเอปฏิบัติการอาร์เอพีดีและเอเอฟแอลพี.** สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 116 น.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2552. **ข้อมูลนำเข้า-ส่งออกกล้วยไม้.** แหล่งที่มา: http://www.oae.go.th/oae-report/export-import/export-result.php, 22 เมษายน 2553

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

อนุวัฒน์ จรัสรัตนไพบูลย์. 2545. **ผลของสารสกัดหยาบจากข่าต่อโรคแอนแทรคโนสและการเจริญเติบโตของมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

อุดมศักดิ์ พรหมอินทร์. 2540. **ผลของสารสกัดจากพืชบางชนิดต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Paecilomyces lilacinus, Fusarium oxysporum* and *Sclerotium rolfsii*.** ปัญหาพิเศษปริญญาตรี. สาขาเคมีการเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

อุไรวรรณ ตวงสิน. 2544. **การศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืชบางชนิดในการควบคุมโรคเหี่ยวจากแบคทีเรียของมะเขือเทศ.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เอมลิน พิพัฒนภักดี. 2548. **ประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์สารสกัดข่า ตะไคร้ต้น ตะไคร้หอมและสารเคมีบางชนิดต่อโรคเน่าดำของกล้วยไม้สกุลแวนด้า**. ปัญหาพิเศษปริญญาตรี. ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่.

อำไพวรรณ ภารดร์นุวัฒน์. 2540. โรคของกล้วยไม้, น. 215-231. *ใน* **ปลูกเลี้ยงกล้วยไม้จากประสบการณ์**. สำนักพิมพ์ ธรรมสาร จำกัด, กรุงเทพฯ.

อำไพวรรณ ภารดร์นุวัฒน์, ปราณี ฮัมเมอร์ลิงค์ และ ธีระ สูตะบุตร. 2543. **โรคสำคัญของกล้วยไม้และการจัดการโรค**. ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

อัจฉรา พัฒนาเดช และ อภิชาติ ริมคีรี. 2540. **ศึกษาผลของสารออกฤทธิ์จากส่วนต่างๆของพืชต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา**. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

อัญชลี สงวนพงษ์. 2551. **เทคโนโลยีการผลิตสารสกัดสะเดา**. คณะวิศวกรรม และเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีราชมงคล.

Amadioha, A. C. 2000. Controlling rice blast in vitro and in vivo with extract of *Azadirachta indica*. **Crop Protection** 19: 287-290.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Braun, U. and P. W. Crous. 2007. The diversity of cercosporoid hyphomycetes – new species, combination, names and nomenclatural clarifications. **Fungal Diversity** 26: 55-72.

Deighton, F. C. 1987. New species of *Pseudocercospora* and Mycocevellosiella and new combination into *Pseudocercospora* and Phaeoramularia. **Trans Brit Mycol.** Soc. 88: 365-391.

El-Gholl, N. E. , S. A. Alfieri, W. H. Ridings, and C. L. Schoulties. 1982. Growth and sporulation in vitro of *Cercospora apii, Cercospora arachodicola, Cercospora kikuchii* and other species of *Cercospora.* **Can. J. of Bot.** 60: 862-868.

George, M. S. , M. Johanne and M. K. Paul. 2000. Genetic similarity among *Cercospora-apii* group species and their detection in host plant tissue by PCR/RFLP analyses of the rDNA internal transcribed spacer (ITS). **J. Gen. Appl. Microbial.** 46: 69-78.

Hartman, G. L. , S. C. Chen and T. C. Wang. 1991. Cultural studies and pathogenicity of *Pseudocercospora fuligena*, the causal agent of black leaf Mold of tomato. **Plant Dis** 75: 1060-1063.

Kishore, N. and R. S. Dwivedi. 1991. Zerumbone: a potential fungitoxic agent isolated from *Zingiber cassumunar* Roxb. **Mycopathologia** 120: 155-159.

Kwun, J. H. And C. S. Park. 2007. **Sooty Leaf Blight *of Dendrobium* sp. Caused by *Pseudocercospora dendrobii***. Source: http://www.kmbase.medric.or.kr, 1 June 2009.

Mitchell, J. I. and A. Zuccaro. 2006. Sequences, the environment and fungi. **Mycologist** 20: 62-74.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Pattana, S. , P. Prapaisri, C. Wirat and G. Piya. 1980. **Plant pathogenic Cercosporae in Thailand.** Mycology branch. 51 p.

Pongpan, A., P. Chumsri and T. Taworosate. 1982. The antimicrobial activity of some Thai medicinal plants. **J. Phaem. Sci.** 9:88-91.

Rosa, R. C. T. and M. Menezes, 2001. Pathogenic, physiological and morphological characterization of *Pseudocercospora musae*. **Fitopatologia Brasileira** 26: 141-147.

Thummapimook, M. 2009. **The use of galangal extract to control chili anthracnose caused by *Colletotrichum capsict*** . M. S. Thesis, Mahidol University

Tzen, S. L. , B. K. Tung and J.G. Tsay. 1992. Etiology and chemical control of *Pseudocercospora* leaf spot of *Dendrobium* orchids. Abstracts, **Plant Protection Bulletin** 34: 8-16.

Uchida, J. Y. 1994. Disease of orchids in Hawaii (Feature Article). **Plant Dis**. 78: 220-224.

Verma, V. C. and R. N. Kharwar. 2006. Efficiency of neem extract against it's own fungal endophyte *Curvularia lunata*. **Journal of Agricultural Technology** 2: 329-335.

White, T. J. , T. Burns, S. Lee and J. Taylor. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal Ribosomal RNA genes for phylogenetics, pp. 315-355 *In* Michael A. , D.H. Gelfland, J. J. Sninsky and T. J. White. , eds. **PCR Protocols: A Guide to Methods and Applifications**, Academic Press, London

Yulia, E. , W. A. Shipton and R. J. Coventry. 2006. Activity of some plant oils and extracts against *Colletotrichum gloeosporioides*. **Plant Pathology Journal** 5: 253-257.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ประวัติการศึกษาและการทำงาน

ชื่อ – นามสกุล	นางสาวจิรภา อิ่มประสิทธิชัย
เกิดวันที่	8 กุมภาพันธ์ 2526
สถานที่เกิด	กรุงเทพมหานคร
ประวัติการศึกษา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (เกษตรศาสตร์)
ตำแหน่งหน้าที่การงานปัจจุบัน	นิสิตระดับปริญญาโท
ทุนการศึกษาที่ได้รับ	ทุนสนับสนุนคุณภาพงานวิจัยเพื่อสนับสนุนงานวิจัยจากบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์