ใบรับรองวิทยานิพนธ์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (โรคพืช)

ปริญญา

โรคพืช	โรคพืช
สาขา	**ภาควิชา**

เรื่อง การใช้สารเพื่อชักนำความต้านทานต่อโรคใบจุดของเชื้อรา *Alternaria* sp. ในผักตระกูลกะหล่ำ

Application of Plant Inducer Against Leaf Spot Disease Caused by *Alternaria sp.* in Crucifers.

นามผู้วิจัย นางสาวสุดารัตน์ สิริปรัชญาภิคุปต์

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก .....

(อาจารย์ชัยณรงค์ รัตนกรีฑากุล, Dr.sc.agr.)

หัวหน้าภาควิชา .....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์รัชนี ฮงประยูร, Ph.D.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

.....

(รองศาสตราจารย์กัญจนา ธีระกุล, D.Agr.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

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

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

การใช้สารเพื่อชักนำความต้านทานต่อโรคใบจุดของเชื้อรา *Alternaria* sp.ในผักตระกูลกะหล่ำ

Application of Plant Inducers Against Leaf Spot Disease Caused by *Alternaria sp.* in Crucifers

โดย

นางสาวสุดารัตน์ สิริปรัชญาภิคุปต์

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (โรคพืช)
พ.ศ. 2556

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สุดารัตน์ สิริปรัชญาภิคุปต์ 2556: การใช้สารเพื่อชักนำความต้านทานต่อโรคใบจุดของเชื้อรา *Alternaria* sp. ในผักตระกูลกะหล่ำ ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (โรคพืช) สาขาโรคพืช ภาควิชาโรคพืช อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: อาจารย์ชัยณรงค์
รัตนกรีฑากุล, Dr. sc. agr. 132 หน้า

ผลการแยกเชื้อราจากอาการโรคใบจุด Alternaria ของผักคะน้า และทดสอบเชื้อราในการเข้าทำลายต้นกล้าผักตระกูลกะหล่ำ พบว่าเชื้อรา 2 สายพันธุ์ ได้แก่ AL1 (*Alternaria* spp.) ก่อให้เกิดโรคในผักตระกูลกะหล่ำได้น้อยกว่า AL2 (*Alternaria brassicicola*) ที่ระดับความเข้มข้นโคนิเดีย 10^5 โคนิเดียต่อมิลลิลิตร โดยผักตระกูลกะหล่ำจะแสดงอาการโรคภายหลังการปลูกเชื้อ 2 วัน เมื่อทำการทดสอบการใช้สารชักนำความต้านทาน แคลเซียมโบรอน (CaB) ความเข้มข้น 50: 5 ppm สาร benzo-(1,2,3)-thiadiazole-7-carbothioic acid S-methyl ester (BTH) ความเข้มข้น 200 ppm สาร chitosan ความเข้มข้น 1000 ppm และ สารแคลเซียมโบรอน ผสม silicic acid - salicylic acid (CaBSS) ความเข้มข้น 70: 5: 270 ppm ในต้นกล้าผักคะน้า ผักกวางตุ้งฮ่องเต้ และผักกวางตุ้งใบหยกอายุ 7 วัน และ 25 วัน ในสภาพโรงเรือน ภายหลังการฉีดพ่นสารชักนำความต้านทานแล้ว 2 วัน จึงปลูกเชื้อรา *A. brassicicola* พบว่า การแสดงอาการโรคในผักตระกูลกะหล่ำที่ได้รับสารชักนำความต้านทาน CaB, BTH และ chitosan จะแสดงอาการโรคน้อยกว่าผักในชุดควบคุม ตามลำดับ โดยสามารถสังเกตการเปลี่ยนแปลงกิจกรรมเอนไซม์ ppo, pox และ pal เพิ่มขึ้นในพืชทดสอบในช่วง 3 - 5 วัน ภายหลังการได้รับสารชักนำความต้านทาน หลังจากนั้นกิจกรรมเอนไซม์จะลดลง ผลของสารชักนำความต้านทานต่อผักตระกูลกะหล่ำพบว่า CaB สามารถสนับสนุนการเจริญในพืชทดสอบทั้งสองระยะการเจริญ เมื่อทำการทดสอบประสิทธิภาพสารชักนำความต้านทานในสภาพกึ่งแปลงปลูก กับผักคะน้าและผักกวางตุ้งฮ่องเต้ โดยการฉีดพ่นสารชักนำความต้านทานจำนวน 3 ครั้ง ได้แก่ 15, 21 และ 28 วันหลังการย้ายปลูก และปลูกเชื้อ *A. brassicicola* เมื่อพืชได้รับสารชักนำความต้านทานครั้งที่ 2 หรือในวันที่ 23 หลังการย้ายปลูก ผลของการทดสอบพบว่า ผักคะน้าที่ได้รับสาร BTH แสดงอาการโรคน้อยกว่าผักคะน้าชุดควบคุมที่มีการปลูกเชื้อ และกิจกรรมเอนไซม์ ppo และ pox ในผักคะน้าเพิ่มขึ้นภายหลังได้รับสารชักนำ BTH ครั้งที่สองและสาม ในขณะที่การทดสอบสารชักนำความต้านทานในผักกวางตุ้งฮ่องเต้พบว่า พืชที่ได้รับสาร chitosan แสดงอาการโรคน้อยกว่าพืชที่ได้รับสารชักนำชนิดอื่น โดยกิจกรรมเอนไซม์ ppo, pox และ pal ในผักกวางตุ้งฮ่องเต้เพิ่มขึ้นภายหลังการได้รับสารชักนำความต้านทานครั้งที่ 1 และเพิ่มมากขึ้นภายหลังการได้รับสารชักนำครั้งที่สองและสาม ในการทดสอบระยะกึ่งแปลงปลูกนี้ไม่พบผลของสารชักนำความต้านทานจาก BTH และ chitosan ที่สนับสนุนการเจริญของผักคะน้าและผักกวางตุ้งฮ่องเต้

_____ _____ ___ / ___ / ___

ลายมือชื่อนิสิต ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Sudarat Siriprachayaphikoup 2013: Application of Plant Inducers Against Leaf Spot Disease Caused by *Alternaria sp.* in Crucifers. Master of Science (Plant Pathology), Major Field: Plant Pathology, Department of Plant Pathology. Thesis Advisor: Mr. Chainarong Rattanakreetakul, Dr.sc.agr. 132 pages.

Two fungal isolates as AL1 (*Alternaria* spp.) and AL2 (*Alternaria brassicicola*) were isolated from the symptom of alternaria leaf spot from chinese kale. Fungal pathogenicity was tested to the chinese kale seedlings. AL2 expressed the highest disease symptom after two days of 10^5 conidia/ml inoculated to the tested crucifer plants. Four plant resistant inducer substances as of calcium - boron (CaB) at 50: 5 ppm, benzo-(1,2,3)-thiadiazole-7-carbothioic acid S-methyl ester (BTH) at 200 ppm, chitosan at 1000 ppm and mixture of calcium – boron, silicic acid with salicylic acid (CaBSS) at 70: 5: 270 ppm were treated to the 7 and 25 day olds of chinese kale, pak choy variety Hongtae and pak choy variety Baiyok under greenhouse conditions. Plant inducers were spraied prior two days before inoculated *A. brassicicola* to the seedling. The result revealed that the treated crucifer with CaB, BTH and chitosan can reduced the symptom of leaf spot disease in compared with the control respectively. The data of the treated crucifers showed the enzyme activity of ppo, pox and pal were induced during 3-5 day after plant inducers spraying. Among the tested plant inducers, CaB treated to both plant stages were expressed higher growth. Under semi field condition, plant inducers were tested to the chinese kale and pak choy variety Hongtae. The plant inducers were spraied three times at 15, 21 and 28 day after transplant of the seedling and the *A. brssicicola* conidial suspension was spraied after the second plant inducer application or 23 day after transplant. The result referred that chinese kale treated with BTH was showed the reduction of disease symptom in compared with control. This response was related to the rising up of ppo and pox enzyme activities after the second and third BTH treated to chinese kale. Whereas in pak choy variety Hongtae, the application of chitosan was showed the reduction of disease symptom in compared with other plant inducers. Enzyme activities of ppo, pox and pal in pak choy variety Hongtae were slightly activated after the first application of plant inducers and were grown after the second and third of plant inducers application. Under this condition, the treated of plant inducers as BTH and chitosan to chinese kale and pak choy variety Hongtae have no effect on plant growth.

_____ _____ ___ / ___ / ___

Student's signature Thesis Advisor's signature

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

กิตติกรรมประกาศ

การทำวิจัยในครั้งนี้ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ ดร.ชัยณรงค์ รัตนกรีฑากุล อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก ที่ดูแลเอาใจใส่ให้คำปรึกษาในการแก้ไขปัญหา ตลอดจนตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์กระทั่งเสร็จสมบูรณ์ ขอขอบพระคุณ รศ. ศศิธร วุฒิวณิชย์ ประธารกรรมการสอบ และ ดร. บุญญวดี จิรวุฒิ ผู้ทรงคุณวุฒิภายนอก ที่กรุณาแนะนำแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณ คุณพ่อและคุณแม่ ที่ให้ความสำคัญและการสนับสนุนทางด้านการศึกษามาโดยตลอด ขอบคุณพี่ๆ เพื่อนๆ น้องๆ เจ้าหน้าที่ และบุคลากรของภาควิชาโรคพืช สำหรับกำลังใจและความช่วยเหลือจนกระทั่งทำวิทยานิพนธ์เล่มนี้สำเร็จ

คุณประโยชน์จากวิทยานิพนธ์เล่มนี้ ขอมอบแด่คณาจารย์ผู้มีพระคุณ คุณพ่อและคุณแม่ที่ได้อบรมสั่งสอน และให้กำลังใจตลอดมา

สุดารัตน์ สิริปรัชญาภิคุปต์

พฤษภาคม 2556

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญ

หน้า

สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(4)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	2
การตรวจเอกสาร	3
อุปกรณ์และวิธีการ	24
ผลและวิจารณ์	33
สรุป	117
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	120
ประวัติการศึกษาและการทำงาน	132

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	โรคแมลงและการป้องกันกำจัด	6
2	การเปรียบเทียบขนาดโครงสร้างของเชื้อรา *Alternaria* sp. สายพันธุ์ AL1 และสายพันธุ์ AL2 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์	40
3	การพัฒนาของแผลที่ถูกปลูกเชื้อด้วยสารแขวนลอยสปอร์เชื้อรา *Alternaria* sp. ที่ความเข้มข้น 10^4, 10^5, 10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 15 ไมโครลิตรบนต้นกล้าผักคะน้าที่ระยะเวลา 48, 72, 96 และ 120 ชั่วโมง	46
4	การพัฒนาของแผลที่ถูกปลูกเชื้อด้วยสารแขวนลอยสปอร์เชื้อรา *Alternaria* sp. ที่ความเข้มข้น 10^4, 10^5, 10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 15 ไมโครลิตรบนต้นกล้าผักกวางตุ้งฮ่องเต้ที่ระยะเวลา 48, 72, 96 และ 120 ชั่วโมง	48
5	การพัฒนาของแผลที่ถูกปลูกเชื้อด้วยสารแขวนลอยสปอร์เชื้อรา *Alternaria* sp. ที่ความเข้มข้น 10^4, 10^5, 10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 15 ไมโครลิตรบนต้นกล้าผักกวางตุ้งใบหยกที่ระยะเวลา 48, 72, 96 และ 120 ชั่วโมง	50
6	สรุปผลการทดลองการแยกเชื้อจากใบคะน้าและการจำแนกเชื้อรา	51
7	ผลการประเมินอาการโรค (1-6) ที่พบบนต้นกล้าอายุ 7 วัน ของผักคะน้า ผักกวางตุ้งฮ่องเต้และผักกวางตุ้งใบหยกที่ระยะเวลาต่างๆภายหลังการฉีดสารชักนำความต้านทานก่อนเป็นเวลา 2 วัน แล้วจึงปลูกเชื้อ *Alternaria brassicicola*	54
8	อัตราความสูงทรงพุ่มของต้นกล้าผักคะน้า ผักกวางตุ้งฮ่องเต้และผักกวางตุ้งใบหยกอายุ 7 วัน ที่ได้รับสารชักนำความต้านทาน	72
9	อัตราการเจริญเฉลี่ยต่อวันของต้นกล้าผักคะน้า ผักกวางตุ้งฮ่องเต้และผักกวางตุ้งใบหยกอายุ 7 วัน ที่ได้รับสารชักนำความต้านทาน	75
10	ผลการตอบสนองกิจกรรมทดสอบสารชักนำความต้านทานในผักตระกูลกะหล่ำอายุ 7 วัน	78
11	ผลการประเมินอาการโรคที่พบบนผักคะน้า ผักกวางตุ้งฮ่องเต้และผักกวางตุ้งใบหยกที่ระยะเวลาต่างๆภายหลังการฉีดสารชักนำความต้านทานก่อนเป็นเวลา 2 วัน แล้วจึงปลูกเชื้อ *Alternaria brassicicola*	82

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ **หน้า**

12 ความสูงทรงพุ่มของต้นกล้าผักคะน้า ผักกวางตุ้งฮ่องเต้และผักกวางตุ้งใบหยก อายุ 25 วัน ที่ได้รับสารชักนำความต้านทาน 96

13 อัตราการเจริญเฉลี่ยต่อวันของต้นกล้าผักคะน้า ผักกวางตุ้งฮ่องเต้และผักกวางตุ้งใบหยกอายุ 25 วัน ที่ได้รับสารชักนำความต้านทาน 99

14 ผลการตอบสนองกิจกรรมทดสอบสารชักนำความต้านทานในผักตระกูลกะหล่ำ อายุ 25 วัน 101

15 ค่าเฉลี่ยของการพัฒนาอาการโรค (1-13) ของต้นกล้าผักคะน้าและผักกวางตุ้งฮ่องเต้ระยะกึ่งแปลงปลูก 103

16 ความสูงทรงพุ่มของต้นผักคะน้าและผักกวางตุ้งฮ่องเต้ระยะกึ่งแปลงผลิต 114

17 อัตราการเจริญเฉลี่ยต่อวันของต้นกล้าผักคะน้าและผักกวางตุ้งฮ่องเต้ที่ได้รับสารชักนำความต้านทาน 115

18 การตอบสนองของกิจกรรมทดสอบสารชักนำความต้านทานในผักตระกูลกะหล่ำระยะกึ่งแปลงปลูก 116

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญภาพ

ภาพที่ **หน้า**

1	ลักษณะการเจริญของเชื้อรา *Alternaria* sp. ที่ใช้ทดสอบ	34
2	พิสูจน์ลักษณะอาการโรคของเชื้อรา *Alternaria* sp. 2 สายพันธุ์ บนต้นกล้าผักคะน้าอายุ 7 วัน	35
3	เปรียบเทียบการเจริญของเชื้อรา *Alternaria* sp. สายพันธุ์ AL1 และสายพันธุ์ AL2 บนอาหาร PDA ระหว่าง 1-11 วัน	38
4	ปรียบเทียบลักษณะโคนิเดียของเชื้อรา *Alternaria* sp. สายพันธุ์ AL1 และ AL2	39
5	แสดงการพัฒนาอาการโรคของต้นกล้าผักคะน้าอายุ 10 วัน	45
6	แสดงการพัฒนาอาการโรคของต้นกล้าผักกวางตุ้งฮ่องเต้อายุ 10 วัน	47
7	แสดงการพัฒนาอาการโรคของต้นกล้าผักกวางตุ้งใบหยกอายุ 10 วัน	49
8	แสดงการพัฒนาอาการโรคของต้นกล้าคะน้าอายุ 7 วันที่ทำการฉีดสารชักนำความต้านทาน	56
9	แสดงการพัฒนาอาการโรคของต้นกล้าผักกวางตุ้งฮ่องเต้อายุ 7 วันที่ทำการฉีดสารชักนำความต้านทาน	57
10	แสดงการพัฒนาอาการโรคของต้นกล้าผักกวางตุ้งใบหยกอายุ 7 วันที่ทำการฉีดสารชักนำความต้านทาน	58
11	เนื้อเยื่อใบของต้นกล้าผักคะน้าอายุ 7 วันที่ได้รับสารชักนำความต้านทานแล้ว 5 วัน ปลูกเชื้อ *Alternaria brassicicola* แล้ว 3 วัน เนื้อเยื่อใบที่ย้อมด้วยสี acid fuchsin ใน Lactophenol	61
12	เนื้อเยื่อใบของต้นกล้าผักกวางตุ้งฮ่องเต้อายุ 7 วันที่ได้รับสารชักนำความต้านทานแล้ว 5 วัน ปลูกเชื้อ *Alternaria brassicicola* แล้ว 3 วัน เนื้อเยื่อใบที่ย้อมด้วยสี acid fuchsin ใน Lactophenol	62
13	เนื้อเยื่อใบของต้นกล้าผักกวางตุ้งใบหยกอายุ 7 วันที่ได้รับสารชักนำความต้านทานแล้ว 5 วัน ปลูกเชื้อ *Alternaria brassicicola* แล้ว 3 วัน เนื้อเยื่อใบที่ย้อมด้วยสี acid fuchsin ใน Lactophenol	63

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่ **หน้า**

14 การเปลี่ยนแปลงของกิจกรรมเอนไซม์ ppo (abs/µg protein) ระหว่างพืชที่ได้รับสารชักนำความต้านทานและปลูกเชื้อด้วยเชื้อ *Alternaria brassicicola* เปรียบเทียบกับพืชที่ได้รับสารชักนำความต้านทาน 65

15 การเปลี่ยนแปลงของกิจกรรมเอนไซม์ pox (abs/µg protein) ระหว่างพืชที่ได้รับสารชักนำความต้านทานและปลูกเชื้อด้วยเชื้อ *Alternaria brassicicola* เปรียบเทียบกับพืชที่ได้รับสารชักนำความต้านทาน 67

16 การเปลี่ยนแปลงของกิจกรรมเอนไซม์ pal (abs/µg protein) ระหว่างพืชที่ได้รับสารชักนำความต้านทานและปลูกเชื้อด้วยเชื้อ *Alternaria brassicicola* เปรียบเทียบกับพืชที่ได้รับสารชักนำความต้านทาน 69

17 เนื้อเยื่อใบของต้นกล้าผักคะน้าอายุ 25 วันที่ได้รับสารชักนำความต้านทานแล้ว 5 วัน ปลูกเชื้อ *Alternaria brassicicola* แล้ว 3 วัน เนื้อเยื่อใบที่ย้อมด้วยสี acid fuchsin ใน Lactophenol 85

18 เนื้อเยื่อใบของต้นกล้ากวางตุ้งฮ่องเต้อายุ 25 วันที่ได้รับสารชักนำความต้านทานแล้ว 5 วัน ปลูกเชื้อ *Alternaria brassicicola* แล้ว 3 วัน เนื้อเยื่อใบที่ย้อมด้วยสี acid fuchsin ใน Lactophenol 86

19 เนื้อเยื่อใบของต้นกล้ากวางตุ้งใบหยกอายุ 25 วันที่ได้รับสารชักนำความต้านทานแล้ว 5 วัน ปลูกเชื้อ *Alternaria brassicicola* แล้ว 3 วัน เนื้อเยื่อใบที่ย้อมด้วยสี acid fuchsin ใน Lactopheno 87

20 การเปลี่ยนแปลงของกิจกรรมเอนไซม์ ppo (abs/µg protein) ระหว่างพืชที่ได้รับสารชักนำความต้านทานและปลูกเชื้อด้วยเชื้อ *Alternaria brassicicola* เปรียบเทียบกับพืชที่ได้รับสารชักนำความต้านทา 89

21 การเปลี่ยนแปลงของกิจกรรมเอนไซม์ pox (abs/µg protein) ระหว่างพืชที่ได้รับสารชักนำความต้านทานและปลูกเชื้อด้วยเชื้อ *Alternaria brassicicola* เปรียบเทียบกับพืชที่ได้รับสารชักนำความต้านทาน 91

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่ **หน้า**

22 การเปลี่ยนแปลงของกิจกรรมเอนไซม์ pal (abs/µg protein) ระหว่างพืชที่ได้รับสารชักนำความต้านทานและปลูกเชื้อด้วยเชื้อ *Alternaria brassicicola* เปรียบเทียบกับพืชที่ได้รับสารชักนำความต้านทาน 93

23 ค่ากิจกรรมเอนไซม์ ppo (abs/µg protein) ในต้นกล้าผักคะน้าและผักกวางตุ้งฮ่องเต้ที่ได้รับสารชักนำความต้านทานและปลูกเชื้อ *Alternaria brassicicola* 105

24 ความแตกต่างของกิจกรรมเอนไซม์ ppo (abs/µg protein) ระหว่างชุดที่ได้รับสารชักนำและชุดที่ไม่ได้รับสารชักนำความต้านทานแล้วปลูกเชื้อเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่ได้รับสารชักนำความต้านทาน 106

25 ค่ากิจกรรมเอนไซม์ pox (abs/µg protein) ในต้นกล้าผักคะน้าและผักกวางตุ้งฮ่องเต้ที่ได้รับสารชักนำความต้านทานและปลูกเชื้อ *Alternaria brassicicola* 108

26 ความแตกต่างของกิจกรรมเอนไซม์ pox (abs/µg protein) ระหว่างชุดที่ได้รับสารชักนำและชุดที่ไม่ได้รับสารชักนำความต้านทานแล้วปลูกเชื้อเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่ได้รับสารชักนำความต้านทาน 109

27 ค่ากิจกรรมเอนไซม์ pal (abs/µg protein) ในต้นกล้าผักคะน้าและผักกวางตุ้งฮ่องเต้ที่ได้รับสารชักนำความต้านทานและปลูกเชื้อ *Alternaria brassicicola* 111

28 ความแตกต่างของกิจกรรมเอนไซม์ pal (abs/µg protein) ระหว่างชุดที่ได้รับสารชักนำและชุดที่ไม่ได้รับสารชักนำความต้านทานแล้วปลูกเชื้อเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่ได้รับสารชักนำความต้านทาน 112

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การใช้สารเพื่อชักนำความต้านทานต่อโรคใบจุดของเชื้อรา *Alternaria* sp.ในผักตระกูลกะหล่ำ

Application of Plant Inducers Against Leaf Spot Disease Caused by *Alternaria sp.* in Crucifers

คำนำ

ผักตระกูลกะหล่ำ (Cruciferae) เป็นผักที่นิยมบริโภคทั้งภายในประเทศและต่างประเทศ เนื่องจากสามารถบริโภคได้ทั้งต้นและสามารถปลูกได้ตลอดทั้งปี ผักชนิดนี้จะพบโรคและแมลงเป็นจำนวนมาก โดยเฉพาะโรคใบจุด (leaf spot) สาเหตุจากเชื้อรา *Alternaria brassicicola* ที่ก่อให้เกิดความเสียหายทั้งเชิงคุณภาพและปริมาณ เชื้อราเข้าทำลายผักได้ทุกระยะการเจริญเติบโต ทำให้เกิดอาการแผลจุดบริเวณใบ ก้าน ลำต้น ลักษณะเป็นแผลกลมสีดำหรือสีน้ำตาลเรียงซ้อนกันเป็นชั้นๆ เมื่อเกิดรุนแรงมากอาจทำให้เกิดอาการใบไหม้ได้ การแพร่ระบาดเกิดขึ้นได้อย่างรวดเร็ว โดยมีปัจจัยจาก ฝน ลม แมลงพาหะ มนุษย์ เครื่องมือทางการเกษตร และการติดมากับเมล็ดพันธุ์

ปัจจุบันการควบคุมโรคที่นิยมคือการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราซึ่งการใช้สารเคมีเป็นจำนวนมากและติดต่ออย่างยาวนานจะมีผลต่อสุขภาพของเกษตรกร ผู้บริโภค สัตว์และสิ่งแวดล้อม ซึ่งเมื่อมีการใช้สารเคมีเป็นจำนวนมากจะทำให้เกิดการสะสมและการตกค้างในผลผลิต ทำให้เกิดปัญหาในการส่งออกเนื่องจากปริมาณสารเคมีตกค้างเกินมาตรฐานตามที่ทางประเทศคู่ค้าเป็นผู้กำหนด หรือการกระตุ้นให้พืชเกิดความต้านทานโรคจากสิ่งมีชีวิตและสิ่งไม่มีชีวิตซึ่งระบบความต้านทานในพืชจะมีการตอบสนองเป็นลักษณะ SAR (systemic acquired resistance) หรือ LAR (localized acquired resistance) (Costet *et al.*, 1999) เช่น การเกิดปฏิกิริยา hypersensitivity (HR) การสร้างสารพิษ phytoalexin (Van Wess *et al.*, 1999)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วัตถุประสงค์

ศึกษาผลของการใช้สารเคมีกระตุ้นให้พืชเกิดความต้านทานต่อโรคใบจุดสาเหตุเชื้อรา *Alternaria* sp.ในพืชตระกูลกะหล่ำ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การตรวจเอกสาร

1. สารเคมีและปัญหาในการผลิตพืช

การทำการเกษตรของประเทศไทยในอดีตเป็นการทำการเกษตรเพื่อการบริโภคในครัวเรือนเป็นส่วนใหญ่ การใช้เครื่องมือหรือเครื่องจักรกลทางการเกษตรยังไม่มีการพัฒนา รวมถึงการใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืชเนื่องจากเกษตรกรไม่นิยมปลูกพืชชนิดเดียวเป็นพื้นที่กว้างหรือปลูกพืชชนิดเดิมซ้ำที่ มีผลทำให้การระบาดของศัตรูพืชมีน้อยและความสมดุลทางธรรมชาติยังคงอยู่ ซึ่งแตกต่างจากการทำการเกษตรในปัจจุบันที่เน้นการเกษตรเพื่อการจำหน่าย เกษตรกรจึงเน้นการผลิตเพื่อให้ได้ผลผลิตต่อไร่มากที่สุด โดยพืชที่ปลูกมักจะมีราคาดี เป็นที่ต้องการของตลาด การปลูกจะใช้พื้นที่ขนาดใหญ่และนิยมปลูกพืชเพียงชนิดเดียวซ้ำในพื้นที่เดิม ทำให้เกิดการระบาดของศัตรูพืช เกษตรกรจึงหันมาพึ่งการใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืชเพื่อลดความเสียหายของผลผลิตจากการถูกศัตรูพืชเข้าทำลาย (กมล, 2546) มีการใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืชในปริมาณมากมากและใช้ติดต่อกันเป็นเวลานานทำให้เกิดผลกระทบในการสูญเสียความสมดุลทางธรรมชาติ สารเคมีตกค้างในสิ่งแวดล้อมเป็นอันตรายต่อเกษตรกรและผู้บริโภค เป็นต้น ในปัจจุบันได้มีการศึกษาการควบคุมและกำจัดศัตรูพืชเพื่อหลีกเลี่ยงหรือลดการใช้สารเคมีเช่น การใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ การใช้สารสกัดจากพืช การใช้ตัวห้ำ ตัวเบียน เป็นต้น (เนื่องพณิชและสาทร, 2548; นิพนธ์, 2550)

การใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืช เกษตรกรต้องมีความรู้เกี่ยวกับโรคและแมลงที่เป็นศัตรูพืชที่สำคัญของพืชที่ผลิต เพื่อที่จะใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืชได้ถูกกลุ่ม ควรศึกษาวิธีการใช้ให้ละเอียดซึ่งสารเคมีกำจัดศัตรูพืชจะมีคุณสมบัติในการป้องกัน ขับไล่ หรือทำให้ปริมาณศัตรูพืชลดลงแต่ไม่ได้มีคุณสมบัติในการรักษาพืชที่ถูกศัตรูพืชเข้าทำลาย สารออกฤทธิ์ที่ผสมในสารเคมีกำจัดเชื้อราสาเหตุโรคพืช มีกระบวนการทำงานเป็นหลักได้แก่การขัดขวางขบวนการหายใจ การยับยั้งขบวนการแบ่งเซลล์ การยับยั้งขบวนการสังเคราะห์ผนังเซลล์ การรบกวนขบวนการสังเคราะห์โปรตีน การรบกวนขบวนการสังเคราะห์ sterol รวมไปถึงฤทธิ์ในทางการยับยั้งการงอกของสปอร์บริเวณที่มีเชื้อรา การใช้สารเคมีกำจัดเชื้อราให้มีประสิทธิภาพควรใช้สารเคมีประเภทดูดซึมสลับกับประเภทไม่ดูดซึมเพื่อป้องกันเชื้อราดื้อยาและไม่ควรใช้สารเคมีเกินความจำเป็น (ธรรมศักดิ์, 2532) การดื้อยาของสารกำจัดเชื้อราโรคพืชได้จัดแบ่งกลุ่มตาม Fungicide Resistance Action Committee (2010) โดยใช้การจัดกลุ่มของสารเคมีกำจัดเชื้อราตามกลไกการออกฤทธิ์ของสารเคมีกำจัดเชื้อราต่อระบบต่างๆของ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เชื้อราสาเหตุโรคพืช เช่น การใช้สารเคมีกลุ่ม benzimidazoles ซึ่งมีสารเคมี benomyl, carbendazim, fuberidazole, thiabendazole จะไปยับยั้งการแบ่งตัวแบบ mitosis และการแบ่งเซลล์ Chiocchio *et al*. (2000) พบว่าสารกำจัดเชื้อรา benomyl สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์และการยืดยาวของเส้นใยของ arbuscular mycorrhiza ของเชื้อรา *Glomus mosseae* เมื่อใช้ความเข้มข้น 21.25, 10.62 และ 10 µg/ ml Maymon *et al*. (2006) พบว่าเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* จำนวน 64 สายพันธุ์ ที่เข้าทำลายพืช *Limonium* sp. จากพื้นที่ทำการเพาะปลูกแตกต่างกัน 12 แหล่ง ในประเทศอิสราเอล โดยพบว่าทุกสายพันธุ์เป็นเชื้อรา *C. gloeosporioider* จากการใช้ species-specific primer ช่วยในการจำแนก พบว่า 46 สายพันธุ์มีความต้านทานต่อสารกำจัดเชื้อรา benomyl ที่ความเข้มข้น 10 µg/ ml และ 18 สายพันธุ์มีความอ่อนแอต่อความเข้มข้นของยากำจัดเชื้อรา ที่ระดับความเข้มข้นนี้ นอกจากนี้ยังมีเชื้อรา *Drechmeria coniospra* สายพันธุ์ที่ 1 และสายพันธุ์ที่ 2 และเชื้อรา *Chaetomium* sp. มีความทนทานต่อสารกำจัดเชื้อรา benomyl ที่ความเข้มข้น 0.1 µg benomyl/ ml medium เชื้อรา *Fusarium* sp. สามารถทนความเข้มข้นต่อสารกำจัดเชื้อรา benomyl ได้ 475 µg/ ml และมีเส้นใยเชื้อราบางชนิดที่สามารถทนความเข้มข้นได้ถึง 1,000 µg/ ml (Meyer, 1991)

2. ปัญหาในการผลิตผักคะน้าและผักกาดกวางตุ้ง

ผักคะน้ามีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Brassica alboglabra* อยู่ในตระกูล Brassicaceae มีชื่อสามัญทั่วไปคือ Chinese kale ผักคะน้าเป็นผักพื้นเมืองของจีนและได้มีการแพร่กระจายไปสู่ทางตอนใต้ของจีนและเอเชียตะวันออกเฉียงใต้รวมทั้งญี่ปุ่น ยุโรป อเมริกา ผักคะน้าสามารถรับประทานได้ทั้งต้นเนื่องจากมีโครงสร้างที่อ่อนนุ่มและเป็นแหล่งรวมสารอาหารที่มีคุณค่าต่อร่างกายเป็นจำนวนมาก (Sun *et al*, 2010)

ผักกวางตุ้งอยู่ในวงศ์ Cruciferae หรือ mustard มีชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Brassica chinensis* มีชื่อสามัญที่เรียกหลายอย่างเช่น chinese cabbage, pak-choi, chinese-mustard เป็นต้น กวางตุ้งเป็นพืชล้มลุกลักษณะเป็นไม้เนื้ออ่อน เป็นพืชฤดูเดียว มีระบบรากแก้วที่ตื้นและมีรากแขนงมาก ลักษณะของลำต้นตั้งตรง ใบเรียงไม่ห่อตัว ออกดอกเมื่ออายุ 55 - 75 วัน เมล็ดมีสีน้ำตาลแดงหรือน้ำตาลเข้ม embryo มีขนาดใหญ่ endosperm มีน้อยหรือไม่มี (วัชรี, 2518) เมล็ดสามารถเก็บเกี่ยวได้จากผักที่เริ่มเปลี่ยนสีเป็นสีฟางข้าวแล้วประมาณ 60% ของฝัก โดยช่วงอายุจะประมาณ 80-110 วัน เมล็ดภายในฝักจะมีสีน้ำตาลดำ (จานุลักษณ์, 2541)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ผักตระกูลกะหล่ำจะมีปัญหาจากโรคและแมลงในการผลิต (ตารางที่ 1) และจะพบเสมอว่าเกษตรกรมีการล้มแปลงผลิตอยู่บ่อยๆ เนื่องจากวิธีการผลิตจะเป็นการหว่านเมล็ดทำให้ต้นกล้าเจริญรวมกันอย่างหนาแน่นและมีโอกาสจะถูกโรคและแมลงทำลายได้ง่าย

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 1 โรค แมลงและการป้องกันกำจัด

ศัตรูพืช	เชื้อ / แมลงสาเหตุ	ลักษณะอาการ / การทำลาย	การป้องกันกำจัด
โรค			
โรคเน่าคอดิน	*Pythium sp.* *Phytophthora sp.*	เกิดรอยช้ำสีน้ำตาลรอบโคนต้น ต้นกล้าหักพับลงขณะที่ยอดยังเขียวแล้วเฉาตาย	1. ไม่หว่านเมล็ดแน่นเกิน 2. ไม่ทำให้แปลงแฉะจนเกินไป 3. การใช้สารเคมี หรือการคลุกเมล็ดด้วยสารกำจัดเชื้อรา เช่น mancozeb, azoxystrobin 4. การใช้จุลินทรีย์กำจัดเชื้อรา เช่น *Bacillus* sp. หรือ *Trichoderma* sp. 5. การปลูกพืชหมุนเวียน การกำจัดเศษซากพืชที่เป็นโรค
โรคใบจุด	*Alternaria brassicea* *Alternaria brassicicola*	บนใบเป็นแผลกลม ขนาดค่อนข้างใหญ่ เกิดรอยแผลเป็นวงเรียงกันเป็นชั้นๆสีน้ำตาลเข้มหรือดำ เนื้อเยื่อรอบๆแผลเป็นสีเหลืองเมื่อเชื่อมกันมากอาจทำให้เกิดใบไหม้	1. ใช้สารเคมีกำจัดเชื้อรา เช่น mancozeb, azoxystrobin 2. ปลูกพืชหมุนเวียน และกำจัดเศษซากพืชที่เป็นโรค

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 1 (ต่อ)

ศัตรูพืช	เชื้อ / แมลงสาเหตุ	ลักษณะอาการ / การทำลาย	การป้องกันกำจัด
โรคราน้ำค้าง	*Peronospora parasitica*	เป็นโรคใบไหม้ชนิดหนึ่ง ในระยะแรกจะพบจุดสีเหลืองเขียวช้ำฉ่ำน้ำด้านบนผิวใบ แล้วจุดจะขยายใหญ่ขึ้น เมื่อพลิกดูใต้ใบจะมีขุยสีขาวหรือสีเทาขึ้นปกคลุมรอยแผล โดยเฉพาะในตอนเช้าที่มีอากาศชื้นจะพบได้ชัด จะทำให้เกิดใบไม้แห้งตายเป็นสีน้ำตาล	1. คลุกเมล็ดก่อนปลูกด้วย metalaxyl, dimethomorph 2. กำจัดเศษซากพืชที่เป็นโรค 3. ฉีดพ่นด้วยสารเคมี metalaxyl, mancozeb, dimethomorph
หนอนและแมลง			
หนอนกระทู้ผัก	*Spodoptera litura*	ตัวหนอนสามารถทำลายผักด้วยการกัดกินตั้งแต่ ใบ ก้าน ดอก หัว ซึ่งกลุ่มหนอนที่ฟักออกจากไข่ใหม่ๆแทะกินผิวใบจนเหลือเนื้อเยื่อผิวใบบางๆ เมื่อการกัดกินรุนแรงมากขึ้นทำให้ใบผักเป็นรูพรุน	1. การเก็บกลุ่มไข่และตัวหนอนทำลายเมื่อพบการระบาดยังไม่มาก 2. การใช้ จุลินทรีย์ เช่น ไวรัส NPV (Nuclear Polyhedrosis Virus) เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis* 3. การใช้สารฆ่าแมลง หรือ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 1 (ต่อ)

ศัตรูพืช	เชื้อ / แมลงสาเหตุ	ลักษณะอาการ / การทำลาย	การป้องกันกำจัด
		หนอนชนิดนี้สร้างความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงได้ระดับต่ำ	สารไล่แมลง เช่น สารสกัดสะเดา, lambdacyhalothrin, triazophos 4. การใช้ตัวห้ำตัวเบียน เช่น แตนเบียนไข่ แตนเบียนหนอน ตัวห้ำไข่ ตัวห้ำหนอน
หนอนคืบกะหล่ำ	*Trichoplusia ni*	ระยะตัวหนอนทำลายใบโดยจะกัดกินเนื้อใบจนเหลือแต่ก้านใบ	1. การเก็บกลุ่มไข่และตัวหนอนทำลายเมื่อพบการระบาดยังไม่มาก 2. การใช้แตนเบียนไข่ *Trichogramma confusum* 3. การใช้กับดักกาวเหนียวสีเหลือง 4. การใช้สารฆ่าแมลง เช่น ไดอะเฟรนไทยูรอน คลอฟีนาเพอร์ ฟิโปรนิล เป็นต้น
หนอนใยผัก	*Plutella xylostella*	ระยะตัวหนอนกัดกินเนื้อใบ ทำให้เห็นเนื้อเยื่อใบบางๆเกิดความเสียหาย หนอนชนิดนี้จะพัฒนาตนเองให้ต้านทานต่อสาร	1. การใช้แตนเบียนไข่ *Trichogramma confusum* 2. การปลูกผักในตาข่ายกันแมลง 3. การใช้ยาฆ่าแมลง เช่น

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 1 (ต่อ)

ศัตรูพืช	เชื้อ / แมลงสาเหตุ	ลักษณะอาการ / การทำลาย	การป้องกันกำจัด
		ฆ่าแมลงได้อย่างรวดเร็ว	abamectin 4. การใช้กับดักกาวเหนียวสีเหลือง
ด้วงหมัดผัก	*Phyllotreta sinuata*, *Phyllotreta chontanica* *Phyllotreta flexuosa*	ตัวอ่อนไชเข้ากัดกินบริเวณโคนและราก ทำให้ผักเหี่ยวเฉา เมื่อดึงขึ้นมาพบว่ารากกุดเป็นสีน้ำตาล มีตัวหนอนขนาดเล็กสีขาวเกาะอยู่ที่ราก ส่วนตัวเต็มวัยกัดกินผิวใบด้านใต้ ทำให้ใบมีรูพรุนหรือกัดกินบริเวณลำต้น	1. การไถและตากดินเพื่อทำลายตัวอ่อนหรือดักแด้ที่อยู่ในดิน 2. การปลูกพืชหมุนเวียนหรือพืชที่ไม่ใช่แหล่งอาหาร 3. การใช้สารเคมีกำจัดแมลงในกลุ่ม Carbamate 4. การใช้ไส้เดือนฝอย (*Steinernema carpocapsae*) ในการควบคุม

ที่มา: พิสุทธิ์ (2550), บทปฏิบัติการโรคพืชเบื้องต้น (2551) และวิวัฒน์ (2539)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2.1 ลักษณะเชื้อรา *Alternaria* sp.

เชื้อรา *Alternaria* sp. เป็นเชื้อราสาเหตุโรคพืชที่ก่อความเสียหายให้กับพืชหลายชนิด เช่น ผักตระกูลกะหล่ำ มะเขือเทศ กุหลาบ แครอท เป็นต้น ซึ่งทำให้ผลผลิตเสียหายเป็นจำนวนมาก เชื้อราชนิดนี้สามารถจำแนกทางอนุกรมวิธานตามวิธีของ Barnett and Hunter (1972) ได้ดังนี้

Kingdom Fungi

Phylum Ascomycota

Subdivision Pezizomycotina

Class Dothideomycetes

Order Pleosporales

Genus *Alternaria*

เชื้อรา *Alternaria* sp. มีหลายสายพันธุ์ซึ่งปัจจุบันพบประมาณ 40 - 50 สายพันธุ์ ส่วนที่พบเป็นโรคบนพืชตระกูลกะหล่ำได้แก่ *A. brassicae*, *A. brassicicola* และ *A. raphani* ลักษณะโคโลนีบนอาหาร จะเป็นสีดำเหลือบเขียวมะกอกจนถึงสีน้ำตาล โตและสร้างโคนิเดีย (conidia) ได้ดีที่อุณหภูมิ 22 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิสูงที่สุดที่เชื้อยังสามารถโตได้คือ 35 องศาเซลเซียส เชื้อราชนิดนี้สามารถพบได้ในดิน บนซากพืชที่ตายแล้ว อาหารเสื้อผ้า และพืชที่อ่อนแอต่อเชื้อสาเหตุโรคพืชชนิดนี้ ลักษณะของโคนิเดีย (conidia) มีรูปร่างคล้ายกระบอง (obclavate) สีน้ำตาล มี beak ซึ่งเป็นเซลล์ส่วนปลายของโคนิเดีย อาจมีลักษณะอ้วนสั้นหรือยาวมากคล้ายเส้นด้าย มีผนังกั้นเซลล์ทั้งตามยาวหรือเอียง (longitudinal septa) และตามขวาง (transverse septa) โคนิเดียอาจเกิดเดี่ยวๆ หรือต่อเป็นลูกโซ่บนก้านชูโคนิเดีย (conidiophores) สีน้ำตาลไม่แตกแขนง (บทปฏิบัติการโรคพืชเบื้องต้น, 2551)

2.2 ลักษณะอาการของโรคที่เกิดจากเชื้อรา *Alternaria* sp. ในพืชตระกูลกะหล่ำ สภาพที่เหมาะสมของการแพร่ระบาดและการป้องกันกำจัด

เชื้อรา *Alternaria* sp. จะเข้าทำลายทุกส่วนในทุกระยะการเจริญเติบโตของพืช โดยพบจุดแผลเล็กๆสีน้ำตาลที่โคนต้นและบนใบ ในพืชต้นโตอาการบนใบจะมีแผลวงกลมสีน้ำตาลจะพบจุดเล็กๆสีน้ำตาลเข้มหรือสีดำซ้อนกันหลายชั้น เนื้อเยื่อรอบๆ แผลเปลี่ยนเป็นสีเหลือง ลักษณะแผลค่อนข้างกลม มีขนาด 0.5 - 2.0 เซนติเมตร โรคนี้จะเกิดและเห็นได้ชัดที่ใบล่างหรือใบแก่ก่อนแล้ว

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ลามสู่ใบยอด เชื้อสามารถเข้าทำลายที่ก้านดอกและฝักเกิดเป็นแผลสีน้ำตาลเข้มหรือดำ จะทำให้ช่อดอกแห้งทั้งช่อ ฝักแห้งและไม่มีการสร้างเมล็ด แต่ถ้าเกิดโรคกับฝักที่ติดเมล็ดแล้ว ทำให้เมล็ดเน่าเสีย ไม่สามารถงอกได้ หรือเชื้ออาศัยอยู่ต่อไปทำให้เกิดเป็น seed borne ระบาดไปยังแหล่งผลิตหรือต้นใหม่ (ศศิธร, 2549) โดยโรคนี้จะทำให้ใบเป็นแผลเนื้อที่บนผิวใบถูกทำลายใบเหลืองเน่าต้นพืชจึงไม่สามารถสังเคราะห์แสงเพื่อสร้างอาหารและนำไปใช้ประโยชน์ได้อย่างเต็มที่ (Kucharek, 1994)

โคนิเดียจะงอกเมื่อมีความชื้นสัมพัทธ์ของอากาศสูง อุณหภูมิค่อนข้างสูงประมาณ 27 - 35 องศาเซลเซียส ติดต่อนาน 9 - 10 ชั่วโมง โคนิเดียของเชื้อสาเหตุสามารถติดหรือปลิวไปได้ไกลๆ โดยไปตามน้ำ ลม แมลง สัตว์ เครื่องมือการเกษตร มนุษย์ และสามารถติดไปกับเมล็ดพันธุ์หรืออาศัยอยู่กับเศษซากพืชหรือวัชพืชในแปลง เมื่อพบสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมจะงอก germ tube แทงเข้าสู่พืชได้โดยตรง (ศศิธร, 2549)

Dillard *et al.* (1998) ได้ศึกษาการถ่ายทอดเชื้อรา *A. brassicicola* สู่ผักตระกูลกะหล่ำโดยด้วงหมัดผัก (*Phyllotreta cruciferae*) โดยจับด้วงหมัดผักที่อาศัยอยู่ในแปลงผักตระกูลกะหล่ำที่ถูกเชื้อรา *A. brassicicola* เข้าทำลาย แล้วปล่อยด้วงหมัดผักสู่โรงเรือนผักตระกูลกะหล่ำที่ปราศจากโรค พบการพัฒนาของอาการโรคใบจุดหลังจากปล่อยด้วงหมัดผักแล้ว 6 วัน พบโคนิเดียของเชื้อราอยู่ในสิ่งปฏิกูลและในส่วนของระบบย่อยอาหารของด้วงหมัดผัก โคนิเดียส่วนใหญ่ที่พบไม่เกิดความเสียหายแต่พบว่ามีโคนิเดียเพียงเล็กน้อยที่หัก บางโคนิเดียสามารถงอกได้บนกระจกสไลด์ที่เกิดจากการบ่มสิ่งปฏิกูลด้วยความชื้นในกล่องพลาสติก นอกจากนี้โคนิเดียของเชื้อรา *A. brassicicola* สามารถพบได้ตามร่างกายของด้วงหมัดผัก เช่น ปีก บริเวณปาก หนวดและขา โดยพบว่าโคนิเดียติดสะสมตามช่องว่างของโครงสร้างภายนอกของด้วงหมัดผักซึ่งเป็นพื้นฐานของการแพร่กระจายของเชื้อราโดยด้วงหมัดผัก การป้องกันโรคนี้สามารถทำได้โดย

1. การใช้วิธีเขตกรรม การปลูกพืชหมุนเวียน ทำลายต้นเป็นโรคโดยการขุดถอนไปเผาทิ้ง การกำจัดเศษซากพืชที่เป็นโรค การจัดการระบายน้ำให้ดี การใส่ปุ๋ยไนโตรเจนพอประมาณและการเพิ่มความอุดมสมบูรณ์ของดินด้วยการใส่ปุ๋ยคอกปุ๋ยหมัก

2. เมล็ดพันธุ์ที่นำมาปลูกควรเพิ่มความแข็งแรงโดยการแช่น้ำร้อนซึ่งจะช่วยลดปริมาณของเชื้อสาเหตุโรคหรือการแช่เมล็ดในน้ำร้อนแล้วนำเมล็ดมาคลุกด้วยยาฆ่าเชื้อราก่อนปลูก

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เพื่อช่วยลดโรคที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์และโรคที่เกิดจากเชื้อรา *Alternaria* sp. และเชื้อราชนิดอื่น (Kucharek, 1994)

3. ในระหว่างการผลิตเมล็ดพันธุ์หากพบโรคควรใช้สารเคมี แบบสัมผัส mancozeb แบบดูดซึม azoxystrobin, carbendazim สลับกัน (บทปฏิบัติการโรคพืชเบื้องต้น, 2551)

2.3 ปัญหาของการส่งออกผักคะน้าและผักกวางตุ้งของประเทศไทยและโรค

ผักคะน้าและผักกวางตุ้งจัดเป็นผักที่มีความต้องการภายในประเทศสูงมาก นอกจากนี้ยังมีการส่งออกสู่ต่างประเทศ เช่น ญี่ปุ่น เกาหลี สิงคโปร์ ซึ่งความต้องการผักกวางตุ้งและผักคะน้าของสิงคโปร์ในปัจจุบันนั้นมีสูงเนื่องจากแหล่งผลิตมีไม่เพียงพอต่อความต้องการของประชากรภายในประเทศ ด้วยเหตุนี้ประชากรของสิงคโปร์มีความวิตกต่อการปนเปื้อนของสารพิษที่ตกค้างในผักที่มีการนำเข้ามาจากประเทศไทยและประเทศอื่นๆ ดังนั้นผู้บริโภคสิงคโปร์จึงต้องการผักที่เป็นผักอินทรีย์ ซึ่งในประเทศไทยแหล่งที่มีการผลิตผักอินทรีย์ยังมีไม่มากเช่น จังหวัดลพบุรี จังหวัดเพชรบูรณ์ เป็นต้น (สำนักงานส่งเสริมการค้าระหว่างประเทศ, 2554) ปัญหาการส่งออกผักตระกูลกะหล่ำของประเทศไทยพบว่าในปี พ.ศ. 2551 ประเทศญี่ปุ่นได้ยกเลิกการนำเข้าผักคะน้าเนื่องจากพบปริมาณสารเคมีตกค้างเกินมาตรฐานที่ทางประเทศญี่ปุ่นกำหนด เช่น chromafenozide ซึ่งเป็นสารเคมีกำจัดแมลง ห้ามตรวจพบในคะน้าเกิน 5 ppm, tebuconazole เป็นสารเคมีกำจัดเชื้อรา ห้ามตรวจพบในคะน้าเกิน 0.5 ppm (สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ, 2551) ซึ่งในปัจจุบันการปนเปื้อนสารเคมีในผักคะน้ายังเป็นปัญหาต่อผู้ผลิตคะน้าเพื่อการส่งออก และเป็นปัญหาต่อเกษตรกรที่ปลูกคะน้าเพื่อการบริโภคภายในประเทศ ด้วยเหตุที่คะน้าเป็นผักที่พบการปนเปื้อนสารเคมีกำจัดศัตรูพืชสูงเพราะเป็นผักค่อนข้างที่จะอ่อนไหวในเรื่องของ หนอน แมลง และโรคต่างๆ ที่เข้ามารบกวนมากกว่าพืชผักชนิดอื่น นอกจากแมลงที่เข้าทำลายพืชตระกูลกะหล่ำจนเก็บผลผลิตไม่ได้แล้ว ยังมีโรคพืชที่สำคัญที่ทำให้เกิดความเสียหายต่อผลิตได้แก่ โรคใบจุด (leaf spot) สาเหตุจากเชื้อรา *A. brassicea* หรือ *A. brassicicola* เป็นโรคที่ก่อให้เกิดความเสียหายต่อการปลูกคะน้าและผักในตระกูลกะหล่ำซึ่งทำให้เกิดแผลจุดขึ้นบนใบทำให้พืชผักมีการสังเคราะห์แสงลดลงส่งผลให้ผลผลิตลดลง

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

3. การชักนำความต้านทาน

ปัจจัยที่เกี่ยวข้องในการเกิดโรคของพืช ได้แก่ พันธุกรรมของพืชที่อ่อนแอต่อเชื้อสาเหตุโรคพืช เชื้อสาเหตุโรคพืชเป็นเชื้อที่มีความรุนแรงในการก่อโรค ปัจจัยของสภาพแวดล้อมที่เหมาะสม เช่น ความชื้นที่เพียงพอต่อการงอกของสปอร์เชื้อราสาเหตุโรคพืช อุณหภูมิ ธาตุอาหาร เป็นต้น และช่วงเวลาที่เหมาะสมต่อการก่อให้เกิดโรค ได้แก่ ช่วงอายุของพืช ฤดูกาลที่เพาะปลูกพืช เป็นต้น การตอบสนองของพืชเมื่อถูกเชื้อสาเหตุโรคพืชเข้าทำลายจะแสดงความต้านทานโรคหลายระดับทั้งนี้ขึ้นอยู่กับความสามารถในการก่อโรคของเชื้อสาเหตุโรคพืช ถ้าเชื้อสาเหตุโรคพืชสามารถก่อโรคได้สูง เรียกว่า virulent และเชื้อสาเหตุโรคพืชที่สามารถก่อโรคได้ต่ำ เรียกว่า avirulent ความสัมพันธ์ของเชื้อโรคพืชกับพืชอาศัยในการเกิดโรคหรือไม่เกิดโรคจะสามารถอธิบายตามทฤษฎี gene for gene โดย Flor (1956) ซึ่งได้บรรยายว่าในขณะที่มีการวิวัฒนาการของเชื้อโรคและพืชอาศัยจะมีระบบพันธุกรรมที่สอดคล้องและส่งเสริมกัน คือ ในพืชอาศัยจะมียีนที่ควบคุมปฏิกิริยาความต้านทานต่อโรค ส่วนในเชื้อสาเหตุโรคพืชนั้นจะมีพันธุกรรมที่ควบคุมเกี่ยวกับความสามารถที่ก่อให้เกิดโรค โดยยีนในพืชอาศัยที่ควบคุมเกี่ยวกับลักษณะความต้านทานต่อ race ของเชื้อโรคนั้นก็จะมียีนที่เฉพาะเจาะจงของเชื้อโรคมาทำลายยีนที่ต้านทานในพืชอาศัยได้ ความต้านทานที่พืชแสดงออกมานั้น จะมีขบวนการที่แสดงความต้านทานโรคแบ่งได้ 2 พวกใหญ่ คือ

1. Constitutive resistance (Passive resistance) หมายถึง ขบวนการป้องกันตัวเองของพืชที่มีอยู่ก่อนแล้วในพืชก่อนที่จะถูกเชื้อโรคเข้าทำลาย ซึ่งสามารถแบ่งออกได้ 2 แบบ คือ

1.1 Structural barrier หมายถึงโครงสร้างที่พืชมีอยู่ก่อนแล้วซึ่งสามารถป้องกันการเข้าทำลายของเชื้อโรคได้ ซึ่งอาจเป็นลักษณะทางโครงสร้างของตัวพืชเองที่เป็นลักษณะให้เกิดการหลบหลีกหรือหลีกเลี่ยงโรค เช่น ความหนาของชั้น cuticle ลักษณะของทรงพุ่มของพืช เป็นต้น

1.2 Chemical barrier หมายถึง ขบวนการทางเคมีที่มีอยู่ในพืชที่สามารถทำลายหรือป้องกันการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุโรคพืชได้ เช่น สารพวก fungitoxic, fungistatic ซึ่งเป็นสารประกอบพวก alkaloid, phenol และ glycoside เป็นต้น

2. Induce resistance (Active resistance) หมายถึงขบวนการที่ก่อให้เกิดความต้านทานโรคในพืชที่ถูกกระตุ้นให้สร้างขึ้นมาโดยเชื้อโรคหรือโดยพืช (elicitor) ซึ่งเป็นผลจากความสัมพันธ์

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ร่วมกันระหว่างเซลล์ต่อเซลล์ของพืชและเชื้อโรคสาเหตุโรคพืช ผลจากปฏิกิริยาร่วมกันนี้จะไปยับยั้งการพัฒนาการของเชื้อสาเหตุโรค แบ่งเป็น 2 ชนิด คือ

2.1 Structural defense mechanism คือ ขบวนการของความต้านทานโรคที่เกี่ยวข้องกับโครงสร้างที่สร้างขึ้นมาภายหลังจากเชื้อโรคเข้าทำลายแล้ว

2.2 Chemical defense mechanism คือ ขบวนการของความต้านทานโรคที่เกี่ยวข้องกับขบวนการทางชีวเคมีที่เกิดขึ้นโดยการกระตุ้น elicitor (ณรงค์, 2525)

3.1 การตอบสนองของพืชในลักษณะความต้านทาน

ความต้านทานของพืชที่เกิดจากการกระตุ้นจะมีการแสดงออกเป็นหลายแบบซึ่งสามารถเกิดได้ทั้งจากการเปลี่ยนแปลงทางด้านโครงสร้างของพืช การเปลี่ยนแปลงของการทำงานภายในของพืชและการเปลี่ยนแปลงขบวนการ metabolism ในพืช เช่น การเปลี่ยนแปลงของขบวนการหายใจ การเกิดปฏิกิริยา hypersensitivity (HR) การสร้างสารพิษ phytoalexin การสร้างผนังเซลล์ที่หนาขึ้นหรือการสร้าง pathogenesis relate protein (PR-protein) (Van Wess *et al.* ,1999) ความต้านทานที่เกิดขึ้นเหล่านี้จะสามารถเกิดขึ้นได้อย่างรวดเร็วอันเนื่องมาจากปฏิกิริยาการป้องกันตัวของพืชจากเชื้อโรคที่รุกราน ทั้งนี้การแสดงออกอาจเกิดจากปฏิกิริยาของเอนไซม์ที่แสดงออกถึงกระบวนการที่เกิดขึ้นกับพืช ความต้านทานของพืชต่อเชื้อโรคอาจเกิดความต้านทานแบบชั่วคราวทางสรีระวิทยาโดยการใช้สารเคมีบางชนิดเพื่อช่วยเพิ่มความแข็งแรงของพืช ซึ่งอาจเกิดเพียงระยะหนึ่งหรืออาจจะช่วยกำจัดเชื้อโรคและอาจจะทำให้เชื้อโรคไม่เข้าทำลายต้นพืชในระยะที่พืชอ่อนแอต่อเชื้อโรคชนิดนั้นได้ (ธรรมศักดิ์, 2531)

1. เอนไซม์ peroxidase (pox) จะ catalyze ปฏิกิริยา redox ระหว่าง hydrogen peroxide (H_2O_2) โดยเป็น electron acceptor นอกจากนี้ยังสามารถย่อยแบบ catalytic สารอื่นๆ เช่น phenolic compound, aromatic amines, ascorbic acid, ferrocytochrome C, $NADH_2$ และอื่นๆ โดยในพืชที่เป็นโรคหรือพืชที่ได้รับเชื้อจะเกิดการเปลี่ยนแปลงของกิจกรรมส่วนประกอบ isozyme ของ peroxidase ซึ่งเป็นปฏิกิริยาตอบสนองทั่วไปของพืชที่มีความสัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงของ metabolism ของเซลล์ ซึ่งในพืชต้านทานโรคจะมีบทบาทของกิจกรรมเอนไซม์ peroxidase ขึ้นอยู่กับบทบาทของความสามารถการทำปฏิกิริยา oxidation กับสาร metabolites ที่สำคัญของเชื้อหรือของพืชเนื่องจากเอนไซม์ peroxidase มีหน้าที่ในส่วนต่างๆในขบวนการ metabolism ของเซลล์ เช่น

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

นิวเคลียส mitochondria, ribosome ผนังเซลล์และเยื่อหุ้มเซลล์ ซึ่งบทบาทของ peroxidase ที่ผนังเซลล์จะสร้าง lignin หรือมีบทบาทเป็น IAA peroxidase (พรทิพย์, 2533)

2. polyphenol oxidase (ppo) เป็นตัว oxidize สารประเภท phenolic compound โดยในปฏิกิริยาการเกิดโรคของพืชมักพบว่ากิจกรรมของ peroxidase และ polyphenol oxidase เพิ่มขึ้นในพืชต้านทานมากกว่าพืชอ่อนแอที่ได้รับเชื้อสาเหตุโรค โดยกลไกที่ตอบสนองมีหลายแบบ เช่น latent form ซึ่งเกิดขึ้นหลังการติดเชื้อ หรือภายหลังการเกิดบาดแผลซึ่งจะไปกระตุ้น latent form ของ polyphenol oxidase หรือการละลายของ polyphenol oxidase จากโครงสร้างในเซลล์ อีกปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นต่อเนื่องของการสังเคราะห์ภายในเนื้อเยื่อพืชอันเนื่องมาจากเชื้อราทำให้มี polyphenol oxidase เพิ่มขึ้นในเนื้อเยื่อ (พรทิพย์, 2533)

3. phenylalanine ammonia-lyase (pal) เป็นเอนไซม์ตัวแรกในกระบวนการสังเคราะห์ phenylpropanoid โดยการเกิดปฏิกิริยาการขจัดแอมโมเนียแล้วเปลี่ยนรูปของ L-phenylalanine เป็น trans-cinnamic acid (peiser et al., 1998) เอนไซม์ pal ยังมีหน้าที่เป็นกุญแจในการควบคุมการสังเคราะห์ phenolic กิจกรรมเอนไซม์ pal สามารถเพิ่มสูงขึ้นได้จากการพัฒนาการเจริญเติบโตของพืช โดยจะเกิดการสะสมของ anthocyanin และสารประกอบ phenolic ชนิดต่างในเนื้อเยื่อของผลไม้ (Cheng and Breen, 1991) นอกจากนี้เอนไซม์ชนิดนี้เกิดได้จากการชักนำโดยสิ่งมีชีวิตเช่นการติดเชื้อไวรัส เชื้อแบคทีเรีย เชื้อรา เป็นต้น และจากสิ่งไม่มีชีวิต เช่น การลดหรือการเพิ่มอุณหภูมิ แสงยูวีบี การเกิดบาดแผล เป็นต้น ซึ่งสาเหตุเหล่านี้ทำให้เกิดการสะสมของพวกสารประกอบ phenolic กรด phenolic acid และ flavonoid (Wen *et al*., 2005)

Wen *et al*. (2005) ได้ศึกษาการใช้ salicylic acid (SA) ในการกระตุ้นให้เกิดการแสดงออกของ polyphenylalanine ammonia-lyase gene ในองุ่น พบว่า SA เป็นตัวส่งสัญญาณเพื่อกระตุ้นให้พืชเกิดความต้านทาน และ pal เป็นกุญแจของเอนไซม์ใน pathway ของ phenylpropanoid ซึ่งเป็นตัวกระทำให้เกิดกระบวนการที่เกี่ยวข้องกับการป้องกันตัว การชักนำโดย SA ให้เกิดกิจกรรมของ pal ยังไม่สามารถบอกช่วงเวลาที่เกิดปฏิกิริยาได้อย่างชัดเจน ซึ่งพบว่าเมื่อบ่มเนื้อเยื่อองุ่น (*Vitis vinifera* L. cv. Cabernet Sauvignon) ในอาหารที่ประกอบด้วย SA พบว่า SA สามารถชักนำให้เกิดการสะสม pal mRNA และเกิดการสังเคราะห์โปรตีน pal ใหม่ และยังเกิดกิจกรรมที่เพิ่มสูงขึ้น การชักนำให้เกิดกิจกรรมของ pal จาก SA สามารถถูกยับยั้งโดย cycloheximide

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Mohamadi and Kazemi (2001) ได้ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของกิจกรรมเอนไซม์ peroxidase และ polyphenol oxidase ในพันธุ์ต้านทานและพันธุ์อ่อนแอของธัญพืช ต่อโรค Fusarium head blight ที่ถูกเชื้อรา *Fusarium graminearum* เข้าทำลายและการชักนำให้เกิดความต้านทาน โดยการตรวจกิจกรรมเอนไซม์ Guaiacol-peroxidase (pox) และ polyphenol oxidase (ppo) ของธัญพืชในระยะให้ดอก ระยะให้น้ำนม ระยะให้แป้งดิบและระยะให้แป้งสุกในพันธุ์ต้านทาน (cvs. Sumai # 3 และ Wang shui-bai) และสายพันธุ์ที่อ่อนแอ (cvs. Falat และ Golestan) ที่ปลูกเชื้อด้วย *F. graminearum* ในช่วงระยะดอกบาน พบว่ากิจกรรมเอนไซม์ pox เกิดสูงในระยะให้น้ำนมทั้งในพันธุ์ต้านทานคือ Wang shui-bai และพันธุ์อ่อนแอ Golestan ส่วนกิจกรรมเอนไซม์ ppo เกิดสูงในระยะให้น้ำนมของสายพันธุ์ต้านทานที่ปลูก ส่วนในสายพันธุ์ที่อ่อนแอพบว่ากิจกรรมเอนไซม์ ppo เกิดเพียงครึ่งเดียวของสายพันธุ์ต้านทาน

นิสาพร (2551) ได้ศึกษาการสะสมของเอนไซม์ phenylalanine ammonia lyase เอนไซม์ polyphenol oxidase และสารประกอบ phenolic หลังการเข้าทำลายจากเชื้อราในยางพารา พบว่าการนำสารสกัดจากใบยางพารา 2 สายพันธุ์คือ พันธุ์ต้านทานต่อโรค (BPM-24) และพันธุ์อ่อนแอต่อโรค (RRIM 600) ที่ผ่านการทำแผลและปลูกเชื้อบ่มด้วย zoospore ของเชื้อ *Phytophthora palmivora* ที่ความเข้มข้น 4 x 10^3, 1 x 10^4, 2.5 x 10^4 ซูโอสปอร์ต่อมิลลิลิตร ทำการเก็บตัวอย่างที่เวลา 0, 24 และ 48 ชั่วโมง แล้วนำมาตรวจกิจกรรมเอนไซม์ด้วยวิธีอิเลคโตรโฟริซิสแบบสภาพธรรมชาติ ปรากฏแถบเอนไซม์ ppo 3 และ ppo 4 ไอโซไซม์ ในชุดควบคุมและชุดที่ถูกกระตุ้นด้วยซูโอสปอร์ โดยซูโอสปอร์มีความเข้มข้นมากแถบของกิจกรรมเอนไซม์ ppoเพิ่มขึ้นในใบยางทั้ง 2 สายพันธุ์ และเกิดการกระตุ้นในพันธุ์ต้านทานได้มากกว่าและเร็วกว่าในพันธุ์อ่อนแอ เมื่อนำมาหาความว่องไวของเอนไซม์ ppo, pal และสารประกอบ phenolic ด้วยการบ่มเซลล์แขวนลอยด้วย filtrate ที่ความเข้มข้น 0.3 ไมโครกรัมโปรตีนต่อกรัมเซลล์แขวนลอย พบว่าความว่องไวของเอนไซม์ ppo สูงขึ้นเรื่อยๆคิดเป็น 244.25% (ชั่วโมงที่ 96) เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม และความว่องไวของเอนไซม์ pal คิดเป็น 102.41% (ชั่วโมงที่ 16)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

3.2 ลักษณะของสารที่มีการใช้เพื่อการชักนำความต้านทาน

3.2.1 แคลเซียม – โบรอน

โบรอนเป็นจุลธาตุที่พืชต้องการ แต่มีการนำไปใช้ในปริมาณน้อย เพื่อให้มีการเจริญเติบโตอย่างสมบูรณ์ ซึ่ง Loomis and Durst (1992) ได้ศึกษาเกี่ยวกับความสำคัญของโบรอน คือ การควบคุมขบวนการเคลื่อนย้ายน้ำตาล ช่วยในการสร้างผนังเซลล์ การแบ่งเซลล์ ความแข็งแรงของผนังเซลล์ ควบคุมการสังเคราะห์โปรตีนและคาร์โบไฮเดรต ช่วยเพิ่มการติดดอกและผลแก่พร้อมๆกัน ช่วยในกระบวนการหายใจ กระบวนการสร้าง indole acetic acid (IAA) และ phenol metabolism ซึ่งเมื่อขาดโบรอนทำให้เกิดกระบวนการแบ่งตัวของเซลล์เกิดไม่สมบูรณ์ ทำให้การเจริญของพืชในด้านความยาวหยุดชะงักโดยส่วนยอดหยุดการเจริญเติบโตหรือตาย ข้อปล้องสั้น ใบเจริญเติบโตผิดปกติ ใบบิดเบี้ยว โค้งงอ เกิดการแตกกิ่งออกทางด้านข้างแทน แต่เมื่อยังขาดโบรอนอยู่กิ่งที่แตกออกมาทางด้านนี้ก็จะตาย ส่วนรากจะหยุดชะงักในการเจริญออกไป (เพิ่มพูน, 2546) โบรอนยังเป็นธาตุที่เมื่อขาดแล้วยังสามารถทำให้พืชเป็นโรคคือโรคไส้กลวงของพืชตระกูลกะหล่ำ (Black heart or hollow stem of crucifer) ได้มีการค้นพบเกี่ยวกับการใช้โบรอนในการควบคุมโรคพืชที่มีสาเหตุจากจุลินทรีย์สาเหตุโรคพืชโดย Qin *et al.* (2009) ได้ศึกษาเกี่ยวกับประสิทธิภาพของโบรอนเพื่อยับยั้งเชื้อรา *Botrytis cineria* ในองุ่นพบว่าการใช้โบรอนในรูปของ potassium tetraborate ในการควบคุมราสีเทาในผลผลิตหลังการเก็บเกี่ยวที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *B. cineria* บนองุ่นในโรงเก็บที่อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส โบรอนสามารถยับยั้งการงอกของสปอร์ การยืดยาวของ germ tube และการแผ่กระจายของเส้นใยเชื้อรา *B. cineria* ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ โบรอน 1% สามารถทำให้สปอร์มีลักษณะที่ผิดปกติ (ทำให้สปอร์แตก) นอกจากนี้ยังพบว่าโบรอนยังมีผลต่อลักษณะของเชื้อราคือโบรอนทำให้เกิดการรั่วไหลของส่วนที่ประกอบภายในเส้นใยประเภท soluble proteins หรือ carbohydrates ของเชื้อ *B. cineria*

แคลเซียมเป็นธาตุอาหารพืชที่จำเป็นต่อความต้องการในกระบวนการแบ่งเซลล์ ทำให้เนื้อเยื่อมีความแข็งแรง (White and Broadley, 2003) ควบคุมการใช้ไนโตรเจน ช่วยเคลื่อนย้ายน้ำตาลจากใบไปยังผล ใช้ในการสร้างเมล็ด เมื่อขาดาทำให้มีการติดเมล็ดน้อย เมล็ดมีเปอร์เซ็นต์การงอกต่ำ เมล็ดพันธุ์อ่อนแอ การงอกของเมล็ดมีความไม่สม่ำเสมอ (Hirschi, 2004)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

รากพืชสามารถดูดซับแคลเซียมในรูปของ Ca^{2+} ที่เป็นสารละลายอยู่ในดิน การขาดแคลนแคลเซียมสามารถเกิดได้จากหลายสาเหตุ เช่น กระบวนการชะล้างของหน้าดิน ความเป็นกรดสูงของดิน แต่สำหรับดินที่มีความสมบูรณ์จะพบว่ามี Ca^{2+} อยู่บริเวณรอบๆรากของพืช แคลเซียมมีบทบาทในการลดอาการโรคเน่าคอดิน (damping-off) และอาการโรคชนิดอื่นๆ เช่น รากเน่า เปลือกร่อนและผลเน่า นอกจากนี้การสเปรย์สารละลายแคลเซียมและการซึมผ่านผลจะช่วยเพิ่มความต้านทานต่อเนื้อเยื่อของโรคผลเน่า (soft-rot) ในระหว่างการเก็บรักษาหลังการเก็บเกี่ยว โดยมีกลไกที่ทำให้เกิดความต้านทานเพิ่มขึ้นโดยจะพบการสลายตัวของ pectolitic enzyme ในเชื้อสาเหตุโรค (Kelman *et al*., 1989)

Sugimoto *et al.* (2010) ศึกษาการประยุกต์ใช้แคลเซียมในการลดโรค Phytophthora stem rot ในแปลงถั่วและการสะสมของแคลเซียมในพืช พบว่าการประยุกต์ใช้สารประกอบแคลเซียมความเข้มข้นที่ 4 และ 10 มิลลิโมล 2 ครั้ง (ก่อนปลูกและ 14 วันหลังปลูก) สามารถระงับการเกิดโรคและช่วยยืดระยะเวลาออกไปได้ $Ca(HCOO)_2$-A (Suicaru) มีประสิทธิภาพการลดโรคได้มากกว่าแคลเซียมไนเตรต ในกรณีหลักๆแคลเซียมสามารถเพิ่มคุณภาพของถั่วทั้งปุ่มปม ฝัก ผลผลิตเมล็ดและลดความความเสียหายของคุณภาพเมล็ด จากการตรวจด้วยกล้อง Scanning electron พบว่าเกิดการสะสมผลึกรอบๆ cambium และท่อส่งน้ำของต้นถั่วเหลืองที่ได้รับ 10 มิลลิโมล $Ca(HCOO)_2$-A และ $Ca(NO_3)_2$ ยังพบว่าเส้นใยของเชื้อรายังถูกจำกัดขอบเขตด้วย จากการทดสอบพบว่าในพื้นที่เพาะปลูกที่มีการใช้แคลเซียมมากพอจะช่วยเพิ่มความต้านทานต่อการรุกรานโดยเชื้อรา *Phytophthora sorjae* และผลึกแคลเซียมมีความสำคัญต่อการสะสมแคลเซียมไอออนและประสิทธิภาพในเนื้อเยื่อต่อการรักษาให้เกิดความต้านทานอย่างยาวนานในแปลง

3.2.2 Benzo-(1,2,3)-thiadiazole-7-carbothioic acid S-methylester

Benzo-(1,2,3)-thiadiazole-7-carbothioic acid S-methylester (BTH) เป็นสารที่มีประสิทธิภาพในการใช้เพื่อป้องกันโรคพืช สารชนิดนี้ไม่ได้มีคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์แต่มีความสามารถในการเพิ่มความต้านทานของพืชต่อโรคพืช BTH มีประสิทธิภาพในการป้องกันพืชหลากหลายชนิดจากโรคพืชที่เกิดจากเชื้อไวรัส เชื้อแบคทีเรีย และเชื้อรา (Mbouobda *et al*, 2010) เช่น การกระตุ้นปฏิกิริยาการป้องกันตัวในพืช cocoyam (*Xanthosoma sagittifolium*) ต่อเชื้อรา *Pythium myriotylum* สาเหตุโรครากเน่า ซึ่งช่วยเพิ่มระดับกิจกรรมของเอนไซม์ peroxidase (pox) และ polyphenoloxidase (ppo) กลุ่ม phenolic พร้อมลดอัตราการเกิดโรคและความรุนแรงในพืชชุดที่ใช้ BTH (Mbouobda *et al.*, 2009)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การกระตุ้นปฏิกิริยาการป้องกันตัวแบบ systemic acquired resistance (SAR) ในมะเขือเทศต่อโรค *Cucumber mosaic virus* (CMV-Y) โดยการใช้ BTH ก่อนการปลูกเชื้อ CMV-Y 7 วัน สามารถป้องกันการเกิดโรคได้อย่างเด่นชัด โดยปริมาณการเกิดโรคและความรุนแรงลดลงในพืชชุดที่ใช้ BTH (Anfoka, 2000)

Benhamou and Belanger (1998) พบว่าการฉีดพ่น BTH ทางใบในต้นมะเขือเทศ (*Lycopersicon esculentum*) สามารถเพิ่มความต้านทานต่อเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici* (FORL) ซึ่งต้นที่ไม่ได้ฉีดพ่น BTH พบกลุ่มก้อนเส้นใยเชื้อราอยู่เป็นจำนวนมากอยู่ที่เนื้อเยื่อของราก เชื้อรายังสามารถเข้าสู่ส่วนของท่อลำเลียงเกิดการเปลี่ยนแปลงอย่างรุนแรงของพืชอาศัยจนกระทั่งผนังเซลล์แตก ส่วนการทดลองที่ฉีดพ่น BTH พบว่าเชื้อรา FORL ถูกจำกัดการเจริญเติบโตให้อยู่บริเวณ epidermis และด้านนอกของ cortex และเชื้อรายังถูกจำกัดบริเวณการงอกโดยพืชสร้าง callose มาปิดกั้นเป็นจำนวนมาก ส่วนผนังของเส้นใยเชื้อราพบว่าเกิดความผิดปกติในบริเวณ cytoplasm และบริเวณ protoplasm สลายไป ในการฉีดพ่น BTH ให้มะเขือเทศที่อ่อนแอต่อเชื้อรา FORL ก่อนที่เชื้อรา FORL จะเข้าทำลาย ช่วยให้ต้นมะเขือเทศสามารถต้านทานต่อโรคเหี่ยวนี้ได้ และ Benhamou and Belanger ยังพบว่า BTH ที่ฉีดพ่นทางใบในต้นแตงกวาสามารถป้องกันโรครากเน่าในแตงกวาซึ่งมีสาเหตุมาจาก *Pythium ultimum* โดยป้องกันให้การจำกัดการเจริญเติบโตของเชื้อราให้เกิดภายนอกเนื้อเยื่อ และนอกจากนี้ยังพบว่าบริเวณเนื้อเยื่อที่ถูกเชื้อราเข้าทำลายจะมีการสะสมสารพวก phenolic เป็นจำนวนมาก

3.2.3 ไคโตซาน (Chitosan)

ไคโตซานมีชื่อทางเคมีว่า poly-β-(1,4)-2-amino-2-deoxy-D-glucose มีสูตรโครงสร้างทางเคมี คือ $(C_8H_{11}O_4N)n$ ไคโตซานเป็นอนุพันธ์ของไคตินที่ได้จากปฏิกิริยาการกำจัดหมู่อะซิติล (deacetylation) ของ
ไคตินด้วยเอนไซม์ไคตินดีอะเซทิลเลส ไคโตซานถูกพบครั้งแรกในปี ค.ศ.1859 โดย Rouget ได้ต้มไคตินในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น (Li *et al*., 1992)

ไคโตซานเป็น biopolymer ที่ถูกประยุกต์ใช้ในหลายอุตสาหกรรม เช่น การทำเยื่อกระดาษ ทางการแพทย์และผลิตภัณฑ์เพื่อความงาม ในทางด้านการเกษตรไคโตซานใช้ในการช่วยเคลือบผิวของเมล็ด ผล ใบและพืชตระกูลผัก ใช้ผสมเป็นปุ๋ยเพื่อช่วยลดการใช้สารเคมี ช่วยเพิ่ม

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ผลผลิตทางการเกษตร กระตุ้นให้พืชเกิดภูมิต้านทาน ป้องกันพืชจากจุลินทรีย์ขนาดเล็กและกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืช (Hirano, 1997)

การใช้ไคโตซานเพื่อการควบคุมโรคได้มีการศึกษากันอย่างแพร่หลาย โดยเฉพาะการควบคุมโรคพืชที่เกิดจากเชื้อรา เช่น Terry and Joyce (2004) พบว่าไคโตซานเป็นสารจากธรรมชาติที่มีความเป็นไปได้ที่จะนำมาควบคุมกิจกรรมเชื้อราและช่วยป้องกันในระดับเนื้อเยื่อพืช Lui *et al.* (2006) พบว่าไคโตซานมีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคราสีเทาสาเหตุจากเชื้อรา *Botrytis cinerea* และราสีฟ้า *Penicillium expansum* บนผลมะเขือเทศที่เก็บที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสและ 2 องศาเซลเซียส โดยไคโตซานสามารถยับยั้งการงอกของสปอร์ การยืดยาวของ germ tube และการเจริญของเส้นใย

Bautista-Banos *et al.* (2003) พบว่าการใช้สารผสมระหว่างไคโตซานความเข้มข้น 2.5% ร่วมกับน้ำคั้นใบน้อยหน่า น้ำคั้นใบมะละกอและน้ำคั้นเมล็ดมะละกอมีประสิทธิภาพสารเคมีในการกำจัดเชื้อรา*Colletotrichum gloeosporioides* ซึ่งเป็นเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสในมะละกอได้มากกว่าประสิทธิภาพของสารกำจัดเชื้อรา และยังพบว่าไคโตซานเพียงอย่างเดียวที่ความเข้มข้น 1.5 % ทำให้โคนิเดียของ *C. gloeosporioides* เกิดการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยา

3.2.4 Salicylic acid

salicylic acid (SA) เป็นสารประกอบ phenolic ที่มีผลต่อกระบวนการเจริญเติบโตของพืช เช่นการเปิด - ปิดของปากใบ การงอกของเมล็ด การดูดซับประจุ การแสดงออกของเพศ และการต้านทานต่อการเข้าทำลายของโรค นอกจากนี้ยังมีความสัมพันธ์กับกระบวนการสังเคราะห์และการทำงานของเอทธิลีน (Raskin, 1992) Srivartava and Dwivedi (2000) ได้ศึกษาในกล้วยพบว่า salicylic acid (SA) สามารถชะลอการสุกได้ โดยมีผลยับยั้งการสังเคราะห์หรือการทำงานของเอทธิลีน นอกจากนี้ยังพบว่า salicylic acid (SA) และอนุพันธ์ของ salicylic acid (acetyl salicylic acid, ASA) มีผลในการยับยั้งการทำงานของเอทธิลีนในเนื้อเยื่อของลูกแพร์ (Leslie and Romani,1986, 1988) ส่วนยอดของต้นถั่ว แอปเปิ้ล และลูกแพร์ (Romani *et al*., 1989) ซึ่งมีสมมติฐานเชื่อว่า salicylic acid (SA) มีผลในการยับยั้งการเปลี่ยนแปลง 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (AAC) ไปเป็นเอทธิลีน และยังพบว่า salicylic acid (SA) ยังมีผลในการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ ACC oxidase ในชิ้นเนื้อแอปเปิ้ล (Leslie and Romani, 1988)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Métraux *et al*. (1990) ได้จำแนก signal ของสารประกอบที่เป็นตัวกลางของความต้านทานแบบsystemic acquired resistance (SAR) โดยการติดตามจากน้ำคั้นของท่ออาหารของต้นแตงกวาที่เกิดอาการ necrosis จากไวรัสหรือเชื้อราสาเหตุโรค *Colletotrichum lagenarium* ซึ่งหลังจากการดูจากความเข้มข้นของการสันดาบฟลูออเรสเซนพบว่ามีการเพิ่มขึ้นชั่วคราวหลังจากปลูกเชื้อ ซึ่งตรวจจับได้จากระดับพีคก่อนตรวจจับ SAR ได้ และเมื่อทำสารประกอบให้บริสุทธิ์และจำแนกด้วย gas chromatography-mass spectrometry พบว่าเป็น salicylic acid

ศิริชัย (2548) ศึกษาผลของ salicylic acid (SA) ต่อคุณภาพหลังการเก็บเกี่ยวของมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ โดยเก็บรักษาผลมะม่วงที่อุณหภูมิ 13 และ 25 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 90 พบว่ามะม่วงที่ทำการจุ่มด้วย salicylic acid (SA) ที่ระดับความเข้มข้น 2 มิลลิโมล สามารถรักษาคุณภาพและลดการเปลี่ยนแปลงทางสรีระวิทยาและทางชีวเคมีของมะม่วงได้ดีที่สุด โดยมีผลในการชะลออัตราการหายใจ อัตราการผลิตเอทธิลีนการเปลี่ยนแปลงสีและกิจกรรมของเอนไซม์ ACC oxidase ทำให้มีอายุการเก็บรักษานาน 25 และ 20 วัน ตามลำดับ นอกจากนี้ ลัดดาวัลย์และคณะ (2549)ได้ศึกษาผลของ salicylic acid ต่อคุณภาพและการเก็บรักษาเงาะพันธุ์ทองเมืองตราด โดยใช้สารละลาย salicylic acid ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ กัน คือร้อยละ 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 ตามลำดับ จุ่มผลเงาะนานประมาณ 5 นาทีแล้วนำมาเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 90 - 95 เปรียบเทียบกับผลเงาะที่ไม่ผ่านการจุ่มสารละลาย salicylic acid (ชุดควบคุม) ผลจากการศึกษาพบว่าสารละลาย salicylic acid สามารถช่วยชะลอการสูญเสียน้ำหนักได้ดีในทุกชุดการทดลองโดยเฉพาะที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 1.0 และ 1.5 และทำให้เงาะเก็บได้นานถึง 12 วัน ในขณะที่ผลเงาะในชุดควบคุมมีอายุการเก็บรักษาเพียง 10 วัน แต่การเปลี่ยนแปลงของสีขน เปลือกผล ความแน่นเนื้อ ปริมาณกรด และการเกิดกลิ่นผิดปกติ ไม่มีความแตกต่างกัน แสดงว่าการจุ่มผลเงาะในสารละลาย salicylic acid สามารถการชะลอการสูญเสียน้ำหนักสดและยืดอายุการวางจำหน่ายเงาะทองเมืองตราดได้

Rasmussen *et al.* (1991) ได้พิสูจน์การสะสม salicylic acid ในระบบของต้นแตงกวาหลังจากปลูกเชื้อด้วย *Pseudomonas syringae* pv *syringae* พบว่าหลังจากปลูกเชื้อด้วย *P. syringae* pv *syringae* บนใบจริงของต้นแตงกวาจะพบการสะสมของ salicylic acid ในระบบโดยพบจาก phloem exudates จากด้านบน ด้านล่างก้านใบและบริเวณที่ปลูกเชื้อ การวิเคราะห์ phloem exudates จากก้านใบที่ออกมาจากตำแหน่งที่ 1 และ 2 พบว่าเกิดการสะสมของ salicylic acid อย่างรวดเร็วซึ่งเกิดขึ้นหลังจากปลูกเชื้อแล้ว 8 ชั่วโมงในใบที่ 1 และ 12 ชั่วโมงในใบที่ 2

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Mandal *et al*. (2009) ได้ศึกษาการใช้สาร salicylic acid (SA) ในการชักนำให้มะเขือเทศต้านทานต่อเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* โดยให้ SA ความเข้มข้น 200 ไมโครโมล ทางรากและสเปรย์บนใบเพื่อกระตุ้นให้ต้านทานต่อเชื้อรา *Fol* ของต้นมะเขือเทศ ตรวจพบว่าภายในรากของมะเขือเทศมีการสะสมของ SA อิสระซึ่งตรวจโดยการใช้ HPLC ที่ระยะเวลา 168 ชั่วโมง หลังจากให้สาร SA ที่รากพบว่าเกิดการสะสม SA จำนวน 1477 ng g^{-1} FW ซึ่งคล้ายคลึงกับการสเปรย์ SA บนใบแล้ว 168 ชั่วโมง ที่ทำให้เกิดการสะสม SA จำนวน 1001 ng g^{-1} FW และเมื่อตรวจกิจกรรมเอนไซม์ polyphenylalanine ammonia lyase และเอนไซม์ peroxidase พบว่ากิจกรรมเอนไซม์เพิ่มขึ้น 5.9 และ 4.7 เท่า บนใบที่สเปรย์ด้วย SA และเมื่อตรวจกิจกรรมเอนไซม์ทั้ง 2 ชนิดที่รากพบว่ากิจกรรมเอนไซม์เพิ่มขึ้น 3.7 และ 3.3 เท่า และพบว่าการชักนำมะเขือเทศด้วย SA ยังสามารถลดอาการโรค vascular browning และโรคเหี่ยวได้

3.2.5 silicic acid

silicic acid เป็นสารประกอบของธาตุ silicon ที่จับกับน้ำและไฮโดรเจน และมีการนำ siliconไปใช้ในการชักนำให้พืชต้านทานโดย Heine *et al*. (2006) ได้ศึกษาประสิทธิภาพของ silicon ต่อการแพร่กระจายเข้าทำลายโดยเชื้อ *Pythium aphanidermatum* สาเหตุโรครากเน่าในมะเขือเทศ (*Lycopersicon esculentum*) และมะระ (*Mormodica charantia*) พบว่าเมื่อทำการแยกรากลงในแผ่น PVC ที่กั้นแยกไว้สำหรับ silicon และ zoospore หลังจากปลูกเชื้อแล้ว 2 วัน ทำการตรวจวัดการเจริญของรากแต่ละส่วนแล้วนำมาตรวจสอบเพื่อดูการเข้าทำลายของเชื้อรา *P. aphanidermatum* โดย ELISA แบบ double antibody sandwich techniqueเมื่อตัดปลายรากตรวจพบว่ารากมะเขือเทศกับรากมะระไวต่อการเข้าทำลายของเชื้อรา *P. aphanidermatum* พอๆกัน เมื่อเติม silicon พบว่าไม่มีผลกระทบต่อการเจริญของรากที่ถูกยับยั้งโดยเชื้อรา *P. aphanidermatum* เมื่อใส่ silicon อย่างต่อเนื่อง พบว่าเกิดการยับยั้งบริเวณฐานรากมะระที่ถูกปลูกเชื้อจากตั้งแต่ปลายราก แต่ไม่พบในรากมะเขือเทศ

Fauteux *et al*. (2005) พบว่า silicon (Si) เป็นธาตุ bioactive ที่เป็นประโยชน์และมีความสัมพันธ์กับกลไกและโครงสร้างของพืช ซึ่ง Si ช่วยบรรเทาความเครียดที่เกิดจากสิ่งมีชีวิตและสิ่งไม่มีชีวิตกับพืชและยังช่วยเพิ่มความต้านทานของพืชต่อเชื้อราสาเหตุโรคพืช Si ยังช่วยกระตุ้นกลไกในการป้องกันตัวของพืช การเกิดความต้านทานที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติที่เกิดจากการบีบคั้นระหว่าง pathway ของปุ๋ยและ biochemical ยังไม่มีความกระจ่างนัก Si เป็น bioactive ที่ควบคุมการกระตุ้นการป้องกันตัวของพืชที่สามารถเลือกจังหวะหรือขอบเขตของการกระตุ้นการ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ป้องกันตัวของพืชโดย การส่งสัญญาณเป็นลำดับที่ 2 ในการกระตุ้นให้เกิดความต้านทานทั้งระบบ ทำให้สามารถจับกับ hydroxyl group ของโปรตีนซึ่งทำให้เกิดความยุ่งยากในการส่งสัญญาณระหว่างเชื้อและพืชหรือสามารถขัดขวางด้วย cationic cofactor ของเอนไซม์ ซึ่งมีอิทธิพลต่อการเกิดโรค Si อาจจะเป็นปฏิกิริยาที่เป็นตัวเชื่อมระหว่างสัญญาณของพืชที่เกิดความเครียดจึงทำให้เกิดการชักนำให้เกิดความต้านทาน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การแยกเชื้อจากใบคะน้าและการพิสูจน์เชื้อสาเหตุจากลักษณะอาการโรค

1.1 การแยกเชื้อจากใบคะน้า

นำใบคะน้าที่แสดงอาการโรคใบจุด *Alternaria* sp. มาแยกเชื้อด้วยวิธี Tissue transplanting method บ่มที่อุณหภูมิ 25 – 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 – 7 วัน นำมาตรวจสอบด้วยการทำสไลด์ดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ นำมาแยกให้ได้เชื้อบริสุทธิ์โดยเลือกเอาเชื้อบริเวณโคโลนีที่ตรวจสอบว่าเป็นเชื้อรา *Alternaria* sp. และไม่ถูกคลุมทับหรือขึ้นทับด้วยเชื้อราชนิดอื่นหรือเชื้อแบคทีเรีย แยกด้วยวิธีการย้ายลงบนอาหาร Potato dextrose agar (PDA) บ่มที่อุณหภูมิ 25 – 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 – 7 วัน

1.2 การตรวจสอบความเป็นโรค

นำเชื้อรา *Alternaria* sp. แต่ละสายพันธุ์ที่เจริญบนอาหาร PDA อายุ 10 วัน ล้างโคนิเดียด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ กรองด้วยผ้าขาวบางและนำมาปลูกเชื้อลงบนต้นกล้าผักคะน้า อายุ 7 วัน ที่ถูกทำแผลบนใบเลี้ยง 2 ใบ แล้วหยดสารแขวนลอยโคนิเดียจำนวน 15 ไมโครลิตร คลุมต้นด้วยถุงพลาสติกนาน 24 ชั่วโมง ตรวจวัดขนาดอาการโรคภายหลังการนำถุงที่คลุมออก

2. การจำแนกเชื้อและการหาความเข้มข้นที่เหมาะสมสำหรับเป็น inoculums

2.1 การจำแนก species ของเชื้อรา *Alternaria* sp.

2.1.1 การวัดอัตราการเจริญของเชื้อราแต่ละสายพันธุ์

นำเชื้อราแต่ละสายพันธุ์ที่มีเจริญบนอาหาร PDA อายุ 7 วัน เจาะเป็นชิ้นด้วย cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร บริเวณขอบของโคโลนีเชื้อรา ย้ายชิ้นวุ้นที่มีเชื้อราลงตรงกลางจานอาหาร PDA ที่มีปริมาตร 20 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 25 - 30 องศา

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เซลเซียส วัดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีด้วย เวอเนียร์ ทุกวันจนกระทั่งเชื้อราแต่ละชนิดเจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ

2.1.2 การทำ slide culture เพื่อตรวจดูโครงสร้างของเชื้อราแต่ละสายพันธุ์

นำเชื้อราแต่ละสายพันธุ์มาศึกษาลักษณะของโคนิเดียโดยวิธี slide culture นำแผ่นสไลด์วางบนแท่งแก้วที่อยู่ในจานเลี้ยงเชื้อที่ฆ่าเชื้อแล้ว นำชิ้นวุ้นอาหาร PDA ที่ตัดเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมขนาด 0.5 x 0.5 เซนติเมตรวางบนแผ่นสไลด์ เขี่ยเชื้อราแต่ละสายพันธุ์แตะลงบนมุมชิ้นวุ้น 2 ด้าน ปิดทับชิ้นวุ้นด้วย cover slip ที่ฆ่าเชื้อแล้ว เติมน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อลงในจานเลี้ยงเชื้อจำนวน 3 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 25 - 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 - 4 วัน ดึง cover slip มาทำสไลด์เพื่อตรวจดูลักษณะการเจริญของโคนิเดีย และวัดขนาดของโคนิเดียของแต่ละสายพันธุ์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์เพื่อนำมาประกอบการจำแนก species

2.2 การหาความเข้มข้นของ inoculums ที่เหมาะสม

นำเชื้อรา *Alternaria* sp. แต่ละสายพันธุ์ที่เจริญบนอาหาร PDA อายุ 10 วัน ล้างโคนิเดียด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ กรองด้วยผ้าขาวบางและนำมานับจำนวนโคนิเดียด้วย haemacytometer ให้ได้ความเข้มข้นของสารแขวนลอยโคนิเดียเท่ากับ 10^4, 10^5 และ 10^6 โคนิเดียต่อมิลลิลิตร นำสารแขวนลอยโคนิเดียแต่ละความเข้มข้นมาปลูกเชื้อลงบนต้นกล้าผักคะน้า กวางตุ้งฮ่องเต้และกวางตุ้งใบหยก อายุ 10 วัน โดยการหยดสารแขวนลอยโคนิเดียจำนวน 15 ไมโครลิตร ลงบนใบเลี้ยง 2 ใบ และใบจริงใบแรก 1 ใบ แล้วคลุมต้นด้วยถุงพลาสติกนาน 24 ชั่วโมง ตรวจดูอาการการพัฒนาของแผลภายหลังการนำถุงที่คลุมออกโดยการวัดขนาดของแผลบนใบที่เกิดจากเชื้อราเข้าทำลายด้วยเวอเนียร์ ทุกวัน เป็นเวลา 5 วัน

3. การทดสอบประสิทธิภาพสารชักนำความต้านทาน

3.1 การเตรียมต้นผัก คะน้า กวางตุ้งฮ่องเต้และกวางตุ้งใบหยก

เตรียมต้นกล้าโดยใช้พีตมอสบรรจุลงถาดหลุมที่เตรียมไว้จนเต็มหยอดเมล็ดลงหลุมหลุมละ 10 เมล็ด กลบเมล็ดแล้วรดน้ำให้ชุ่ม รอจนต้นกล้างอกแล้วเป็นเวลา 7 วัน จึงฉีดสารทดสอบ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

พืชต้นโต เพาะในดินผสมพีตมอสเป็นวัสดุปลูกโดยใส่ดิน 3 ส่วนและพีตมอสที่ด้านบนผิวดิน 1 ส่วน หยอดเมล็ดลงหลุม 2 หลุม หลุมละ 2 เมล็ด เมื่อต้นโต 7-10 วัน ถอนต้นออกให้เหลือกระถางละ 1 ต้น และเริ่มทดสอบสารเมื่อต้นผักอายุ 20 วัน

3.2 การเตรียมสารที่ชักนำความต้านทาน

เตรียมสารละลายที่ใช้ทดสอบ 4 ชนิด เพื่อฉีดต้นผักอายุ 7 และ 25 วัน ที่เตรียมไว้ได้แก่

Benzo-(1,2,3)-thiadiazole-7-carbothioic acid S-methylester (BTH) อัตราการใช้ 0.02 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ความเข้มข้นคือ 200 ppm

calcium-boron (CaB) อัตราการใช้ 20 ซีซี. ต่อน้ำ 20 ลิตร คิดเป็นความเข้มข้นสุดท้ายเท่ากับ แคลเซียมคีเลท 50 ppm และโบรอน 5 ppm

chitosan อัตราการใช้ 20 ซีซี. ต่อน้ำ 20 ลิตร คิดเป็นความเข้มข้นสุดท้ายเท่ากับ 1000 ppm

calcium-boron + salicylic acid- silicic acid (CaBSS) อัตราการใช้ 20 ซีซี. ต่อน้ำ 20 ลิตร คิดเป็นความเข้มข้นสุดท้ายเท่ากับ แคลเซียม (CaO) 70 ppm โบรอน (B) 4 ppm และ orthosilicic acid 270 ppmหลังจากที่ปล่อยทิ้งไว้เป็นเวลา 2 วัน แล้วจึงฉีดด้วยสารแขวนลอยโคนิเดียเชื้อรา *A. brassicicola* ที่ระดับความเข้มข้น 10^5 โคนิเดียต่อมิลลิลิตร

3.3 การเตรียมสารแขวนลอยโคนิเดียของเชื้อรา *Alternaria brassicicola*

ล้างโคนิเดียด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อปริมาตร 10 มิลลิลิตรต่อจานเลี้ยงเชื้อ ของเชื้อรา *A. brassicicola* ที่เจริญบนอาหาร PDA ที่มีอายุ 10 - 14 วัน โดยสังเกตจากลักษณะโคโลนีสีดำที่โตเต็มอาหารเลี้ยงเชื้อและมีการสร้างโคนิเดียแล้ว หลังจากกรองเชื้อราด้วยผ้าขาวบาง ทำการนับจำนวนโคนิเดียด้วย haemacytometer ปรับความเข้มข้นของโคนิเดียที่ 10^5 โคนิเดียต่อมิลลิลิตร (ค่อยๆปรับความเข้มข้นของโคนิเดียเชื้อราหรือค่อยๆเจือจางด้วยน้ำ)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

3.4 การเตรียมการตรวจสอบตัวอย่างพืชที่ถูกเชื้อเข้าทำลาย

หลังจากปลูกเชื้อบนใบแล้ว 24, 48, 72, 96 และ 120 ชั่วโมง ตรวจดูลักษณะอาการโรค แล้วเก็บใบหลังจากปลูกเชื้อแล้ว 120 ชั่วโมง มาแช่ในน้ำยาล้างสีใบและคงสภาพเนื้อเยื่อโดยดัดแปลงมาจากสูตรน้ำยาของ Carnoy's Acetic Acid-Alcohol โดยเตรียมแอลกอฮอลล์ 95% 1 ส่วน ผสมกับ Glacial acetic acid 1 ส่วน ที่บรรจุอยู่ใน micro centrifuge tube จำนวน 1 มิลลิลิตร จำนวน 1 ใบต่อ 1 หลอด เป็นเวลา 2 วัน หรือเปลี่ยนน้ำยาจนกว่าจะเห็นใบเป็นสีใส ย้อมสีใบด้วยสี acid fuchsin ใน lactophenol เตรียมสารละลาย lactophenol ด้วย phenol 20 กรัม ละลายใน lactic 20 มิลลิลิตร เติมกลีเซอรอลจำนวน 40 กรัม และเติมน้ำ 20 มิลลิลิตร เป็นเวลา 2 วัน ล้างสีส่วนเกินออกด้วย lactophenol นำใบวางบนสไลด์หยด lactophenol แล้วปิดด้วยกระจกปิดสไลด์ นำมาตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์

3.5. การตรวจกิจกรรมเอนไซม์ในพืช และวัดระดับความรุนแรงของโรค

3.5.1 การสกัดตัวอย่างพืชเพื่อตรวจกิจกรรมเอนไซม์

เก็บตัวอย่างพืชมาชั่งน้ำหนักประมาณ 1 กรัม บดตัวอย่างพืชในโกร่งที่แช่เย็น เติมฟอสเฟสบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 0.1 โมล pH 7.5 จำนวน 3.5 มิลลิลิตร นำน้ำคั้นตัวอย่างพืชใส่ในหลอดขนาด 10 มิลลิลิตร นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 9,000 รอบ เป็นเวลา 10 นาที ดูดส่วนใสเก็บในหลอดใหม่ นำไปเก็บไว้ในที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

3.5.2 การตรวจกิจกรรมเอนไซม์ polyphenylalanine ammonia lyase (pal)

ใช้น้ำคั้นของพืชที่บดในฟอสเฟสบัฟเฟอร์ (PBS) ความเข้มข้น 0.1 โมล pH 7.5 จำนวน 100 ไมโครลิตร เติม L-phenylalanine ความเข้มข้น 6 ไมโครโมล ที่ละลายใน Tris HCL ความเข้มข้น 0.5 โมล pH 7.5 จำนวน 900 ไมโครลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสนาน 70 นาที นำไปตรวจที่ความยาวคลื่นแสง 290 นาโนเมตรด้วยเครื่อง uv/vis. Spectrophotometer Boeco model S-22 (Beaudoin-Eagan and Thorpe, 1985)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

3.5.3 การตรวจกิจกรรมเอนไซม์ peroxidase (pox)

น้ำคั้นของพืชในฟอสเฟสบัฟเฟอร์ 100 ไมโครลิตร เติมฟอสเฟสบัฟเฟอร์ (PBS) ความเข้มข้น 5 มิลลิโมล pH 6 จำนวน 792 ไมโครลิตร เติม guaiacol ความเข้มข้น 90 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 7.5 ไมโครลิตร หลังจากนั้นเติม H_2O_2 ความเข้มข้น 0.6 โมล จำนวน 100 ไมโครลิตร ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 1 นาที ก่อนนำไปวัดที่ความยาวคลื่นแสง 610 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง uv/vis. Spectrophotometer Boeco model S-22 (Rathmell and Sequeira, 1974)

3.5.4 การตรวจกิจกรรมเอนไซม์ polyphenoloxidase (ppo)

เติมน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อจำนวน 3 มิลลิลิตร เติมฟอสเฟสบัฟเฟอร์ (PBS) ความเข้มข้น 0.1 โมล pH 6 จำนวน 1 มิลลิลิตร เติม Pyrocatechol ความเข้มข้น 0.006 โมล จำนวน 1 มิลลิลิตร และน้ำคั้นของพืชในฟอสเฟตบัฟเฟอร์จำนวน 200 ไมโครลิตร ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 30 นาที ตรวจที่ความยาวคลื่น 420 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง uv/vis. Spectrophotometer Boeco model S-22

3.5.5 การตรวจหาความเข้มข้นโปรตีน

เตรียม protein reagent โดยใช้ Coomassie Brilliant Blue G-250 จำนวน 100 มิลลิกรัม ในเอทานอลแอลกอร์ฮอล์ 95 % ปริมาตร 50 มิลลิลิตร เติม phosphoric acid ความเข้มข้น 85 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 100 มิลิลิตร ปรับปริมาตรให้ได้ 1 ลิตรด้วยน้ำกลั่น

การเตรียมสารละลายโปรตีนมาตรฐาน ละลาย BSA (Bovine serum albumin) จำนวน 10 มิลลิกรัม ใน 0.15 โมล NaCl ปริมาตร 10 มิลลิลิตร นำไปทำการเจือจางเพื่อให้ได้ความเข้มข้นของโปรตีนที่ต้องการใช้คือ 1000, 800, 600, 400, 200, 100, 50, 25, 10 และ 1 ppm

การทำปฏิกิริยาโปรตีน เติม protein reagent ปริมาตร 5 มิลลิลิตร และเติมสารละลายโปรตีนมาตรฐานจำนวน 100 ไมโครลิตร เขย่าให้ เข้ากันเป็นเวลา 2 นาที นำมาตรวจที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง uv/vis. Spectrophotometer Boeco model S-22 นำมาสร้างกราฟโปรตีนมาตรฐาน (Bradford, 1976)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การทำปฏิกิริยาโปรตีนกับน้ำคั้นพืช เติม protein reagent ปริมาตร 5 มิลลิลิตร และเติมน้ำคั้นตัวอย่างโดยน้ำคั้นจากกิจกรรมเอนไซม์ ppo เติม 200 ไมโครลิตร น้ำคั้นตัวอย่างกิจกรรมเอนไซม์ pox และ pal เติม 300 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากันเป็นเวลา 2 นาที นำมาตรวจที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง uv/vis. Spectrophotometer Boeco model S-22

3.5.6 การคำนวณค่าของกิจกรรมเอนไซม์ ความแตกต่างของกิจกรรมเอนไซม์ และการเปลี่ยนแปลงของกิจกรรมเอนไซม์

3.5.6.1 การคำนวณค่าของกิจกรรมเอนไซม์

$$\text{ค่ากิจกรรมเอนไซม์} = \frac{\text{abs}}{ZX}$$

abs = ค่าเฉลี่ยดูดกลืนคลื่นแสง

Z = ปริมาตรน้ำคั้นพืชที่ใช้ทำปฏิกิริยากิจกรรมเอนไซม์ (ไมโครลิตร)

X = ค่าเฉลี่ยดูดกลืนคลื่นแสงโปรตีนที่หาค่ามาจากสมการของกราฟมาตรฐานโปรตีน $y = cx - d$

3.5.6.2 การคำนวณความแตกต่างของกิจกรรมเอนไซม์

$$E = \left(\frac{R - C}{C} \right) X\ 100$$

E = เปอร์เซ็นต์ความแตกต่างของกิจกรรมเอนไซม์

R = ค่าของกิจกรรมเอนไซม์ที่ได้รับสารชักนำความต้านทาน

C = ค่าของกิจกรรมเอนไซม์ชุดควบคุม

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

3.5.6.3 การคำนวณการเปลี่ยนแปลงของกิจกรรมเอนไซม์

P = Ed – En

P = การเปลี่ยนแปลงของกิจกรรมเอนไซม์
Ed = ความแตกต่างของกิจกรรมเอนไซม์ที่ปลูกเชื้อ
En = ความแตกต่างของกิจกรรมเอนไซม์ที่ไม่ปลูกเชื้อ

3.6 การทดสอบประสิทธิภาพสารชักนำความต้านทานต่อต้นกล้าอายุ 7 วัน

นำสารชักนำความต้านทาน CaB, BTH, chitosan และ CaBSS จำนวนชนิดละ 75 มิลลิลิตร ฉีดพ่นลงบนต้นกล้าผักคะน้า ผักกวางตุ้งฮ่องเต้และผักกวางตุ้งใบหยก อายุ 7 วัน จำนวนอย่างละ 18 ต้น ปล่อยทิ้งไว้เป็นเวลา 2 วัน ฉีดพ่นตามด้วยสารแขวนลอยโคนิเดียลงบนพืชที่ทดสอบทั้ง 4 สาร และชุดควบคุมที่ฉีดพ่นด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อแล้วคลุมด้วยถุงพลาสติกพรมน้ำเป็นเวลา 24 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างพืชไปตรวจกิจกรรมเอนไซม์ ppo, pox และ pal วัดความสูงของต้นกล้าทุกๆ 3 วัน ตรวจวัดระดับอาการการเกิดโรคและเก็บใบเลี้ยงไปตรวจดูการเข้าทำลายของโคนิเดียเชื้อรา

3.6.1 เกณฑ์การวัดระดับอาการโรคต้นกล้าผักตระกูลกะหล่ำอายุ 7 วัน

ระดับ 1 = ไม่เกิดอาการโรค
ระดับ 2 = จุดช้ำบริเวณเนื้อใบโดยจุดช้ำเป็นลักษณะสีเขียวเข้มกว่าเนื้อใบ
ระดับ 3 = ลักษณะอาการจุดช้ำพัฒนาเป็นสีดำขนาดเล็กมีฮาโล (halo) ล้อมรอบขอบใบเริ่มมีอาการเหลือง
ระดับ 4 = จุดแผลพัฒนาเป็นสีน้ำตาลมีขนาดใหญ่ขึ้น แผลเริ่มชนกันและเนื้อตรงกลางแผลเริ่มแห้ง มีฮาโล (halo) ล้อมรอบ
ระดับ 5 = ใบแห้งเป็นสีน้ำตาลอมเทาแต่ก้านใบยังเป็นสีเหลืองอมเขียว
ระดับ 6 = ใบแห้งตาย ร่วง

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

3.7 การทดสอบประสิทธิภาพสารชักนำความต้านทานต่อต้นกล้าอายุ 25 วัน

นำสารชักนำความต้านทาน CaB, BTH, chitosan และ CaBSS จำนวนชนิดละ 120 มิลลิลิตร ฉีดพ่นลงบนต้นกล้าผักคะน้า ผักกวางตุ้งฮ่องเต้และผักกวางตุ้งใบหยก อายุ 25 วัน จำนวนอย่างละ 5 ต้น ปล่อยทิ้งไว้เป็นเวลา 2 วัน ฉีดพ่นตามด้วยสารแขวนลอยโคนิเดียลงบนพืชที่ทดสอบทั้ง 4 สาร และชุดควบคุมที่ฉีดพ่นด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อแล้วคลุมด้วยถุงพลาสติกพรมน้ำเป็นเวลา 24 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างพืชไปตรวจกิจกรรมเอนไซม์ ppo, pox และ pal วัดความสูงของต้นกล้าทุกๆ 3 วัน ภายหลังจากฉีดพ่นสารแล้ว 2 วัน ตรวจวัดระดับอาการการเกิดโรคและเก็บใบไปตรวจดูการเข้าทำลายของโคนิเดียเชื้อรา

3.7.1 เกณฑ์วัดระดับอาการโรคต้นกล้าผักตระกูลกะหล่ำอายุ 25 วันและกึ่งแปลงปลูก

ระดับ 1 = เกิดอาการโรค 0 - 0.9 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่ใบ
ระดับ 2 = เกิดอาการโรค 1 – 4.9 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่ใบ
ระดับ 3 = เกิดอาการโรค 5 – 9.9 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่ใบ
ระดับ 4 = เกิดอาการโรค 10 – 14.9 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่ใบ
ระดับ 5 = เกิดอาการโรค 15 – 19.9 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่ใบ
ระดับ 6 = เกิดอาการโรค 20 – 24.9 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่ใบ
ระดับ 7 = เกิดอาการโรค 25 – 29.9 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่ใบ
ระดับ 8 = เกิดอาการโรค 30 – 34.9 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่ใบ
ระดับ 9 = เกิดอาการโรค 35 – 39.9 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่ใบ
ระดับ 10 = เกิดอาการโรค 40 – 44.9 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่ใบ
ระดับ 11 = เกิดอาการโรค 50 – 54.9 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่ใบ
ระดับ 12 = เกิดอาการโรค 55 – 59.9 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่ใบ
ระดับ 13 = เกิดอาการโรคมากกว่า 60 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่ใบ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

4. การศึกษาประสิทธิภาพของสารชักนำความต้านทานของผักในสภาพกึ่งแปลงปลูก

คัดเลือกชนิดของผักที่มีการตอบสนองต่อการชักนำของสารที่ใช้ในการทดลองสารชักนำความต้านทานทั้ง 4 ชนิด และเลือกชนิดของสารที่ให้ผลในการชักนำผักที่ดีที่สุด ทำการทดสอบในสภาพกึ่งแปลงผลิตพร้อมทั้งรวบรวมข้อมูลและประเมินความรุนแรงของโรคใบจุดในช่วงเวลาต่างๆภายหลังจากการใช้สาร โดยการคัดเลือกผักคะน้าและผักกวางตุ้งฮ่องเต้เพื่อนำมาใช้ทดสอบประสิทธิภาพของสารชักนำความต้านทานในการลดการเกิดโรคได้ดีคือ BTH และ chitosan ทำการฉีดพ่นสารชักนำความต้านทาน 3 ครั้ง คือ ครั้งที่ 1 ทำการฉีดพ่นเมื่อต้นกล้าผักอายุ 15 วัน ครั้งที่ 2 ฉีดพ่นเมื่อต้นกล้าผักอายุ 21 วัน และทำการปลูกเชื้อ *A. brassicicola* ด้วยสารแขวนลอยโคนิเดียความเข้มข้น 10^5 โคนิเดียต่อมิลลิลิตร เมื่อต้นกล้าอายุ 23 วันและฉีดพ่นสารชักนำความต้านทานครั้งที่ 3 เมื่อต้นกล้าอายุ 28 วัน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ผลและวิจารณ์

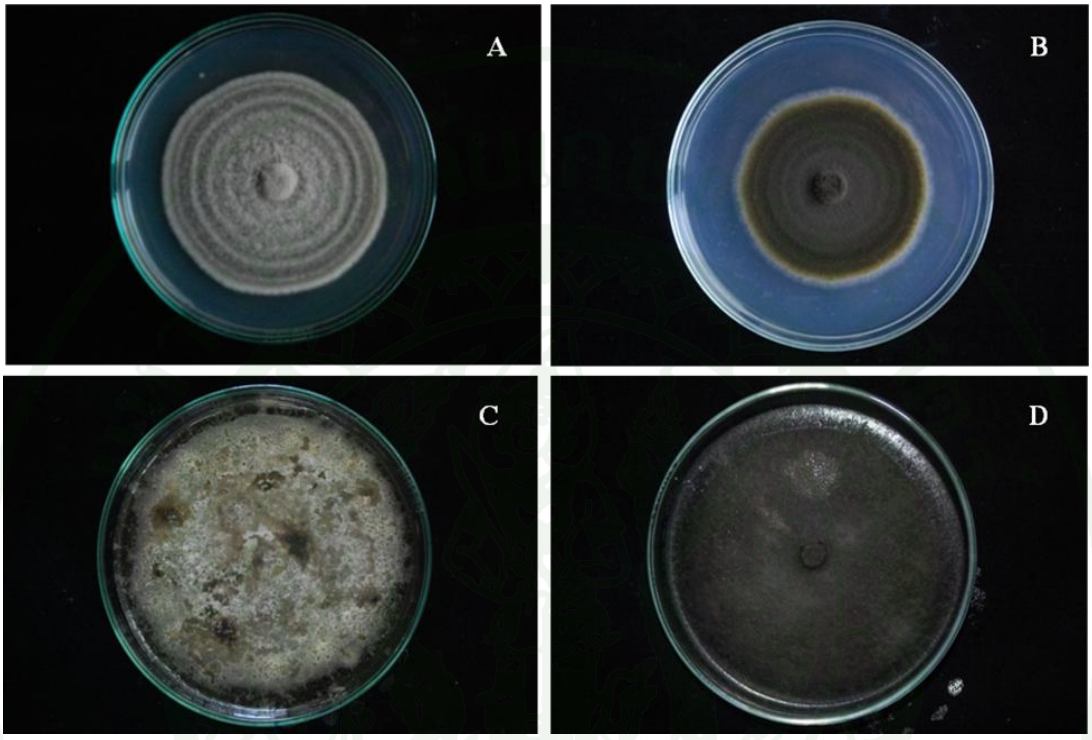
1. การแยกเชื้อและการพิสูจน์เชื้อสาเหตุจากลักษณะอาการโรค

1.1 การแยกเชื้อรา *Alternaria* sp. บนใบคะน้าที่เป็นโรคใบจุด Alternaria ด้วยวิธี Tissue transplanting สามารถแยกเชื้อราได้ 2 สายพันธุ์ คือ สายพันธุ์ AL1 และ สายพันธุ์ AL2 โดยเชื้อราทั้ง 2 สายพันธุ์เลี้ยงบนอาหาร PDA เชื้อราสายพันธุ์ AL1 จะให้โคโลนีสีน้ำตาล ขอบโคโลนีไม่เรียบสม่ำเสมอและมีเส้นใยสีเทาบางๆขึ้นปกคลุมทั่วทั้งโคโลนี ลักษณะของเส้นใยฟูปานกลาง เชื้อราสายพันธุ์ AL2 มี โคโลนีกลม ขอบเรียบ โคโลนีมีเขียวเมื่ออายุ 3 - 7 วัน และเปลี่ยนเป็นสีดำเมื่อมีอายุ 8 - 14 วัน เส้นใยไม่ฟู สปอร์บนโคโลนีมีสีดำ แต่เมื่อส่องสะท้อนกับแสงไฟสีโคโลนีจะเหลือบสีเขียวมะกอก (ภาพที่ 1)

1.2 จากการตรวจสอบความเป็นโรคหลังจากนำเชื้อรา *Alternaria* sp. ทั้ง 2 สายพันธุ์ปลูกเชื้อกลับสู่ต้นกล้าคะน้าอายุ 7 วัน โดยการทำแผลและหยดสารแขวนลอยโคนิเดียของเชื้อราสายพันธุ์ AL1 และสายพันธุ์ AL2 จำนวน 15 ไมโครลิตร สังเกตอาการโรคที่เกิดขึ้นเป็นระยะเวลา 24, 48, 72, และ 96 ชั่วโมง ผลดังแสดงในภาพที่ 2 พบว่าเมื่อปลูกเชื้อแล้ว 24 ชั่วโมง ต้นกล้าคะน้าที่ปลูกเชื้อด้วยเชื้อราสายพันธุ์ AL1 ไม่เกิดอาการโรค แต่ต้นกล้าที่ปลูกโรคด้วยเชื้อราสายพันธุ์ AL2 เกิดอาการโรค โดย (ภาพที่ 2 C) เกิดลักษณะอาการเหมือนแผลช้ำสีน้ำตาลปนเหลืองที่เนื้อใบของพืชบริเวณที่ถูกปลูกเชื้อด้วยสารแขวนลอยโคนิเดีย เมื่อตรวจสอบอาการโรค 48, 72 และ 96 ชั่วโมง จะพบว่าการปลูกเชื้อราสายพันธุ์ AL2 จะมีการพัฒนาของอาการโรคบนคะน้าได้ดีกว่าเชื้อรา AL1 โดยเมื่อเวลา 48 ชั่วโมงลักษณะแผลเริ่มเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลคล้ำและขยายวงออกไป และระยะเวลา 72 ชั่วโมงพื้นที่เนื้อใบขยายขนาดเกิดอาการแห้งตายบริเวณที่มีการปลูกโรค และเมื่อเวลาผ่านไป 96 ชั่วโมง พื้นที่ใบแห้งตายและต้นตาย เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ทำแผลและหยดเฉพาะน้ำเปล่าไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงและไม่เกิดลักษณะอาการโรค การทดสอบการทำให้เกิดโรคบนต้นกล้าพืช พบว่าเชื้อสายพันธุ์ AL2 เมื่อปลูกเชื้อเข้าไปสู่ต้นกล้าคะน้าแล้วก่อให้เกิดโรคใบจุด Alternaria ซึ่งมีความใกล้เคียงกับการศึกษาของ Bolkan *et al*. (1983) ได้ศึกษาเกี่ยวกับเหตุการณ์และความสามารถก่อให้เกิดโรคของเชื้อรา *A. brassicicola* ในบราซิล โดยพบว่าอาการที่เกิดขึ้นเริ่มแรกบนใบผักตระกูลกะหล่ำจะปรากฏแผลจุดขนาดเล็กมีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 0.5 - 1 มิลลิเมตร แต่ยังไม่เป็นลักษณะจุดดำกลมอย่างเด่นชัด หลังจากปลูกโรคไปแล้ว 36 ชั่วโมง จำนวนบาดแผลเพิ่มมากขึ้น

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

มีการกระจายอย่างไม่สม่ำเสมออยู่บนผิวใบ การพัฒนาการของโรคทำให้แผลจุดมีขนาดใหญ่ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2 เซนติเมตร แผลมีลักษณะกลมรี และแผลขยายใหญ่โดยมีการเชื่อมกันของแผลข้างเคียงทำให้เกิดแผลจุดดำขนาดใหญ่บนใบ ความรุนแรงของโรคบนใบมีผลทำให้ใบแห้ง



ภาพที่ 1 ลักษณะการเจริญของเชื้อรา *Alternaria* sp. ที่ใช้ทดสอบ
A) โคโลนีของเชื้อรา*Alternaria* sp. สายพันธุ์ AL1 บนอาหาร PDA อายุ 5 วัน B) โคโลนีของเชื้อรา *Alternaria* sp. สายพันธุ์ AL2 บนอาหาร PDA อายุ 5 วัน C) โคโลนีของเชื้อรา *Alternaria* sp. สายพันธุ์ AL1 บนอาหาร PDA อายุ 10 วัน D) โคโลนีของเชื้อรา *Alternaria* sp. สายพันธุ์ AL2 บนอาหาร PDA อายุ 10 วัน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ภาพที่ 2 พิสูจน์ลักษณะอาการโรคของเชื้อรา *Alternaria* sp. 2 สายพันธุ์ บนต้นกล้าผักคะน้าอายุ 7 วัน A) ต้นกล้าผักคะน้าที่ทำแผลแล้วหยดด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ B) ต้นกล้าผักคะน้าที่ทำแผลแล้วปลูกเชื้อด้วยสารแขวนลอยโคนิเดียเชื้อราสายพันธุ์ AL 1 แล้ว 24 ชั่วโมง C) ต้นกล้าผักคะน้าที่ทำแผลแล้วปลูกเชื้อด้วยสารแขวนลอยโคนิเดียเชื้อราสายพันธุ์ AL 2 แล้ว 24 ชั่วโมง มีอาการแผลสีน้ำตาลขยายวงกว้างรอบๆบริเวณที่ทำแผลและปลูกเชื้อ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2. การจำแนกเชื้อและการหาความเข้มข้นที่เหมาะสมสำหรับเป็น inoculums

2.1 ผลของการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Alternaria* sp.ที่แยกได้จากใบคะน้า ทำการเลี้ยงบนอาหาร PDA วัดการเจริญทุกช่วงระยะเวลาพบว่าเชื้อราสายพันธุ์ AL1 มีการเจริญในแต่ละวันเท่ากับ 1.12, 2.03, 2.96, 3.89, 4.75, 5.68, 6.57, 7.58, 8.83 และ 9 เซนติเมตร และเจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อภายในเวลา 10 วัน ส่วนเชื้อราสายพันธุ์ AL2 พบว่าการเจริญเท่ากับ 0.87, 1.62, 2.46, 3.28, 4.01, 4.8, 5.57, 6.47, 7.46, 8.09 และ 9 เซนติเมตร และเจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อภายในเวลา 11 วัน โดยเชื้อราสายพันธุ์ AL1 มีการเจริญของเส้นใยเร็วกว่าเชื้อราสายพันธุ์ AL2 เวลาเดียวกัน (ภาพที่ 3)

2.2 เมื่อตรวจดูลักษณะทางโครงสร้างของเชื้อราด้วยการเตรียมตัวอย่างเชื้อโดยวิธี slide culture เชื้อราสายพันธุ์ AL1 มีโคนิเดียขนาดใหญ่กว่าเชื้อราสายพันธุ์ AL2 สีของโคนิเดียและก้านชูโคนิเดีย (conidiophores) ของเชื้อราสายพันธุ์ AL1 เป็นสีน้ำตาล จำนวนเซลล์ของโคนิเดียมี 3 - 6 เซลล์ โดยมีขนาดความกว้างโคนิเดียตั้งแต่ 10 - 17.5 ไมโครเมตร ความยาวโคนิเดียตั้งแต่ 32.5 - 60 ไมโครเมตร บนโคนิเดียพบผนังกั้นเซลล์แบบตามยาวหรือเอียง (longitudinal septa) จำนวน 1 - 2 septum และตามขวาง (transverse septa) จำนวน 3 - 5 septum ลักษณะของการเกิดโคนิเดียจะเกิดที่ปลายของก้านชูโคนิเดีย (conidiophores) ต่อกันจำนวนตั้งแต่ 4 - 10 โคนิเดียต่อก้านชูโคนิเดีย และก้านชูโคนิเดียมีความยาวตั้งแต่ 32.5 - 75 ไมโครเมตร ส่วนเชื้อราสายพันธุ์ AL2 พบว่าโคนิเดียมี 3 - 5 เซลล์ โคนิเดียและก้านชูโคนิเดียมีสีน้ำตาลเข้ม โคนิเดียมีความกว้างตั้งแต่ 7.5 - 12.5 ไมโครเมตร โคนิเดียมีความยาวตั้งแต่ 20 - 25 ไมโครเมตร บนโคนิเดียพบผนังกั้นเซลล์ตามขวาง (transverse septa) จำนวน 3 - 4 septum ไม่พบผนังกั้นเซลล์ตามยาว (longitudinal septa) ลักษณะของการเกิดโคนิเดียจะเกิดที่ปลายของก้านชูโคนิเดีย (conidiophores) ต่อกันจำนวน 9 - 15 โคนิเดียต่อก้านชูโคนิเดีย และก้านชูโคนิเดียมีความยาวตั้งแต่ 7.5 - 25 ไมโครเมตร (ตารางที่ 2) (ภาพที่ 4)

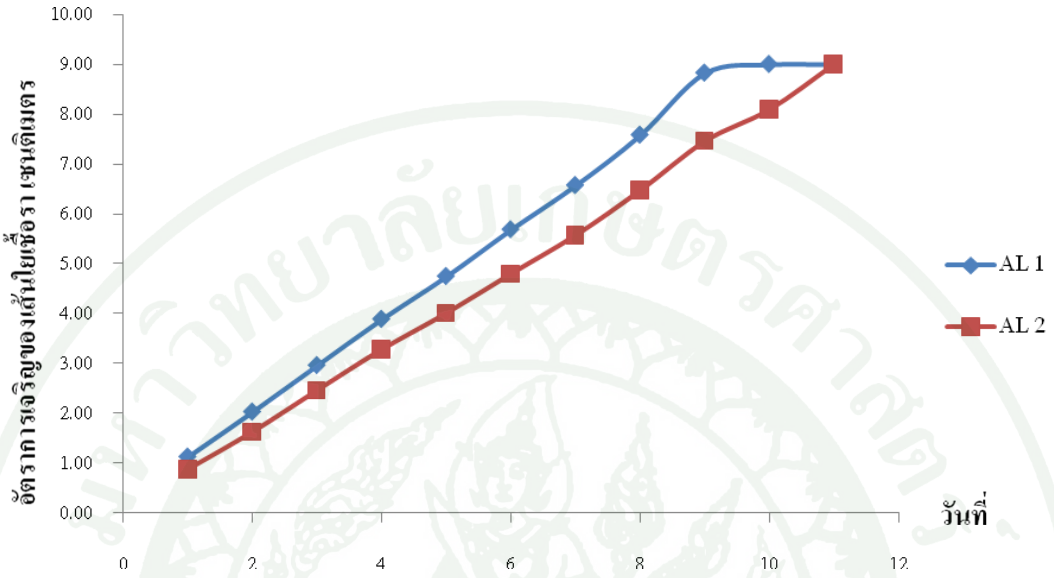
สำหรับการศึกษาของ Nowicki *et al*. (2012) ได้ศึกษาเกี่ยวกับโรคจุดดำ Alternaria ของพืชตระกูล crucifer เกี่ยวกับ อาการโรค ความสำคัญของโรค และการเขียนแผนผังพันธุกรรมเพื่อใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ให้เกิดความต้านทาน โรคนี้สามารถเกิดได้ทุกส่วนของพืชอาศัยและทุกช่วงระยะของพืชอาศัยโดยมีเชื้อรา *A. brassicae* และ *A. brassicicola* เป็นเชื้อสาเหตุตั้งแต่การทำให้เกิดโรค damping off ของต้นกล้าผักตระกูลกะหล่ำ เชื้อราสองชนิดนี้มีการเข้าทำลายพืชที่แตกต่างกัน คือ *A. brassicae* จะเข้าทำลายพืชผ่านทางปากใบเพียงอย่างเดียว แต่ *A. brassicicola* จะเข้าทำลายโดยการแทงผ่านชั้นเนื้อเยื่อของพืชโดยตรงหรือผ่านทางปากใบพืช เส้นใยเชื้อราทั้งสองชนิดเมื่อแทงผ่านเข้าสู่เซลล์พืชแล้วจะพัฒนาตัวเองอยู่ในชั้น epidermis หรือภายใต้บริเวณ wax ที่เคลือบใบ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เมื่อเชื้อราเข้าทำลายพืชได้อย่างสมบูรณ์พืชจะแสดงอาการแผลจุดสีน้ำตาลเข้มและมีขนาดของแผลที่แตกต่างกันโดยแผลมีเส้นผ่านศูนย์กลางตั้งแต่ 0.5 เซนติเมตร ลักษณะของแผลจุดจะมีรูปร่างแบบ concentric circumference บางครั้งแผลจะมีวงกลมสีเหลืองล้อมรอบ การตอบสนองของพืชอาศัยที่ถูกเชื้อชนิดนี้เข้าทำลายจะเกิดปฏิกิริยาที่เห็นได้อย่างชัดเจนคือการเปลี่ยนสีของผนังเซลล์เป็นสีน้ำตาล ลักษณะของแผลที่เกิดจากเชื้อรา *A. brassicicola* จะมีลักษณะแผลจุดสีดำและรูปร่างกับขนาดของแผลมีความสม่ำเสมอเมื่อเปรียบเทียบกับแผลของ *A. brassicae* ซึ่งมีการขยายขนาดของแผลตามเนื้อเยื่อพืชที่ถูกทำลายจนตายและส่วนมากพบ halo การศึกษาของ Kucharek (1994); Pattanamahakul and Strange (1999) พบว่าโรคใบจุด Alternaria ของผักตระกูลกะหล่ำในประเทศไทยและอีกหลายประเทศมีเชื้อราสาเหตุที่ก่อให้เกิดโรค 3 specie ได้แก่ *A. brassicae* *A. brassicicola* และ *A. raphani* พบว่าลักษณะสัณฐานวิทยา (morphology) ของเชื้อรา *A. brassicicola* ที่เลี้ยงบนอาหาร PDA มีโคโลนีเหมือนกำมะหยี่ สีน้ำตาลเข้มปนเขียวมะกอก มีอัตราการโตเฉลี่ย 7.8 - 8.8 มิลลิเมตรต่อวัน จะสร้างโคนิเดียต่อกันยาวเป็นลูกโซ่ได้ถึง 15 โคนิเดีย ไม่ค่อยมีการแตกกิ่งก้าน โคนิเดียแต่ละโคนิเดียไม่พบ beak โคนิเดียขนาดเล็กรูปทรงคล้ายทรงกระบอก (cyrindrical) สีเข้มโดยจะมีสีเขียวมะกอกปนน้ำตาลเข้ม มีผนังกั้นตามขวาง (transverse septa) 4 - 6 septum มีผนังกั้นตามยาว (longitudinal septum) ได้มากถึง 2 septum สำหรับการศึกษาของ Rise and Boiteux (2010) พบว่าการจำแนกเชื้อ *A. brssicae* และ *A. brssicicola* ที่เป็นอาการโรคบนพืชในโรงเรือนสามารถทำได้ยากแต่เมื่อทำการแยกเชื้อเลี้ยงบนอาหาร 10% V8 โคโลนีของ *A. brassicae* เมื่ออายุน้อยจะมีสีขาวและพัฒนาเป็นสีน้ำตาลเมื่อโคโลนีอายุ 5 - 7 วัน เมื่อตรวจดูโครงสร้างภายใต้กล้องจุลทรรศน์จะพบก้านชูโคนิเดียจำนวนมากและมีขนาดใหญ่ โคนิเดียเกิดเดี่ยวๆบนก้านชูโคนิเดียแต่บางครั้งสามารถพบโคนิเดีย 2 - 3 โคนิเดียบนก้านชูโคนิเดีย แต่สามารถพบได้น้อยมาก สีของนิเดียเป็นสีน้ำตาลอ่อน มีผนังกั้นตามขวาง 8 - 16 septa ผนังกั้นตามยาว 0 - 7 septa ขนาดของ beak ยาว 26 - 126 ไมโครเมตร โคนิเดียยาวและกว้าง 68 - 310 ไมโครเมตร และ 18 - 28 ไมโครเมตร สำหรับโคโลนีของเชื้อรา *A. brassicicola* มีสีน้ำตาลเข้มจนถึงดำ ก้านชูโคนิเดียยาว 45 - 66 ไมโครเมตร โคนิเดียมีสีน้ำตาลอ่อน มีผนังกั้นตามขวาง 1 - 9 septa ผนังกั้นตามยาว 1 - 4 septa ปลายเซลล์มีลักษณะสั้นมากและมีสีสว่างกว่าตัวโคนิเดีย ความกว้างและยาวของโคนิเดีย 27 - 142 ไมโครเมตร และ 7 - 22 ไมโครเมตร โคนิเดียเกิดต่อยาวเป็นลูกโซ่ถึง 23 โคนิเดียต่อก้านชูโคนิเดีย บางครั้งก้านชูโคนิเดียมีการแตกกิ่งและมีรูขนาดเล็กที่บริเวณปลายก้านชูโคนิเดีย เมื่อเปรียบเทียบลักษณะของสายพันธุ์ AL2 แล้วมีลักษณะตรงกับลักษณะของเชื้อรา *A. brassicicola* และเชื้อราสายพันธุ์ AL1 เมื่อดูตามลักษณะของโคนิเดียแล้วสามารถจัดอยู่ในกลุ่ม *Brevicatenatae* มีลักษณะการสร้างโคนิเดียต่อกันเพียง 3 - 5 โคนิเดีย และลักษณะของ beak จะมีลักษณะสั้นหรือยาวอย่างชัดเจน เชื้อราในกลุ่มนี้ได้แก่ *A. tenuiss* สามารถก่อ

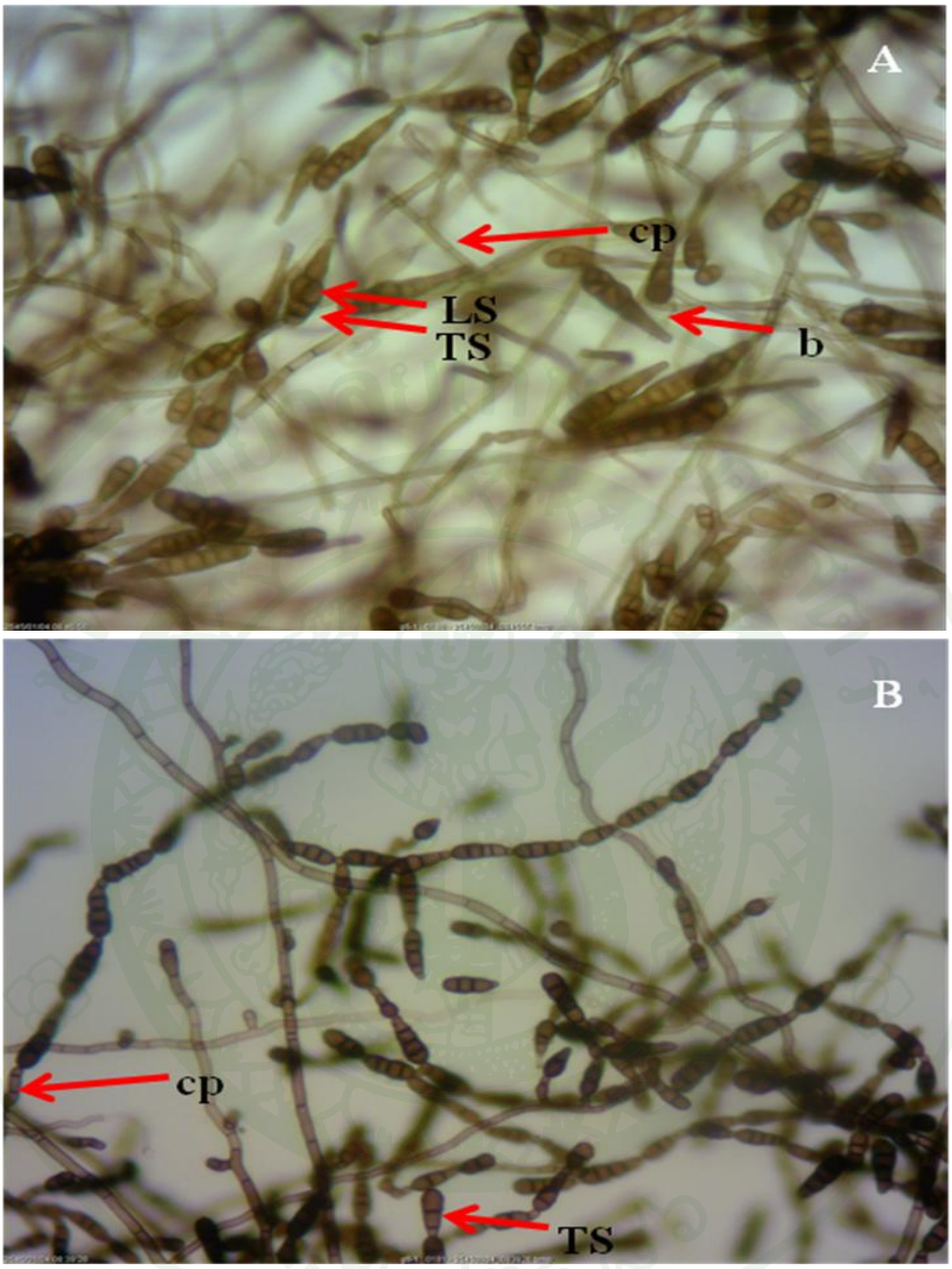
ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

โรคต่อ pyrethrum ผักโขม *A. raphani* ก่อโรคต่อหัวไชเท้า *A. dianthi* ก่อโรคต่อคาร์เนชั่น เป็นต้น (Neergaard, 1945)



ภาพที่ 3 เปรียบเทียบการเจริญของเชื้อรา *Alternaria* sp. สายพันธุ์ AL1 และสายพันธุ์ AL2 บนอาหาร PDA ระหว่าง 1 - 11 วัน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 4 เปรียบเทียบลักษณะโคนิเดียของเชื้อรา *Alternaria* sp. สายพันธุ์ AL1 และ AL2 A) โคนิเดียของเชื้อรา *Alternaria* sp. อายุ 7 วัน สายพันธุ์ AL1 B) โคนิเดียของเชื้อรา *Alternaria* sp. อายุ 7 วัน สายพันธุ์ AL2

หมายเหตุ: b =beak, cp =conidiophores, LS = longitudinal septum และ TS = transverse septum กำลังขยาย 200X

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 2 การเปรียบเทียบขนาดโครงสร้างของเชื้อรา *Alternaria* sp. สายพันธุ์ AL1 และ สายพันธุ์ AL2 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

ลำดับที่	โครงสร้างของเชื้อราสายพันธุ์ AL1						โครงสร้างของเชื้อราสายพันธุ์ AL2					
	ความกว้างโคนิเดีย (μm)	ความยางโคนิเดีย (μm)	ความยางก้านชูโคนิเดีย (μm)	จำนวน chain	TS[1/]	LS[2/]	ความกว้างโคนิเดีย(μm)	ความยางโคนิเดีย (μm)	ความยางก้านชูโคนิเดีย (μm)	จำนวน chain	TS	LS
1	17.5	37.5	7.5	10	4	1	10.0	27.5	7.5	11	3	0
2	12.5	45.0	7.5	5	4	1	10.0	22.5	7.5	10	3	0
3	12.5	50.0	17.5	7	5	2	10.0	25.0	17.5	10	3	0
4	15.0	37.5	17.5	5	3	2	10.0	25.0a	17.5	11	3	0
5	15.0	40.0	7.5	5	3	2	10.0	25.0	7.5	11	4	0
6	12.5	42.5	10.0	8	3	2	10.0	35.0	10.0	12	4	0
7	15.0	37.5	17.5	6	3	2	10.0	30.0	17.5	13	4	0
8	15.0	47.5	7.5	5	3	3	10.0	25.0	7.5	11	3	0
9	12.5	47.5	10.0	7	3	2	12.5	30.0	10.0	12	4	0
10	12.5	50.0	15.0	6	4	2	10.0	27.5	15.0	10	3	0
11	17.5	45.0	12.5	6	3	1	10.0	25.0	12.5	12	4	0
12	10.0	40.0	12.5	8	3	1	10.0	27.5	12.5	12	4	0
13	15.0	45.0	12.5	6	3	1	10.0	22.5	12.5	14	3	0

ตารางที่ 2 (ต่อ)

ลำดับที่	โครงสร้างของเชื้อราสายพันธุ์ AL1						โครงสร้างของเชื้อราสายพันธุ์ AL2					
	ความกว้างโคนิเดีย (μm)	ความยาวโคนิเดีย (μm)	ความยาวก้านชูโคนิเดีย (μm)	จำนวน chain	TS[1/]	LS[2/]	ความกว้างโคนิเดีย(μm)	ความยาวโคนิเดีย (μm)	ความยาวก้านชูโคนิเดีย (μm)	จำนวน chain	TS	LS
14	15.0	47.5	15.0	7	4	1	10.0	27.5	15.0	13	3	0
15	15.0	42.5	12.5	7	3	2	10.0	20.0	12.5	14	3	0
16	15.0	42.5	10.0	6	4	1	10.0	30.0	10.0	13	4	0
17	17.5	47.5	12.5	6	4	2	10.0	25.0	12.5	12	3	0
18	12.5	47.5	25.0	8	4	1	10.0	30.0	25.0	10	4	0
19	17.5	42.5	15.0	6	3	1	10.0	25.0	15.0	11	3	0
20	15.0	50.0	15.0	5	3	2	10.0	22.5	15.0	13	3	0
21	12.5	45.0	12.5	5	4	1	10.0	25.0	12.5	13	3	0
22	15.0	47.5	17.5	5	4	2	10.0	30.0	17.5	15	4	0
23	12.5	37.5	12.5	4	2	1	10.0	32.5	12.5	12	5	0
24	12.5	45.0	20.0	8	3	1	10.0	35.0	20.0	14	5	0
25	15.0	60.0	20.0	5	3	1	10.0	30.0	20.0	9	4	0
26	12.5	47.5	20.0	7	4	2	10.0	30.0	20.0	12	3	0

ตารางที่ 2 (ต่อ)

ลำดับที่	โครงสร้างของเชื้อราสายพันธุ์ AL1						โครงสร้างของเชื้อราสายพันธุ์ AL2					
	ความกว้างโคนิเดีย (μm)	ความยาวโคนิเดีย (μm)	ความยาวก้านชูโคนิเดีย (μm)	จำนวน chain	TS[1/]	LS[2/]	ความกว้างโคนิเดีย(μm)	ความยาวโคนิเดีย (μm)	ความยาวก้านชูโคนิเดีย (μm)	จำนวน chain	TS	LS
27	12.5	32.5	10.0	6	3	1	10.0	25.0	10.0	11	3	0
28	15.0	47.5	17.5	6	3	1	7.5	25.0	17.5	14	4	0
29	12.5	35.0	12.5	6	3	1	10.0	25.0	12.5	11	4	0
30	12.5	42.5	15.0	8	4	1	10.0	25.0	15.0	14	3	0

[1/] TS; longitudinal septa

[2/] LS; transverse septa

2.3 การตรวจหาความเข้มข้นของโคนิเดียเชื้อราที่เหมาะสม โดยทำการทดสอบที่ความเข้มข้นของสารแขวนลอยโคนิเดียเชื้อรา *A. brassicicola* (AL2) ที่ระดับความเข้มข้น 10^4, 10^5 และ 10^6 โคนิเดียต่อมิลลิลิตร ทำการปลูกเชื้อกลับเข้าสู่ต้นกล้าผักทั้ง 3 ชนิด คือ ผักคะน้า ผักกวางตุ้งฮ่องเต้ และผักกวางตุ้งใบหยก ที่มีอายุ 10 วัน โดยการหยดสารแขวนลอยโคนิเดียจำนวน 15 ไมโครลิตร บนใบโดยไม่ได้ทำแผล ผลดังแสดงในตารางที่ 3, 4 และ 5 และภาพที่ 6, 7 และ 8 โดยพบว่าเมื่อระยะเวลาผ่านไป 24 ชั่วโมง ต้นกล้าผักทั้ง 3 ชนิด ไม่แสดงอาการโรคจากการปลูกเชื้อด้วยสารแขวนลอยโคนิเดียในแต่ละระดับความเข้มข้น ภายหลังจากปลูกเชื้อแล้ว 48 ชั่วโมง พบว่าเกิดอาการโรค โดยในผักคะน้า (ตารางที่ 3 และ ภาพที่ 5) ไม่พบอาการโรคในต้นกล้าที่ปลูกเชื้อด้วยความเข้มข้น 10^4 โคนิเดียต่อมิลลิลิตร ในทุกระยะการตรวจสอบ แต่สำหรับการปลูกเชื้อด้วยความเข้มข้น 10^5 โคนิเดียต่อมิลลิลิตร อาการโรคมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของแผลหลังจากปลูกเชื้อแล้ว 48, 72, 96 และ 120 ชั่วโมง เท่ากับ 0.13, 0.30, 0.33 และ 0.33 เซนติเมตร และการปลูกเชื้อด้วยความเข้มข้น 10^6 โคนิเดียต่อมิลลิลิตร เส้นผ่านศูนย์กลางของขนาดแผลเท่ากับ 0.39, 0.14, 0.15 และ 0.09 เซนติเมตร ตามลำดับของช่วงเวลา

สำหรับการทดสอบในต้นกล้าผักกวางตุ้งฮ่องเต้ที่ถูกปลูกเชื้อด้วยสารแขวนลอยโคนิเดีย ผลดังแสดงในตารางที่ 4 และภาพที่ 6 โดยพบว่าความเข้มข้น 10^4 โคนิเดียต่อมิลลิลิตร ไม่เกิดอาการโรคหลังจากปลูกเชื้อแล้ว 48, 72, 96 และ 120 ชั่วโมง สำหรับการปลูกเชื้อต้นกล้าด้วยความเข้มข้น 10^5 โคนิเดียต่อมิลลิลิตร แผลมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.05, 0.09, 0.1 และ 0.14 เซนติเมตร และที่ความเข้มข้นของสารแขวนลอยโคนิเดีย 10^6 โคนิเดียต่อมิลลิลิตร แผลมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.08, 0.15, 0 และ 0 เซนติเมตร ตามลำดับ

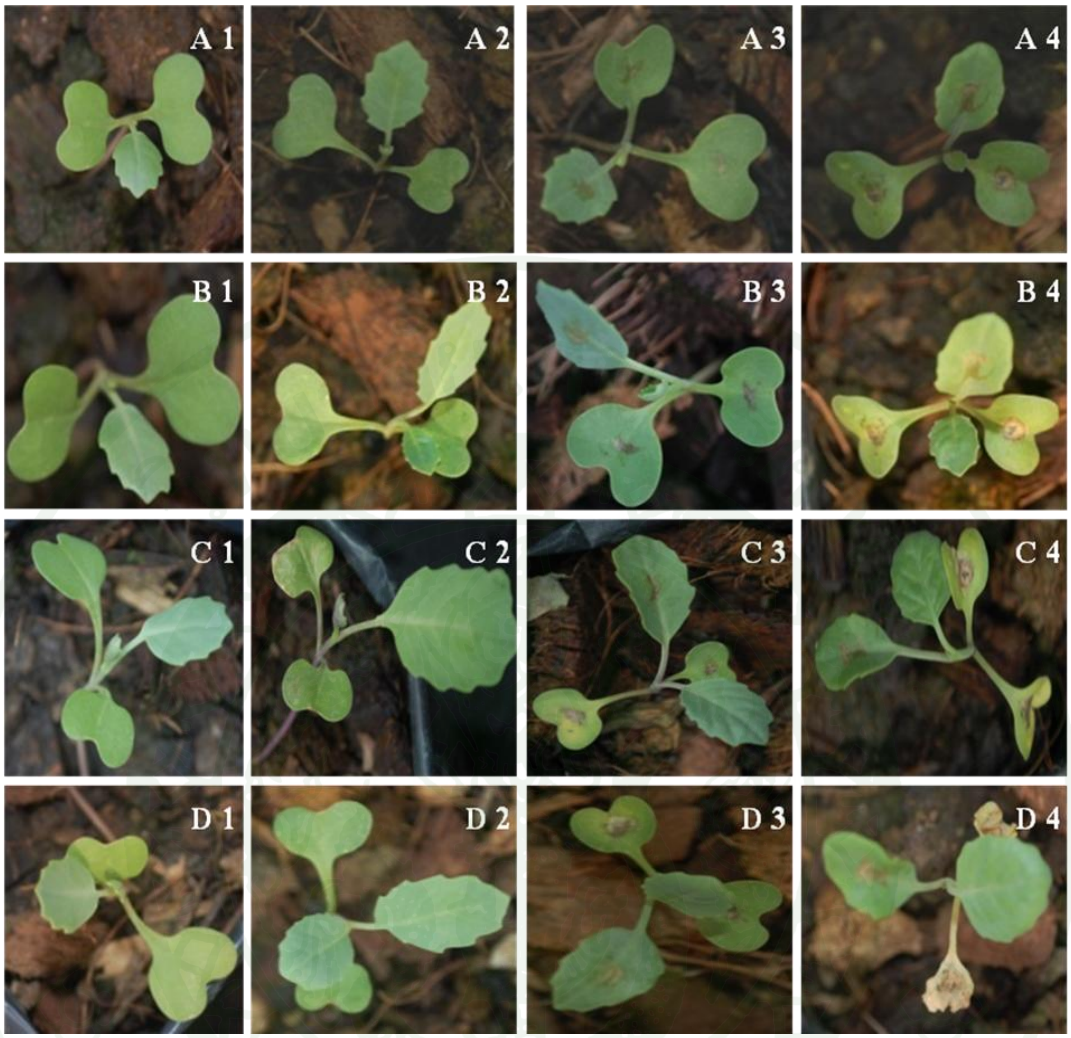
ในต้นกล้าผักกวางตุ้งใบหยกที่ถูกปลูกเชื้อด้วยสารแขวนลอยโคนิเดีย ผลดังแสดงในตารางที่ 5 และภาพที่ 7 โดยพบว่าความเข้มข้น 10^4 โคนิเดียต่อมิลลิลิตร พืชไม่แสดงอาการโรคหลังจากปลูกเชื้อแล้ว 48, 72, 96 และ 120 ชั่วโมง สำหรับต้นกล้าผักที่ปลูกโรคด้วยความเข้มข้น 10^5 โคนิเดียต่อมิลลิลิตร มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของแผลเท่ากับ 0.17, 0.2, 0.24 และ 0.28 เซนติเมตร ความเข้มข้นของสารแขวนลอยโคนิเดีย 10^6 โคนิเดียต่อมิลลิลิตร แผลมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเท่ากับ 0.17, 0.23, 0.23 และ 0.23 เซนติเมตร ตามลำดับ

จากการทดสอบนี้แสดงให้เห็นว่าระดับความเข้มข้น 10^5 โคนิเดียต่อมิลลิลิตรของ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เชื้อรา *A. brassicicola* (AL2) สามารถทำให้เกิดโรคได้ในพืชที่ทดสอบ คะน้า กวางตุ้งฮ่องเต้ และกวางตุ้งใบหยก โดยพืชจะแสดงอาการได้ชัดเจนภายหลังการปลูกเชื้อตั้งแต่ 48 ชั่วโมง แต่จะพบอาการเด่นชัดมากขึ้นเมื่อเวลาผ่านไปถึง 96 ชั่วโมง โดยการเข้าทำลายของ เชื้อรา *A. brassicicola* มีความสามารถก่อให้เกิดโรคต่อผักตระกูลกะหล่ำทุกสปีชีส์ ซึ่งพืชไม่ได้มีความอ่อนแอต่อเชื้อราสาเหตุโรค ยกเว้นผักกาดขาวซึ่งจะมีอาการบนใบเหมือนกับผักกะหล่ำ โดยแผลที่เกิดบนผักกาดขาวจะมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1 - 2 มิลลิเมตร และแผลไม่เชื่อมติดกันหลังจากบ่มเชื้อบนใบแล้ว 7 วัน นอกจากนี้เชื้อราชนิดนี้ทำให้เกิดอาการจุดดำบนดอกกะหล่ำเพราะแผลมีการเชื่อมติดกัน เกิดเป็นบริเวณกว้าง (Bolkan *et al*., 1983)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 5 แสดงการพัฒนาอาการโรคของต้นกล้าผักคะน้าอายุ 10 วัน ที่ช่วงอายุหลังการปลูกเชื้อ A) 48, B) 72, C) 96 และ D) 120 ชั่วโมง โดยใช้โคนิเดียที่ความเข้มข้น 1) ไม่มีโคนิเดีย 2) ความเข้มข้นโคนิเดีย 10^4 โคนิเดียต่อมิลลิลิตร 3) ความเข้มข้นโคนิเดีย 10^5 โคนิเดียต่อมิลลิลิตร และ 4) ความเข้มข้นโคนิเดีย 10^6 โคนิเดียต่อมิลลิลิตร

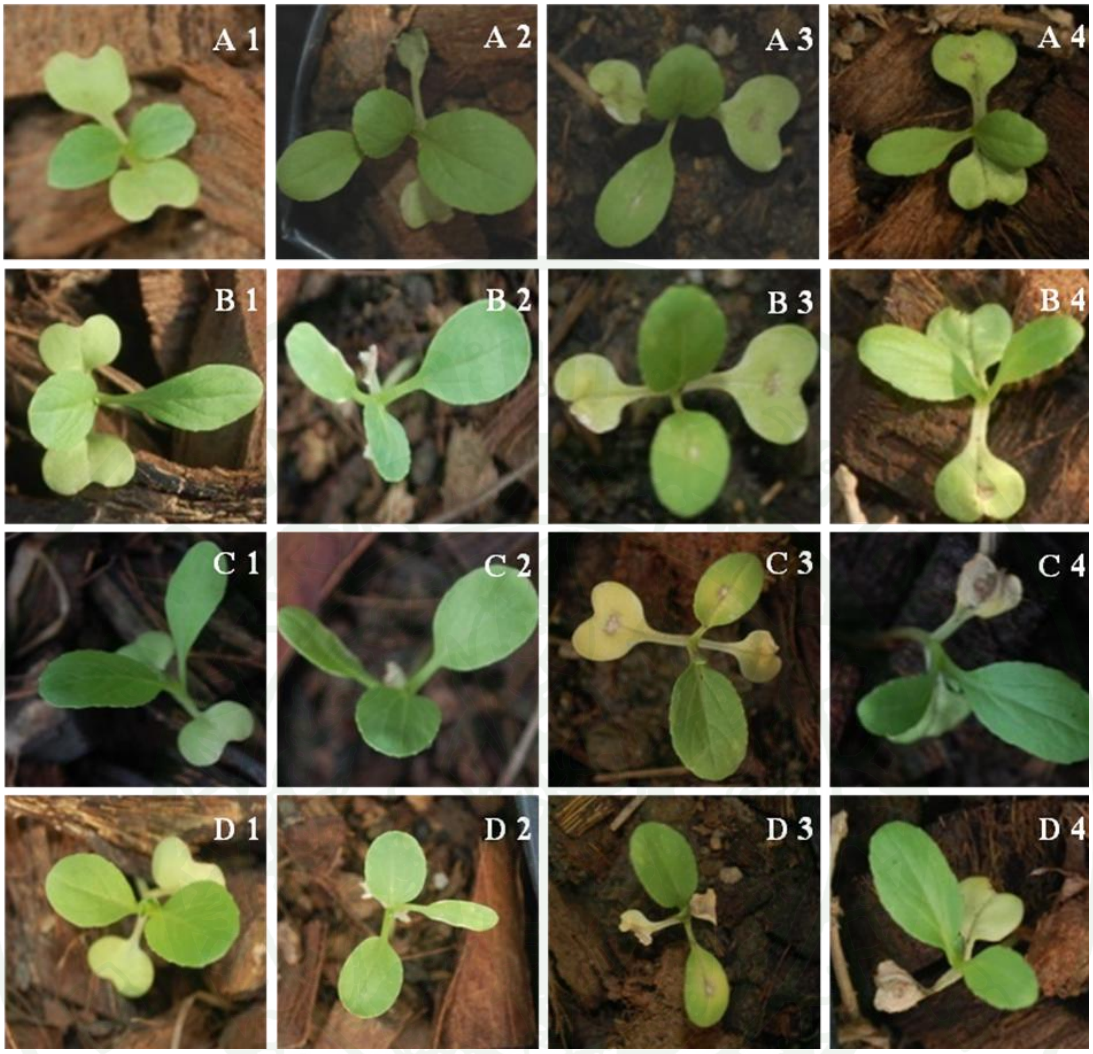
ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 3 การพัฒนาของแผลที่ถูกปลูกเชื้อด้วยสารแขวนลอยโคนิเดียเชื้อรา *Alternaria* sp. ที่ความเข้มข้น 10^4, 10^5, 10^6 โคนิเดียต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 15 ไมโครลิตร บนต้นกล้าผักคะน้าที่ระยะเวลา 48, 72, 96 และ 120 ชั่วโมง

ปลูกเชื้อ 48 ชั่วโมง	ใบที่ 1	ใบที่ 2	ใบที่ 3	$\overline{X}$ [1/]
control	-	-	-	-
10^4 conidia/ml	-	-	-	-
10^5 conidia /ml	0.16 x 0.13	0.10 x 0.13	0.12 x 0.14	0.13
10^6 conidia /ml	0.47 x 0.40	0.31 x 0.39	0.35 x 0.43	0.39
ปลูกเชื้อ 72 ชั่วโมง	ใบที่ 1	ใบที่ 2	ใบที่ 3	$\overline{X}$
control	-	-	-	-
10^4 conidia /ml	-	-	-	-
10^5 conidia /ml	0.33 x 0.45	0.27 x 0.25	0.17 x 0.31	0.30
10^6 conidia /ml	0.17 x 0.22	0.13 x 0.13	0.06 x 0.10	0.14
ปลูกเชื้อ 96 ชั่วโมง	ใบที่ 1	ใบที่ 2	ใบที่ 3	$\overline{X}$
control	-	-	-	-
10^4 conidia /ml	-	-	-	-
10^5 conidia /ml	0.36 x 0.48	0.29 x 0.32	0.19 x 0.31	0.33
10^6 conidia /ml	0.18 x 0.24	0.15 x 0.16	0.06 x 0.10	0.15
ปลูกเชื้อ 120 ชั่วโมง	ใบที่ 1	ใบที่ 2	ใบที่ 3	$\overline{X}$
control	-	-	-	-
10^4 conidia /ml	-	-	-	-
10^5 conidia /ml	0.36 x 0.48	0.29 x 0.32	0.19 x 0.31	0.33
10^6 conidia /ml	-	0.10 x 0.11	0.06 x 0.10	0.09

[1/] $\overline{X}$ = ค่าเฉลี่ยของรัศมีแผล

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 6 แสดงการพัฒนาอาการโรคของต้นกล้าผักกวางตุ้งฮ่องเต้อายุ 10 วัน ที่ช่วงอายุหลังการปลูกเชื้อ A) 48, B) 72, C) 96 และ D) 120 ชั่วโมง โดยใช้โคนิเดียที่ความเข้มข้น 1) ไม่มีโคนิเดีย 2) ความเข้มข้นโคนิเดีย 10^4 โคนิเดียต่อมิลลิลิตร 3) ความเข้มข้นโคนิเดีย 10^5 โคนิเดียต่อมิลลิลิตร และ 4) ความเข้มข้นโคนิเดีย 10^6 โคนิเดียต่อมิลลิลิตร

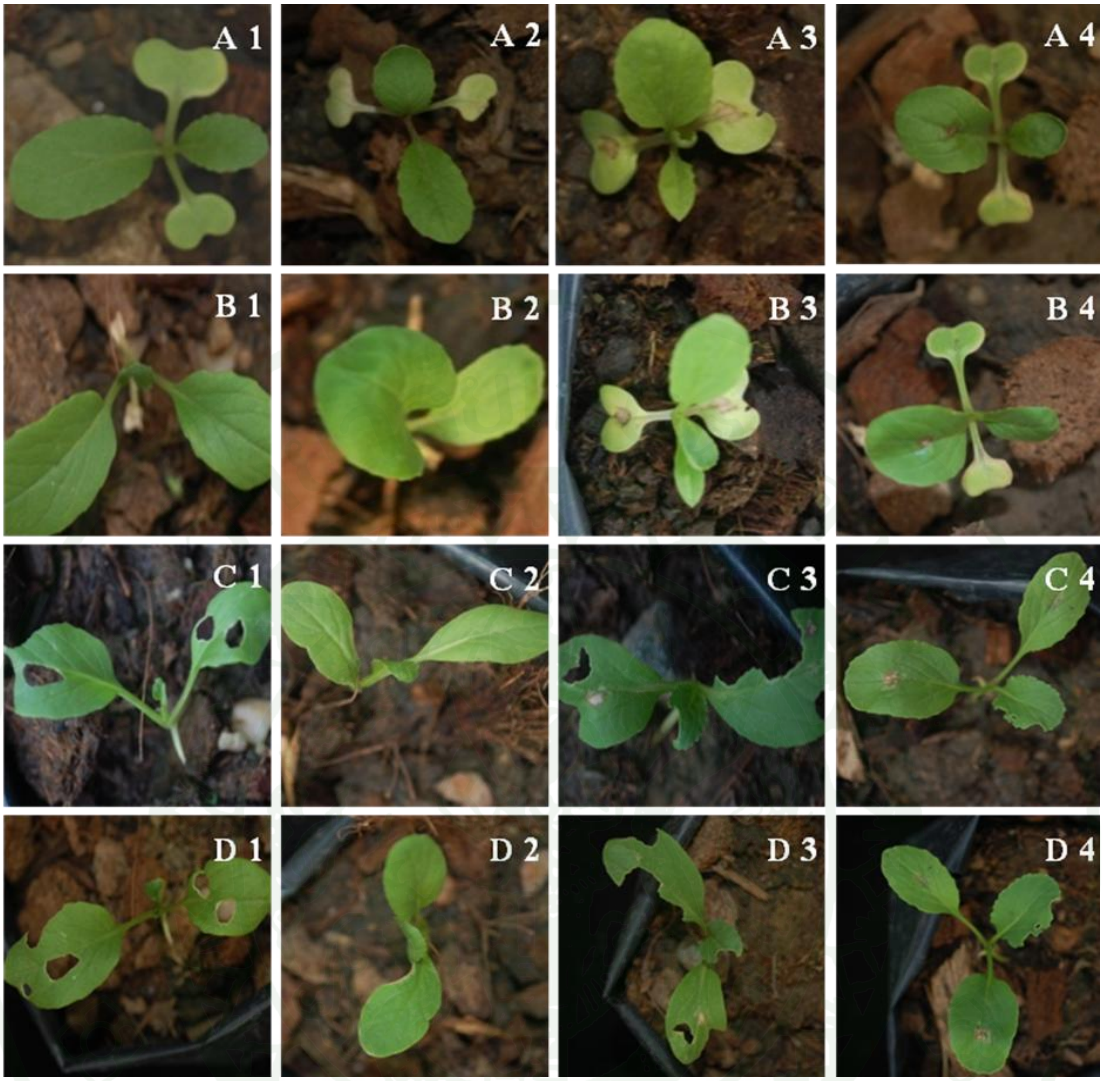
ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 4 การพัฒนาของแผลที่ถูกปลูกเชื้อด้วยสารแขวนลอยโคนิเดียเชื้อรา *Alternaria* sp. ที่ความเข้มข้น 10^4, 10^5, 10^6 โคนิเดียต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 15 ไมโครลิตรบนต้นกล้าผักกวางตุ้งฮ่องเต้ที่ระยะเวลา 48, 72, 96 และ 120 ชั่วโมง

ปลูกเชื้อ 48 ชั่วโมง	ใบที่ 1	ใบที่ 2	ใบที่ 3	$\overline{X}$ [1/]
control	-	-	-	-
10^4 conidia /ml	-	-	-	-
10^5 conidia /ml	-	0.06 x 0.08	0.03 x 0.03	0.05
10^6 conidia /ml	0.06 x 0.09	-	-	0.08
ปลูกเชื้อ 72 ชั่วโมง	ใบที่ 1	ใบที่ 2	ใบที่ 3	$\overline{X}$
control	-	-	-	-
10^4 conidia /ml	-	-	-	-
10^5 conidia /ml	0.12 x 0.10	0.10 x 0.11	0.07 x 0.05	0.09
10^6 conidia /ml	0.12 x 0.17	-	-	0.15
ปลูกเชื้อ 96 ชั่วโมง	ใบที่ 1	ใบที่ 2	ใบที่ 3	$\overline{X}$
control	-	-	-	-
10^4 conidia /ml	-	-	-	-
10^5 conidia /ml	0.13 x 0.11	0.12 x 0.12	0.08 x 0.05	0.10
10^6 conidia /ml	-	-	-	-
ปลูกเชื้อ 120 ชั่วโมง	ใบที่ 1	ใบที่ 2	ใบที่ 3	$\overline{X}$
control	-	-	-	-
10^4 conidia /ml	-	-	-	-
10^5 conidia /ml	-	-	0.13 x 0.15	0.14
10^6 conidia /ml	-	-	-	-

[1/] $\overline{X}$ = ค่าเฉลี่ยของรัศมีแผล

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 7 แสดงการพัฒนาอาการโรคของต้นกล้าผักกวางตุ้งใบหยกอายุ 10 วัน ที่ช่วงอายุหลังการปลูกเชื้อ A) 48, B) 72, C) 96 และ D) 120 ชั่วโมง โดยใช้โคนิเดียที่ความเข้มข้น 1) ไม่มีโคนิเดีย 2) ความเข้มข้นโคนิเดีย 10^4 โคนิเดียต่อมิลลิลิตร 3) ความเข้มข้นโคนิเดีย 10^5 โคนิเดียต่อมิลลิลิตร และ 4) ความเข้มข้นโคนิเดีย 10^6 โคนิเดียต่อมิลลิลิตร

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 5 การพัฒนาของแผลที่ถูกปลูกเชื้อด้วยสารแขวนลอยโคนิเดียเชื้อรา *Alternaria* sp. ที่ความเข้มข้น 10^4, 10^5, 10^6 โคนิเดียต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 15 ไมโครลิตรบนต้นกล้าผักกวางตุ้งใบหยกที่ระยะเวลา 48, 72, 96 และ 120 ชั่วโมง

ปลูกเชื้อ 48 ชั่วโมง	ใบที่ 1	ใบที่ 2	ใบที่ 3	$\overline{X}$ [1/]
control	-	-	-	-
10^4 conidia /ml	-	-	-	-
10^5 conidia /ml	0.14 x 0.11	0.25 x 0.21	0.09 x 0.19	0.17
10^6 conidia /ml	-	0.15 x 0.11	0.21 x 0.22	0.17
ปลูกเชื้อ 72 ชั่วโมง	ใบที่ 1	ใบที่ 2	ใบที่ 3	$\overline{X}$
control	-	-	-	-
10^4 conidia /ml	-	-	-	-
10^5 conidia /ml	0.14 x 0.18	0.27 x 0.28	0.16 x 0.19	0.20
10^6 conidia /ml	-	0.16 x 0.12	0.28 x 0.36	0.23
ปลูกเชื้อ 96 ชั่วโมง	ใบที่ 1	ใบที่ 2	ใบที่ 3	$\overline{X}$
10^4 conidia /ml	-	-	-	-
10^5 conidia /ml	-	-	-	-
10^6 conidia /ml	0.17 x 0.19	0.30 x 0.32	0.22 x 0.24	0.24
10^4 conidia /ml	-	0.16 x 0.12	0.28 x 0.36	0.23
ปลูกเชื้อ 120 ชั่วโมง	ใบที่ 1	ใบที่ 2	ใบที่ 3	$\overline{X}$
control	-	-	-	-
10^4 conidia /ml	-	-	-	-
10^5 conidia /ml	0.17 x 0.20	0.32 x 0.36	0.37 x 0.27	0.28
10^6 conidia /ml	-	-	0.23 x 0.23	0.23

[1/] $\overline{X}$ = ค่าเฉลี่ยของรัศมีแผล

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 6 สรุปผลการทดลองการแยกเชื้อจากใบคะน้าและการจำแนกเชื้อรา

การทดลอง	เชื้อรา สายพันธุ์ AL1	เชื้อรา สายพันธุ์ AL2
พิสูจน์ความเป็นโรค	ไม่ก่อโรค	ก่อโรค
การจำแนกเชื้อ	*Alternaria spp.*	*Alternaria brassicicola*
ความเข้มข้นที่เหมาะสม	-	10^5 โคนิเดียต่อมิลลิลิตร

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

3. ผลของการทดสอบประสิทธิภาพสารชักนำความต้านทานในต้นกล้าผักตระกูลกะหล่ำอายุ 7 วัน

3.1 การพัฒนาอาการโรคของต้นกล้าผักตระกูลกะหล่ำอายุ 7 วัน ที่ได้รับสารชักนำความต้านทาน

หลังจากฉีดสารชักนำความต้านทาน calcium-boron (CaB), Benzo-(1,2,3)-thiadiazole-7-carbothioic acid S-methylester (BTH), chitosan, calcium-boron + salicylic acid-silicic acid (CaBSS) และชุดควบคุมน้ำนึ่งฆ่าเชื้อ แล้ว 2 วัน บนต้นกล้าผักคะน้าอายุ 7 วัน ทำการปลูกเชื้อรา *A. brassiciola* โดยการฉีดพ่นทั่วต้นด้วยสารแขวนลอยโคนิเดียเชื้อราความเข้มข้น 10^5 โคนิเดียต่อมิลลิลิตร ผลการพัฒนาอาการของโรคดังแสดงในตารางที่ 7 และภาพที่ 9 เมื่อทำการตรวจโรคตามเกณฑ์การวัดระดับอาการโรคที่ระดับ 1 – 6 (ข้อ 3.6.1) ในผักคะน้าหลังจากปลูกเชื้อแล้ว 2 และ 3 วัน พบอาการโรคกระจายบนใบ โดยผักคะน้าที่ได้รับสารชักนำความต้านทาน CaB แสดงอาการโรคน้อยที่สุดในวันที่ 2 และ 3 ภายหลังจากปลูกเชื้อเท่ากับ 2.06 และ 3.00 เมื่อเปรียบเทียบอาการโรคกับชุดควบคุม เท่ากับ 2.67 และ 3.56 สำหรับในวันที่ 4 และ 5 หลังจากปลูกเชื้อ พบว่าสารชักนำความต้านทานทุกชนิดที่ฉีดพ่นให้แก่ผักคะน้าไม่สามารถลดอาการโรคได้เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม

อาการโรคที่พบในต้นกล้าผักกวางตุ้งฮ่องเต้อายุ 7 วัน หลังจากฉีดสารชักนำความต้านทาน CaB, BTH, chitosan, CaBSS และชุดควบคุมน้ำนึ่งฆ่าเชื้อ 2 วัน แล้วปลูกเชื้อดังแสดงในตารางที่ 7 ภาพที่ 9 พบว่าหลังจากปลูกเชื้อแล้ว 2 วัน สาร CaB แสดงอาการโรคน้อยที่สุดเท่ากับ 2.06 เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมซึ่งแสดงอาการโรคเท่ากับ 2.47 สำหรับสารชักนำความต้านทานชนิดอื่นไม่สามารถลดอาการโรคได้ในวันที่ 2 หลังจากปลูกเชื้อ อาการโรคหลังจากปลูกเชื้อแล้ว 3 วัน สาร CaB แสดงอาการโรคน้อยที่สุดเท่ากับ 2.50 เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมซึ่งมีอาการโรค 3.24 สำหรับสารชักนำความต้านทาน CaBSS และ chitosan แสดงอาการโรคในวันที่ 3 เท่ากับ 2.88 และ 3.06 ตามลำดับ อาการโรคหลังจากปลูกเชื้อ 4 วัน สาร CaB แสดงอาการโรคน้อยที่สุดเท่ากับ 3.39 และสาร CaBSS แสดงอาการโรคได้ 3.41 เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมซึ่งมีอาการโรค 3.59 สำหรับอาการโรคหลังจากปลูกเชื้อแล้ว 5 วัน พบว่าสารชักนำความต้านทานทุกชนิดไม่สามารถลดอาการโรคได้เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม

อาการโรคของต้นกล้าผักกวางตุ้งใบหยกอายุ 7 วัน หลังจากฉีดสารชักนำความต้านทาน CaB, BTH, chitosan, CaBSS และชุดควบคุมน้ำนึ่งฆ่าเชื้อ 2 วัน แล้วปลูกเชื้อดังแสดงใน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 7 ภาพที่ 10 พบว่าหลังจากปลูกเชื้อแล้ว 2 วัน สาร CaB และ chitosan แสดงอาการโรคน้อยที่สุดเท่ากับ 1.61 สำหรับสาร CaBSS และ chitosan แสดงอาการโรค 1.67 และ 1.72 ตามลำดับ อาการโรคหลังจากปลูกเชื้อแล้ว 3 วัน สาร chitosan แสดงอาการโรคน้อยที่สุด 2.61 รองลงมาคือ สาร CaB, CaBSS และ BTH ซึ่งแสดงอาการโรคได้เท่ากับ 2.78, 3.17 และ 3.33 ตามลำดับ หลังจากปลูกเชื้อ 4 วัน สาร chitosan แสดงอาการโรคน้อยที่สุดเท่ากับ 3.06 สำหรับสาร CaB และ CaBSS แสดงอาการโรคได้ 3.35 และ 3.44 ตามลำดับ สาร BTH ไม่สามารถลดอาการโรคได้ หลังจากปลูกเชื้อ 5 วัน สาร chitosan แสดงอาการโรคน้อยที่สุดเท่ากับ 3.20 สาร CaB, CaBSS และ BTH แสดงอาการโรค 3.47, 3.73 และ 4.13 ตามลำดับ

การทดสอบสารชักนำความต้านทาน CaB, BTH, chitosan และ CaBSS เทียบกับน้ำนึ่งฆ่าเชื้อโดยการฉีดพ่นสารทดสอบ 2 วัน แล้วปลูกเชื้อตาม พบว่าในผักคะน้าที่ได้รับสารชักนำความต้านทาน CaB จะแสดงอาการโรคน้อยกว่าชุดควบคุมเช่นเดียวกับผักกวางตุ้งฮ่องเต้ สำหรับในผักกวางตุ้งใบหยกจะพบว่าสารชักนำความต้านทาน CaB และ chitosan ให้ผลการยับยั้งการเกิดโรคได้ดีภายหลังจากปลูกเชื้อแล้ว 2 – 4 วัน และเมื่อระยะเวลาผ่านไปพืชที่ได้รับสารชักนำความต้านทานจะมีการตอบสนองลดลง ผลของธาตุอาหารโบรอนที่มีผลต่อการลดการเกิดโรคมีความใกล้เคียงกับการใช้สารละลายโบรอนจากรูปของ potassium tetraborate เพื่อดูมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อรา *Botrytis cinerea* ในการเก็บรักษาองุ่นทานสดโดยการสเปรย์สารแขวนลอยโคนิเดียความเข้มข้น 10^5 โคนิเดียต่อมิลลิลิตร บนผลองุ่น เมื่อผลองุ่นที่ถูกสเปรย์ด้วยเชื้อราแห้งแล้วนำมาจุ่มลงในสารละลายโบรอนที่ระดับความเข้มข้นต่างๆเป็นเวลา 15 นาที นำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $0^{\circ}C$ และ $23^{\circ}C$ พบว่าความเข้มข้นที่เริ่มต้นของโบรอนที่สามารถยับยั้งการเกิดโรคเมื่อเก็บผลองุ่นที่ทั้ง 2 อุณหภูมิ คือ 0.2% w/v และประสิทธิภาพของโบรอนที่ยับยั้งเชื้อราได้ดีที่สุดคือความเข้มข้นเท่ากับ 1% w/v (Qin *et al*., 2009)

นอกจากนี้ยังพบว่าการใช้สารละลายโบรอนจากรูปของ potassium tetraborate ความเข้มข้น 0.5% w/v และ 1% w/v สามารถลดอาการโรค blue mold rot สาเหตุจากเชื้อรา *Penicillium expansum* และขนาดของแผลบนผลพุทราได้ และการใช้โบรอนร่วมกับยีสต์ *Cryptococcus laurentii* สามารถเพิ่มประสิทธิภาพการยับยั้งอาการโรคในผลพุทราได้ดียิ่งขึ้น (Cao *et al*., 2012) และประสิทธิภาพของโบรอนที่ความเข้มข้น 20 และ 30 ppm ยังลดอัตราการเจริญและการพัฒนาอาการโรครากบวมของผักตระกูลกะหล่ำในบริเวณขนรากที่ถูกเชื้อรา *Plasmodiophora brassicae* เข้าทำลาย (Webster and Dixon, 1991)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 7 ผลการประเมินระดับอาการโรค (ระดับ 1 – 6) ที่พบบนต้นกล้าอายุ 7 วัน ของผักคะน้า ผักกวางตุ้งฮ่องเต้และผักกวางตุ้งใบหยกที่ระยะเวลาต่างๆภายหลังการฉีดสารชักนำความต้านทานก่อนเป็นเวลา 2 วัน แล้วจึงปลูกเชื้อ *Alternaria brassicicola*

	ปลูกเชื้อ 2 วัน	ปลูกเชื้อ 3 วัน	ปลูกเชื้อ 4 วัน	ปลูกเชื้อ 5 วัน
อาการโรคบนผักคะน้าภายหลังการปลูกเชื้อ (ฉีดสารชักนำความต้านทานแล้ว 2 วันก่อนปลูกเชื้อ AL2)				
control	2.67 a[1/]	3.56 ab	4.28 b	4.89 b
CaB	2.06 c	3.00 c	4.17 b	5.11 ab
BTH	2.50 ab	3.28 bc	4.22 b	5.39 ab
chitosan	2.22 bc	3.67 abc	4.72 ab	5.56 a
CaBSS	2.56 ab	3.83 a	4.94 a	5.39 ab
F - test	*	*	*	ns[2/]
CV	24.34	21.72	20.57	15.76
อาการโรคบนผักกวางตุ้งฮ่องเต้ภายหลังการปลูกเชื้อ (ฉีดสารชักนำความต้านทานแล้ว 2 วัน ก่อนปลูกเชื้อ AL2)				
control	2.47 ab	3.24 ab	3.59	4.13
CaB	2.06 b	2.50 c	3.39	4.39
BTH	2.83 a	3.50 a	3.69	4.71
chitosan	2.67 a	3.06 abc	3.94	4.08
CaBSS	2.72 a	2.88 bc	3.41	4.63
F - test	*	**	ns	ns
CV	30.03	26.77	27.38	27.21
อาการโรคบนผักกวางตุ้งใบหยกภายหลังการปลูกเชื้อ (ฉีดสารชักนำความต้านทานแล้ว 2 วัน ก่อนปลูกเชื้อ AL2)				
control	2.56 a	3.78 a	3.71	4.31 a
CaB	1.61 b	2.78 ab	3.35	3.47 ab
BTH	1.72 b	3.33 ab	4.06	4.13 a
chitosan	1.61 b	2.61 b	3.06	3.20 b
CaBSS	1.67 b	3.17 ab	3.44	3.73 ab
F - test	**	ns	ns	ns
CV	44.51	45.27	38.88	30.23

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

[1/]ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตามวิธี Duncan's new multiple range test (DMRT) P = 0.05

[2/]ns = ไม่มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ

หมายเหตุ การประเมินระดับอาการโรคต้นกล้าผักตระกูลกะหล่ำอายุ 7 วัน

1 = ไม่เกิดอาการโร

2 = จุดช้ำบริเวณเนื้อใบโดยจุดช้ำเป็นลักษณะสีเขียวเข้มกว่าเนื้อใบ

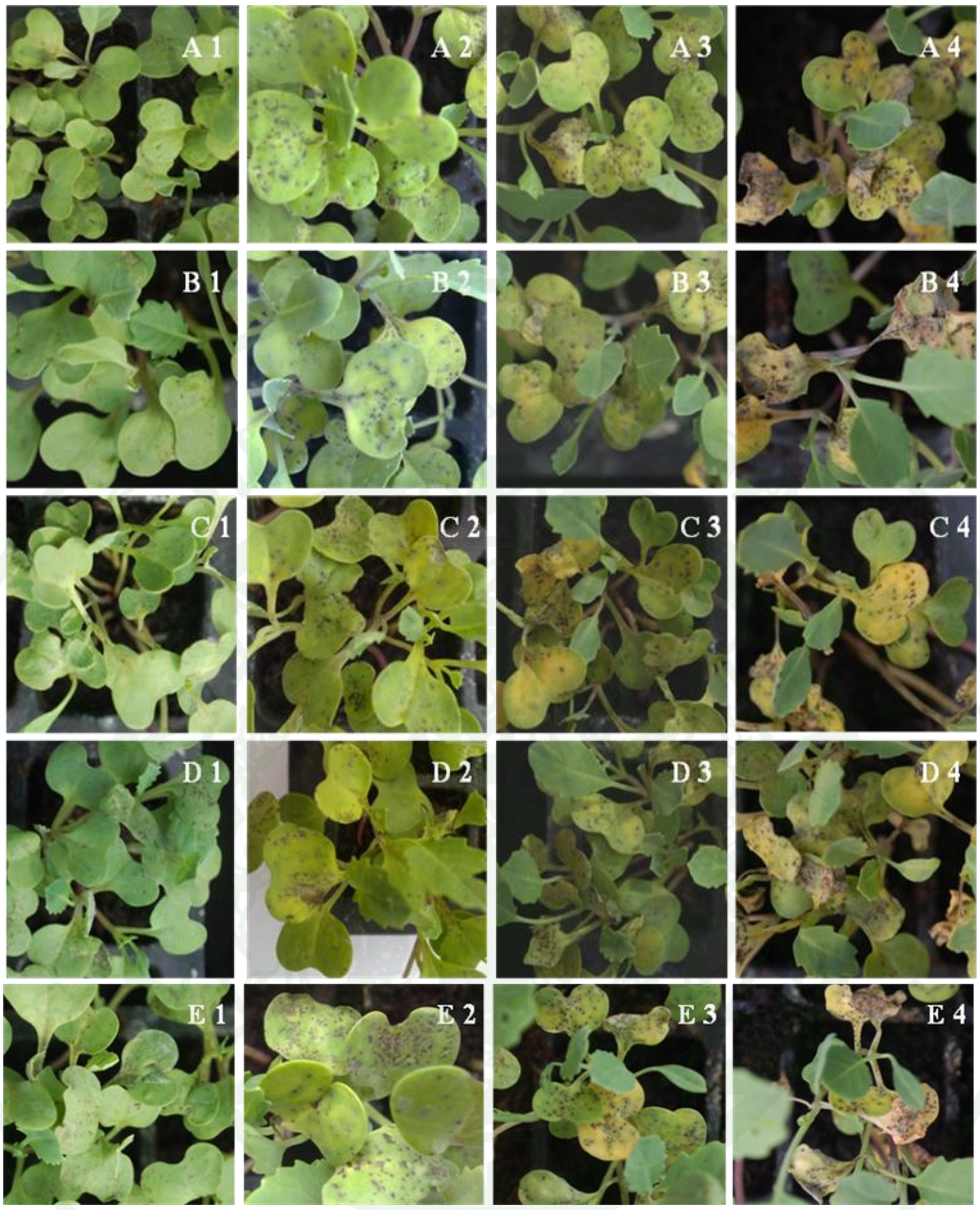
3 = ลักษณะอาการจุดช้ำพัฒนาเป็นสีดำขนาดเล็กมีฮาโล (halo) ล้อมรอบ ขอบใบเริ่มมีอาการเหลือง

4 = จุดแผลพัฒนาเป็นสีน้ำตาลมีขนาดใหญ่ขึ้น แผลเริ่มชนกันและเนื้อตรงกลางแผลเริ่มแห้งมีฮาโล (halo) ล้อมรอบ

5 = ใบแห้งเป็นสีน้ำตาลอมเทาแต่ก้านใบยังเป็นสีเหลืองอมเขียว

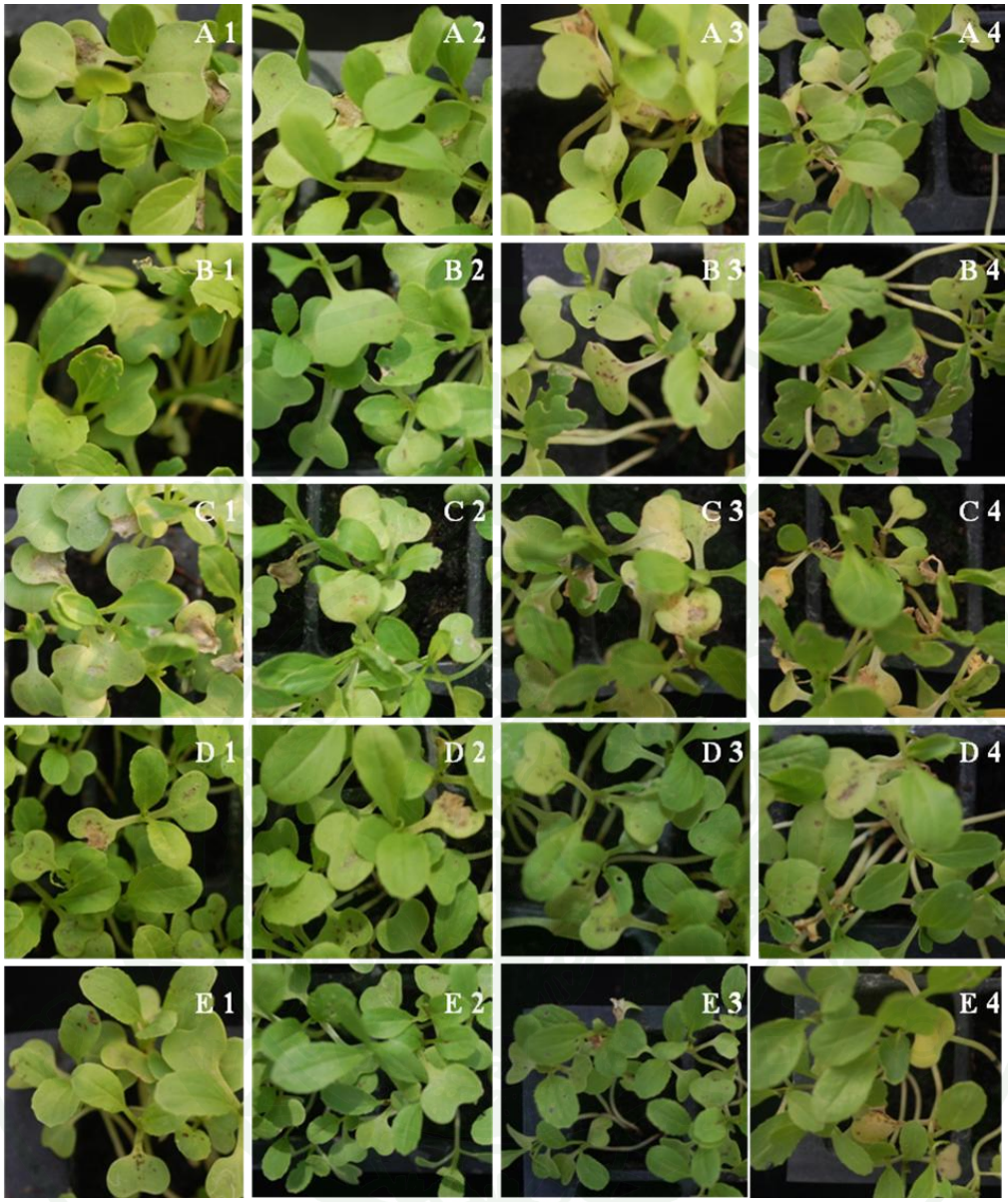
6 = ใบแห้งตาย ร่วง

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



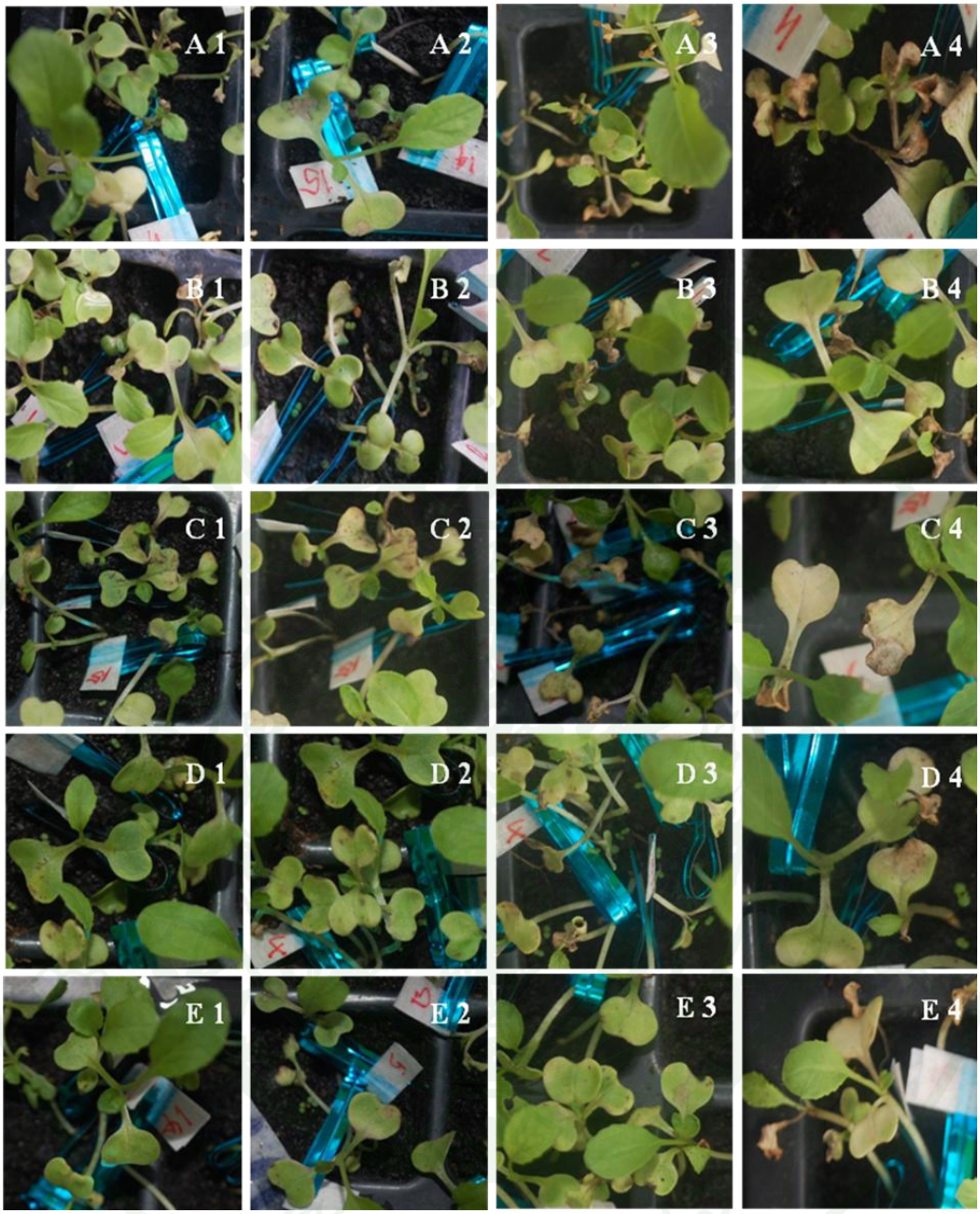
ภาพที่ 8 แสดงการพัฒนาอาการโรคของต้นกล้าคะน้าอายุ 7 วัน ที่ได้รับสารชักนำความต้านทาน (A) น้ำนึ่งฆ่าเชื้อ (B) CaB, (C) BTH, (D) chitosan และ (E) CaBSS แล้ว 2 วัน และปลูกเชื้อด้วยสารแขวนลอยโคนิเดีย *Alternaria brassicicola* ความเข้มข้น 10^5 โคนิเดียต่อมิลลิลิตร เมื่อระยะเวลาผ่านไป 1) ปลูกเชื้อแล้ว 2 วัน 2) ปลูกเชื้อแล้ว 3 วัน 3) ปลูกเชื้อแล้ว 4 วัน 4) ปลูกเชื้อแล้ว 5 วัน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 9 แสดงการพัฒนาอาการโรคของต้นกล้าผักกวางตุ้งฮ่องเต้อายุ 7 วัน ที่ได้รับสารชักนำความต้านทาน (A) น้ำนึ่งฆ่าเชื้อ (B) CaB, (C) BTH, (D) chitosan และ (E) CaBSS แล้ว 2 วัน และปลูกเชื้อด้วยสารแขวนลอยโคนิเดีย *Alternaria brassicicola* ความเข้มข้น 10^5 โคนิเดียต่อมิลลิลิตร เมื่อระยะเวลาผ่านไป 1) ปลูกเชื้อแล้ว 2 วัน 2) ปลูกเชื้อแล้ว 3 วัน 3) ปลูกเชื้อแล้ว 4 วัน 4) ปลูกเชื้อแล้ว 5 วัน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 10 แสดงการพัฒนาอาการโรคของต้นกล้าผักกวางตุ้งใบหยกอายุ 7 วัน ที่ได้รับสารชักนำความต้านทาน (A) น้ำนึ่งฆ่าเชื้อ (B) CaB, (C) BTH, (D) chitosan และ (E) CaBSS แล้ว 2 วัน และปลูกเชื้อด้วยสารแขวนลอยโคนิเดีย *Alternaria brassicicola* ความเข้มข้น 10^5 โคนิเดียต่อมิลลิลิตร เมื่อระยะเวลาผ่านไป 1) ปลูกเชื้อแล้ว 2 วัน 2) ปลูกเชื้อแล้ว 3 วัน 3) ปลูกเชื้อแล้ว 4 วัน 4) ปลูกเชื้อแล้ว 5 วัน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

3.2 การตรวจสอบตัวอย่างพืชในต้นกล้าอายุ 7 วัน ที่ได้รับสารชักนำความต้านทานและถูกเชื้อรา *Alternaria brassicicola* เข้าทำลาย

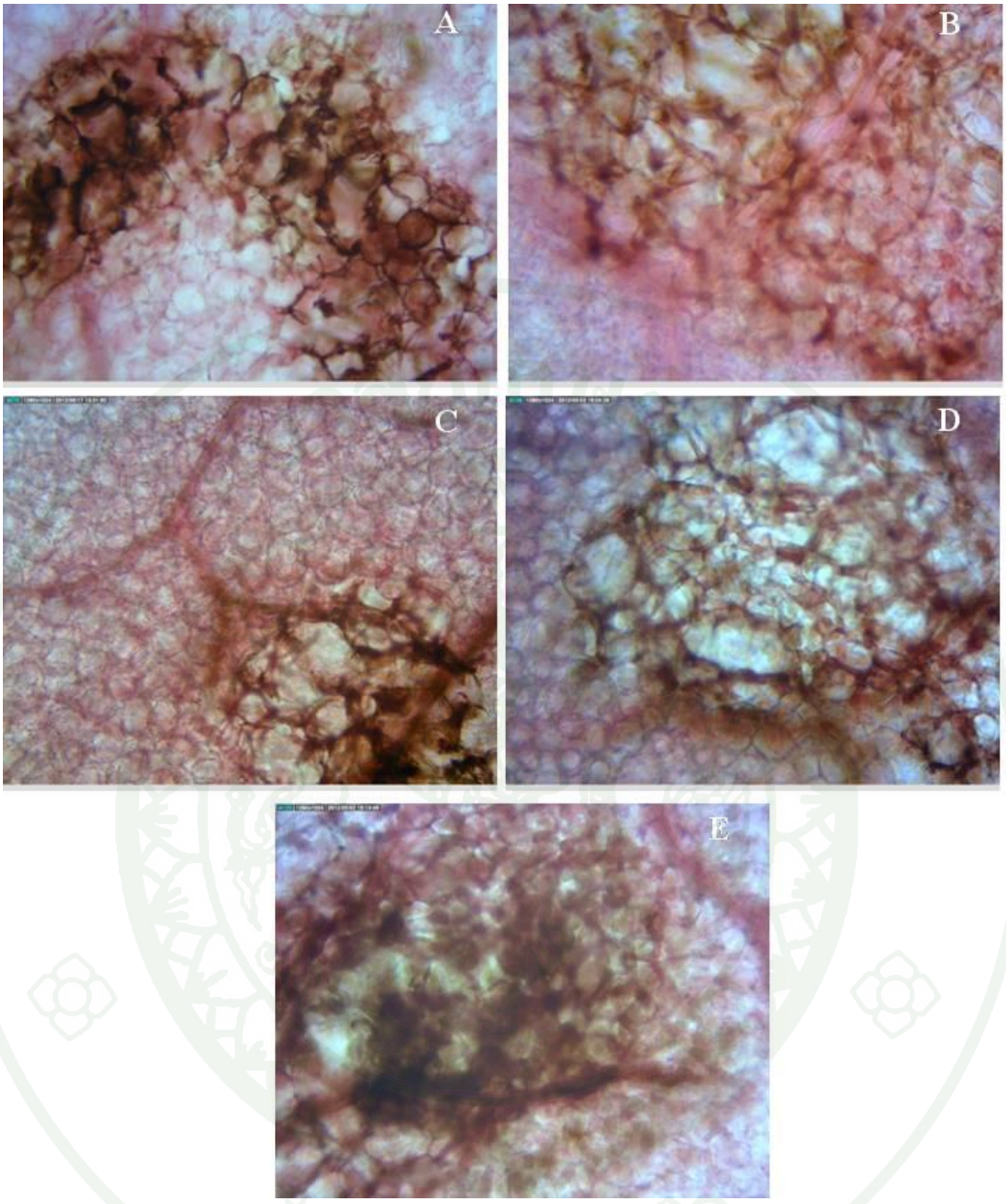
ทำการตรวจสอบลักษณะเนื้อเยื่อของพืชที่ผ่านการชักนำความต้านทานโดยการย้อมสีใบพืชที่ผ่านการฟอกสีมาแล้ว ดังแสดงภาพที่ 11, 12 และ 13 การตอบสนองของเนื้อเยื่อจากการเข้าทำลายในพืชทดสอบทั้ง 3 ชนิดจะมีความสอดคล้องกับผลการเกิดโรคที่ตรวจประเมินด้วยสายตา (ตารางที่ 7) โดยเนื้อเยื่อผักคะน้าจะมีลักษณะเซลล์สีน้ำตาลในปริมาณที่มากกว่า (ภาพที่ 11) รองลงมาคือผักกวางตุ้งใบหยก (ภาพที่ 12) และผักกวางตุ้งฮ่องเต้ (ภาพที่ 13) จะมีการตอบสนองน้อยที่สุด ลักษณะเซลล์สีน้ำตาลในพืชจะเป็นลักษณะที่บ่งบอกถึงเซลล์ที่มีการสะสมสารกลุ่มฟีนอลหรือเกิด lignifications ซึ่งจะมีการสะสมภายนอกระหว่างเซลล์ ในขณะที่เซลล์พืชเริ่มตายก็จะมีเซลล์ที่เปลี่ยนสีไปเป็นสีน้ำตาลเช่นกันแต่จะอยู่ภายในเซลล์ เมื่อพิจารณาเซลล์ผักคะน้าที่ผ่านการชักนำความต้านทานแล้ว 5 วันและผ่านการปลูกเชื้อแล้ว 3 วันจะพบว่าในชุดควบคุมจะพบเซลล์พืชตายเนื่องจากเซลล์มีสีน้ำตาลบริเวณกลางเซลล์จำนวนมาก ในขณะที่ผักคะน้าที่ได้รับ CaB, BTH และ chitosan จะมีเซลล์ที่สะสมฟีนอลมากกว่า ยกเว้นเซลล์พืชที่ได้รับสาร CaBSS ลักษณะเช่นนี้ยังพบในผักกวางตุ้งใบหยกที่ได้รับสารชักนำความต้านทาน CaB, BTH และ chitosan แต่ในผักกวางตุ้งฮ่องเต้จะพบว่าสารชักนำความต้านทานที่ใช้มีผลต่อพืชโตได้ดีกว่า

จากการศึกษาของ Daniel and Guest (2006) พบว่าหลังจากปลูกเชื้อด้วย zoospore ของเชื้อรา *Phytophthora palmivora* ในชุดควบคุมและชุดที่รับสาร phosphate ใน *Arabidopsis thaliana* เกิดปฏิกิริยาป้องกันตัวอย่างรวดเร็วในชุดที่ได้รับสารซึ่งมีกิจกรรมเพิ่มขึ้นใน cytoplasm และการเคลื่อนที่และรวมตัวของนิวเคลียสและ cytoplasm ไปยังจุดที่มีเชื้อเข้าทำลายทำให้เชื้อราถูกจำกัดบริเวณอยู่ภายนอกเซลล์ เส้นใยเกิดการบวมพองและไม่สามารถพัฒนาเป็น haustorium แทงเข้าสู่เนื้อเยื่อท่อลำเลียงได้ นอกจากนี้พืชที่ได้รับสารยังปลดปล่อย superoxide เกิดเซลล์ตายเฉพาะจุดและเกิดการสะสมสารประกอบ phenol รอบๆเซลล์ที่เชื้อเข้าทำลาย โดยตรวจพบเมื่อย้อมเนื้อเยื่อชุดควบคุมเปรียบเทียบกับชุดที่ได้รับสารด้วย toluidine blue พบว่าชุดที่ได้รับสารติดสีเข้มบริเวณที่เชื้อเข้าทำลายชัดเจนกว่าชุดควบคุมและเมื่อส่องภายใต้ UV และ blue light พบว่าจุดที่เชื้อเข้าทำลายเห็นบริเวณที่มีการสะสมสารประกอบ phenol อย่างชัดเจน ซึ่งการศึกษาของ Jeun *et al* (2004) ก็พบว่าการใช้ plant growth – promoting rhizobacteria (PGPR) สายพันธุ์ *Serratia marcescens* (90-166) และ *Pseudomonas fluorescens* (89B61) กับต้นแตงกวาเพื่อป้องกันโรคแอนแทรคโนส จากเชื้อรา *Colletotrichum orbiculare* สามารถลดอาการโรคและเมื่อศึกษาบริเวณเนื้อเยื่อที่ถูกเชื้อเข้าทำลายด้วยกล้อง fluorescent พบการติดสีของ autofluorescent เป็นจำนวนมากบริเวณชั้น epidermis ซึ่งมี

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

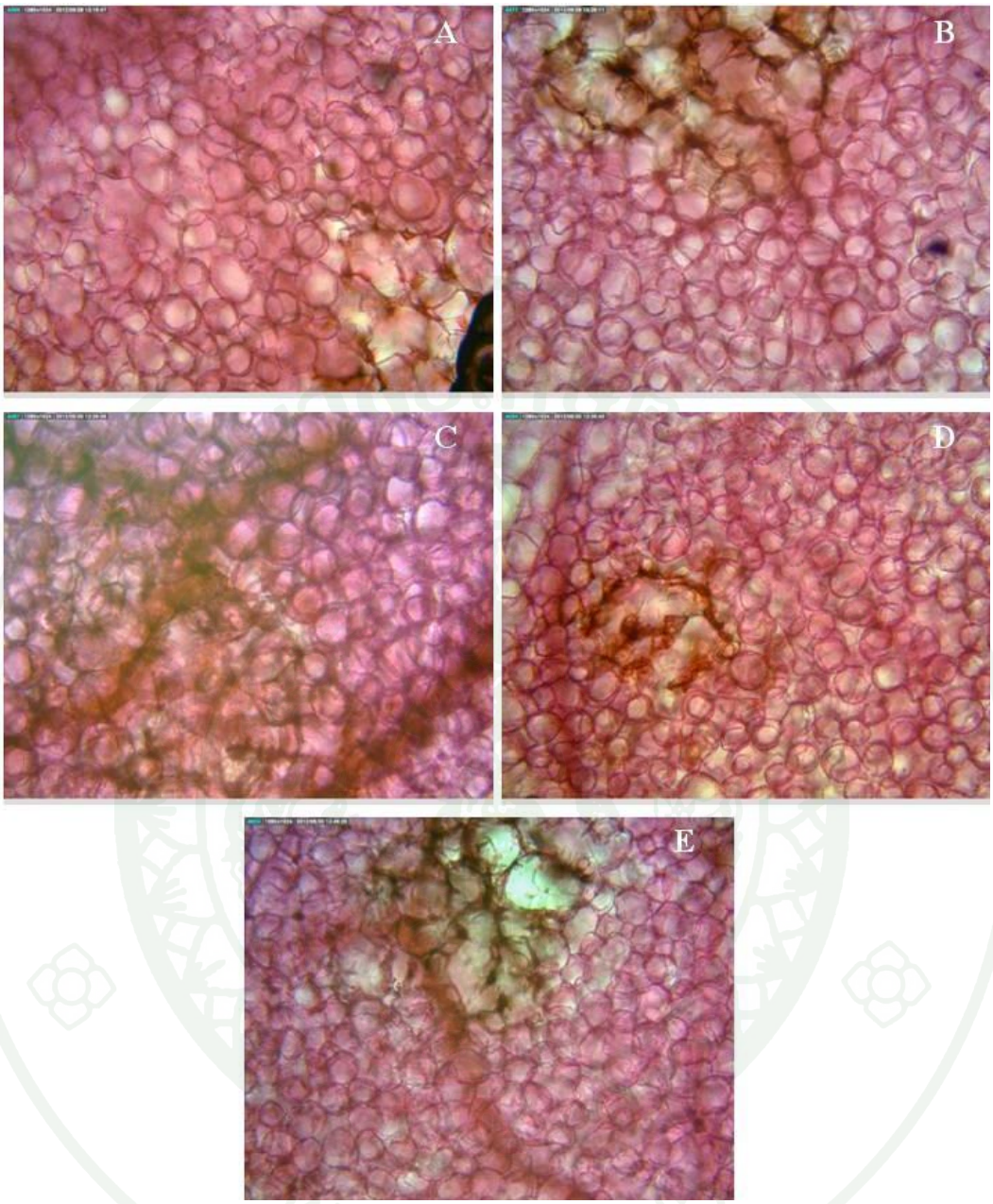
ความเกี่ยวกับการสะสมสารประกอบ phenol ที่บริเวณที่มีการแทงของเชื้อราในพืชที่ได้รับการชักนำให้ต้านทานด้วย PGPR และเทอดพันธุ์ (2548) พบว่าการการฉีด Bion ความเข้มข้น 0.05 กรัมต่อลิตรแล้ว 24 ชั่วโมง ปลูกเชื้อด้วย *A. brassicicola* ช่วยลดการแทงของ germ tube และ appressoria ผ่านผิวใบโดยตรงในผักกวางตุ้งฮ่องเต้และผักกวางตุ้งฮ่องกง และยังพบลักษณะของเซลล์ผิวใบของผักทั้ง 2 ชนิดเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลซึ่งเชื้อราไม่สามารถเข้าไปเจริญในเซลล์ที่เปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลได้

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



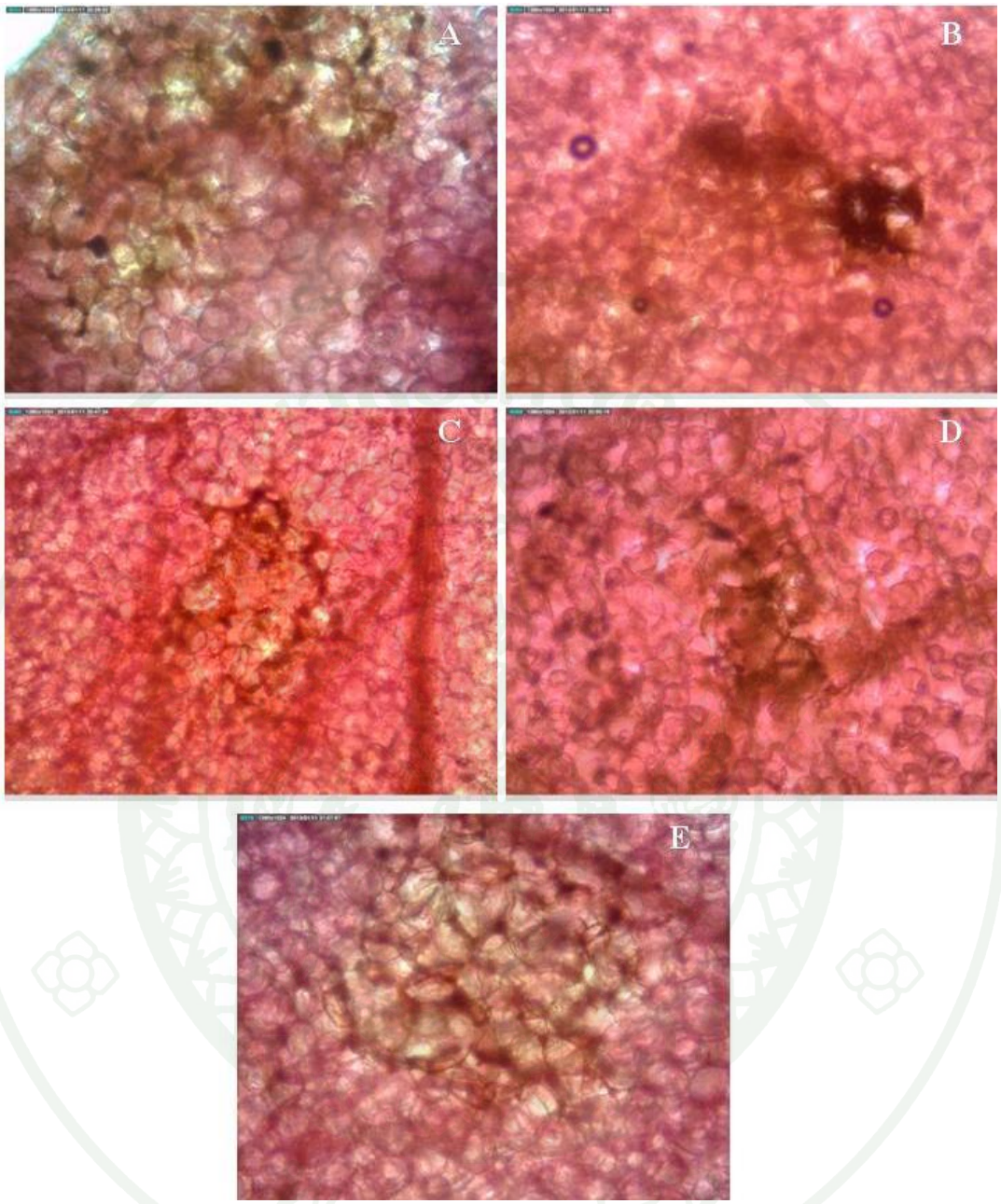
ภาพที่ 11 เนื้อเยื่อใบของต้นกล้าผักคะน้าอายุ 7 วัน ที่ได้รับสารชักนำความต้านทานแล้ว 5 วัน ปลูกเชื้อ *Alternaria brassicicola* แล้ว 3 วัน เนื้อเยื่อใบที่ย้อมด้วยสี acid fuchsin ใน lactophenol A) ชุดควบคุม, B) CaB, C) BTH, D) chitosan และ E) CaBSS

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 12 เนื้อเยื่อใบของต้นกล้าผักกวางตุ้งฮ่องเต้อายุ 7 วัน ที่ได้รับสารชักนำความต้านทานแล้ว 5 วัน ปลูกเชื้อ *Alternaria brassicicola* แล้ว 3 วัน เนื้อเยื่อใบที่ย้อมด้วยสี acid fuchsin ใน lactophenol A) ชุดควบคุม, B) CaB, C) BTH, D) chitosan และ E) CaBSS

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



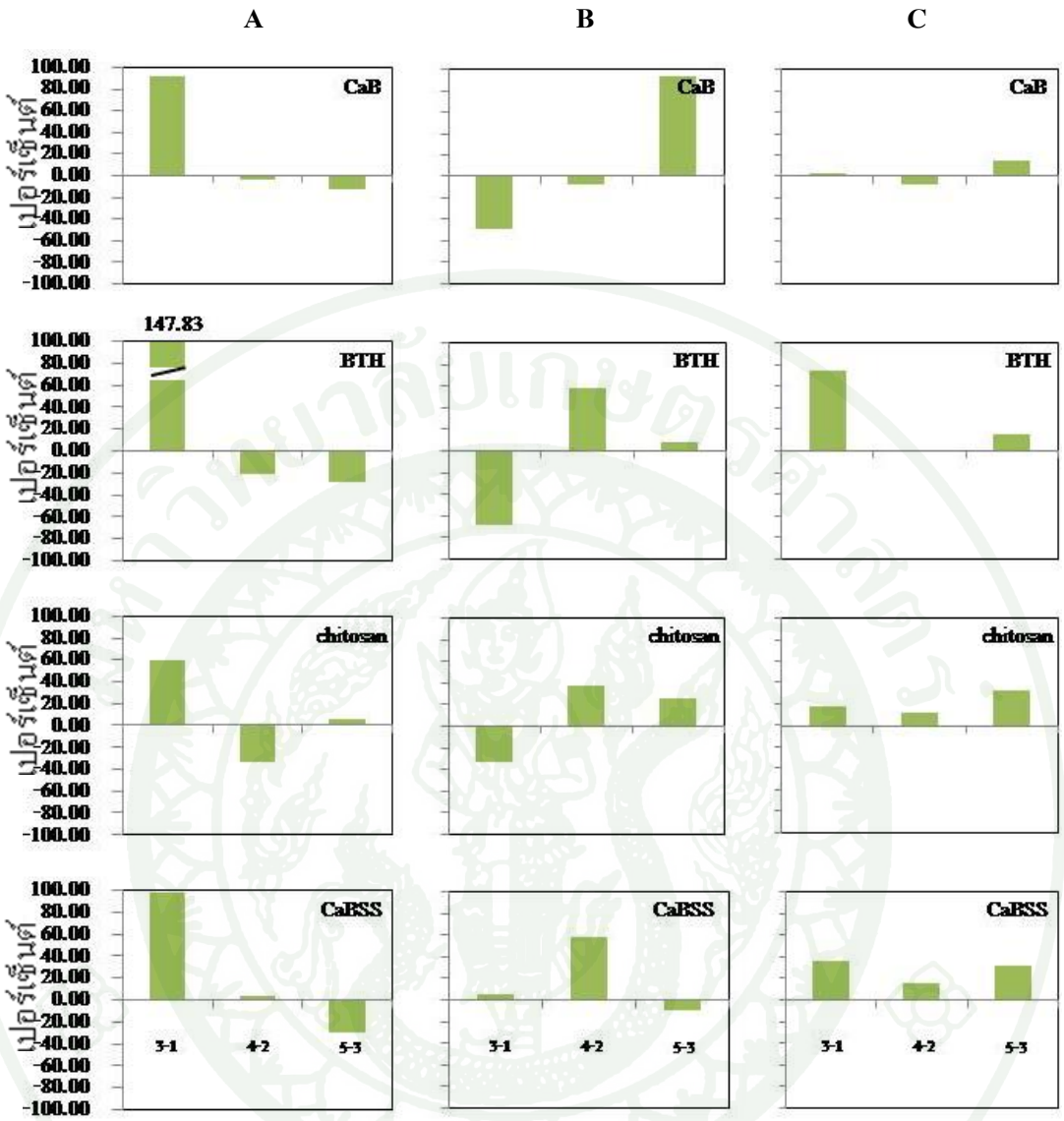
ภาพที่ 13 เนื้อเยื่อใบของต้นกล้าผักกวางตุ้งใบหยกอายุ 7 วันที่ได้รับสารชักนำความต้านทานแล้ว 5 วัน ปลูกเชื้อ *Alternaria brassicicola* แล้ว 3 วัน เนื้อเยื่อใบที่ย้อมด้วยสี acid fuchsin ใน lactophenol A) ชุดควบคุม, B) CaB, C) BTH, D) chitosan และ E) CaBSS

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

3.3 การเปลี่ยนแปลงของกิจกรรมเอนไซม์ในต้นกล้าผักตระกูลกะหล่ำอายุ 7 วัน ที่ได้รับสารชักนำความต้านทาน

3.3.1 การเปลี่ยนแปลงของกิจกรรมเอนไซม์ ppo ที่เวลา 2, 3, 4 และ 5 วัน หลังจากฉีดสารชักนำความต้านทานให้ต้นกล้าผักคะน้า ผักกวางตุ้งฮ่องเต้และผักกวางตุ้งใบหยกอายุ 7 วัน ด้วย CaB, BTH, chitosan และ CaBSS แล้ว 2 วัน จึงปลูกเชื้อรา *A. brassicicola*เชื้อ เทียบกับชุดการทดลองที่ฉีดสารชักนำความต้านทานโดยไม่ได้ทำการปลูกเชื้อ พบการเปลี่ยนแปลงของกิจกรรมเอนไซม์ ppo ดังแสดงในภาพที่ 14, 15 และ 16 โดยการเปลี่ยนแปลงของกิจกรรมเอนไซม์ ppo ในผักคะน้าเกิดการเปลี่ยนแปลงมากที่สุดในวันที่ได้รับสารชักนำความต้านทานแล้ว 3 วัน ปลูกเชื้อ 1 วัน พืชที่ได้รับสารชักนำความต้านทาน BTH, CaBSS, CaB และ chitosan ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงกิจกรรมเอนไซม์เท่ากับ 147.83, 97.31, 91.51 และ 59.91 เปอร์เซ็นต์ ผักกวางตุ้งฮ่องเต้เกิดการเปลี่ยนแปลงกิจกรรมเอนไซม์ในวันที่ได้รับสารชักนำความต้านทาน 4 วัน ปลูกเชื้อ 2 วัน และรับสารแล้ว 5 วัน ปลูกเชื้อ 3 วัน สารชักนำความต้านทาน CaBSS, BTH และ chitosan ที่ฉีดพ่นให้แก่ต้นกล้าแล้ว 4 วัน ปลูกเชื้อ 1 วัน เกิดการเปลี่ยนแปลงของกิจกรรมเอนไซม์ 58.96, 57.76 และ 36.78 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเวลาผ่านไป 5 วัน ปลูกเชื้อ 3 วัน การเปลี่ยนแปลงของกิจกรรมเอนไซม์เกิดขึ้น 92.16, 25.73 และ 8.27 เปอร์เซ็นต์ เมื่อต้นกล้าได้รับสารชักนำความต้านทาน CaB, chitosan และ BTH การเปลี่ยนแปลงกิจกรรมเอนไซม์ ppo ของผักกวางตุ้งใบหยกพบเกิดมากวันที่ได้รับสาร 3 วันปลูกเชื้อ 1 วัน และรับสาร 5 วัน ปลูกเชื้อ 3 วัน หลังจากได้รับสาร BTH, CaBSS, chitosan และ CaB แล้ว 3 วัน ปลูกเชื้อ 1 วัน เกิดการเปลี่ยนแปลงของกิจกรรมเอนไซม์ 74.65, 36.10, 17.47 และ 2.74 เปอร์เซ็นต์ เมื่อระยะเวลาการได้รับสาร CaBSS, chitosan, BTH และ CaB นาน 5 วัน ปลูกเชื้อ 3 วัน เกิดการเปลี่ยนแปลงของกิจกรรมเอนไซม์ 32.31, 32.18, 15.97 และ 14.39 เปอร์เซ็นต์

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

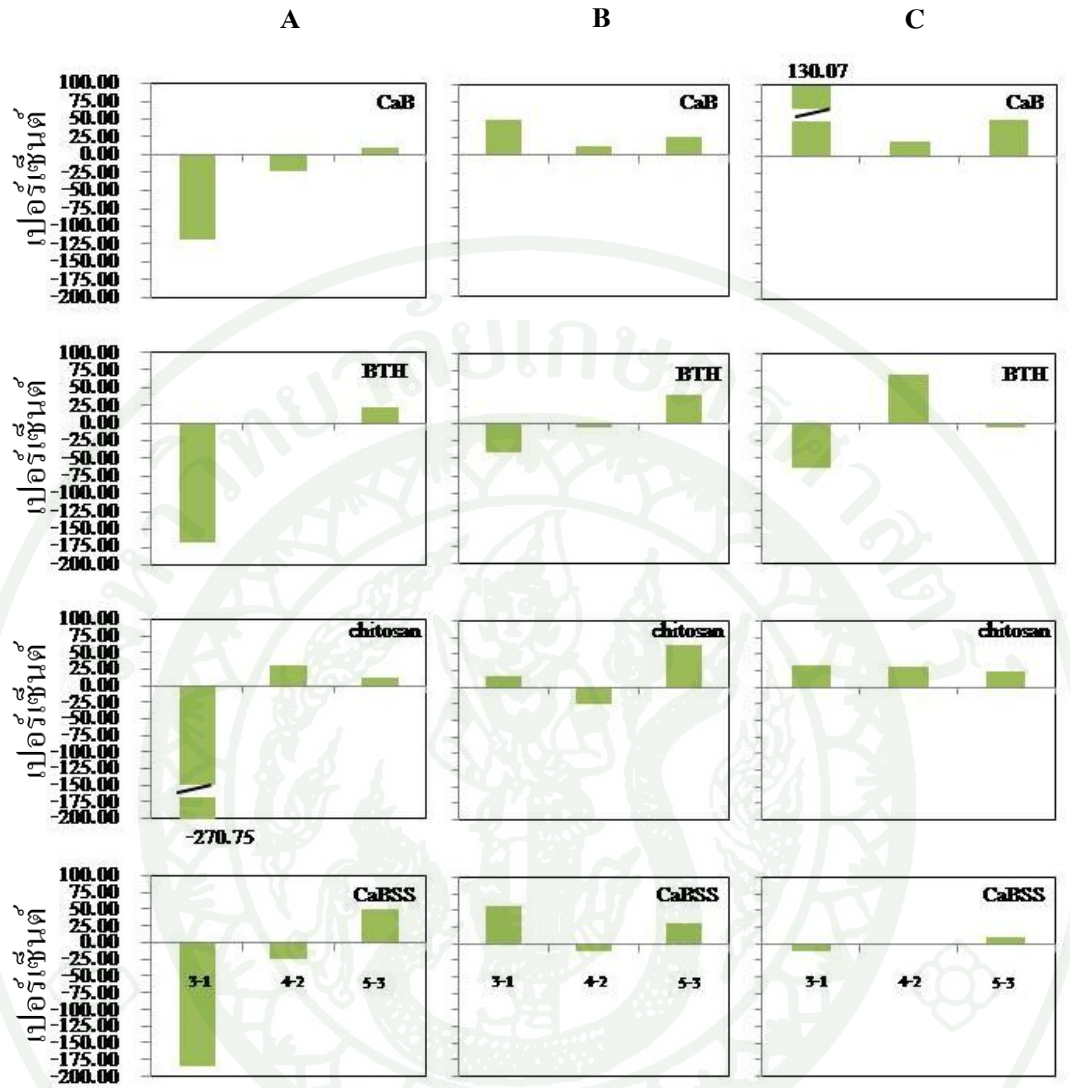


ภาพที่ 14 เปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนแปลงของกิจกรรมเอนไซม์ polyphenoloxidase (ppo) ระหว่างพืชที่ได้รับสารชักนำความต้านทานและปลูกเชื้อ *Alternaria brassicicola* เปรียบเทียบกับพืชที่ได้รับสารชักนำความต้านทาน ทดสอบใน A) ผักคะน้า B) ผักกวางตุ้งฮ่องเต้ และ C) ผักกวางตุ้งใบหยกโดยสภาพที่ได้รับสารชักนำความต้านทานแล้วที่ระยะเวลาต่างกัน ดังนี้ 3-1) พืชได้รับสารชักนำความต้านทาน 3 วัน และได้รับเชื้อ 1 วัน 4-2) พืชได้รับสารชักนำความต้านทาน 4 วัน และได้รับเชื้อ 2 วัน 5-3) พืชได้รับสารชักนำความต้านทาน 5 วัน และได้รับเชื้อ 3 วัน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

3.3.2 การเปลี่ยนแปลงของกิจกรรมเอนไซม์ pox ของผักคะน้า ผักกวางตุ้งฮ่องเต้ และผักกวางตุ้งใบหยกดังแสดงในภาพที่ 15 กิจกรรมเอนไซม์ pox เกิดการเปลี่ยนแปลงสูงที่สุดหลังจากผักคะน้าได้รับสารชักนำความต้านทานแล้ว 5 วัน ปลูกเชื้อ 3 วัน ด้วยสารชักนำความต้านทาน CaBSS, BTH, CaB และ chitosan เกิดการเปลี่ยนแปลงกิจกรรมเอนไซม์เท่ากับ 50.15, 23.19, 13.39 และ 10.16 เปอร์เซ็นต์ ผักกวางตุ้งฮ่องเต้ที่ได้รับสารชักนำความต้านทาน chitosan, BTH, CaBSS และ CaB แล้ว 5 วัน ปลูกเชื้อ 3 วัน เกิดการเปลี่ยนแปลงกิจกรรมเอนไซม์มากขึ้นเท่ากับ 64.74, 39.74, 31.08 และ 26.69 เปอร์เซ็นต์ และผักกวางตุ้งใบหยกที่ได้รับสาร BTH, chitosan CaB และ CaBSS แล้ว 4 วัน และปลูกเชื้อ 2 วัน กิจกรรมเอนไซม์เกิดการเปลี่ยนแปลงเท่ากับ 69.51, 31.62, 21.60 และ 0.13 เปอร์เซ็นต์ สารชักนำความต้านทาน CaB ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงกิจกรรมเอนไซม์ pox เพิ่มขึ้นในผักทั้ง 3 ชนิด โดยในผักกวางตุ้งฮ่องเต้และผักกวางตุ้งใบหยกจะเกิดการเปลี่ยนแปลงกิจกรรมเอนไซม์เพิ่มขึ้นทุกวันของการตรวจกิจกรรมเอนไซม์ แต่ในผักคะน้าสารชักนำความต้านทาน CaB จะเกิดมากในวันที่ได้รับสารแล้ว 5 วันปลูกเชื้อ 3 วัน เท่านั้น

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

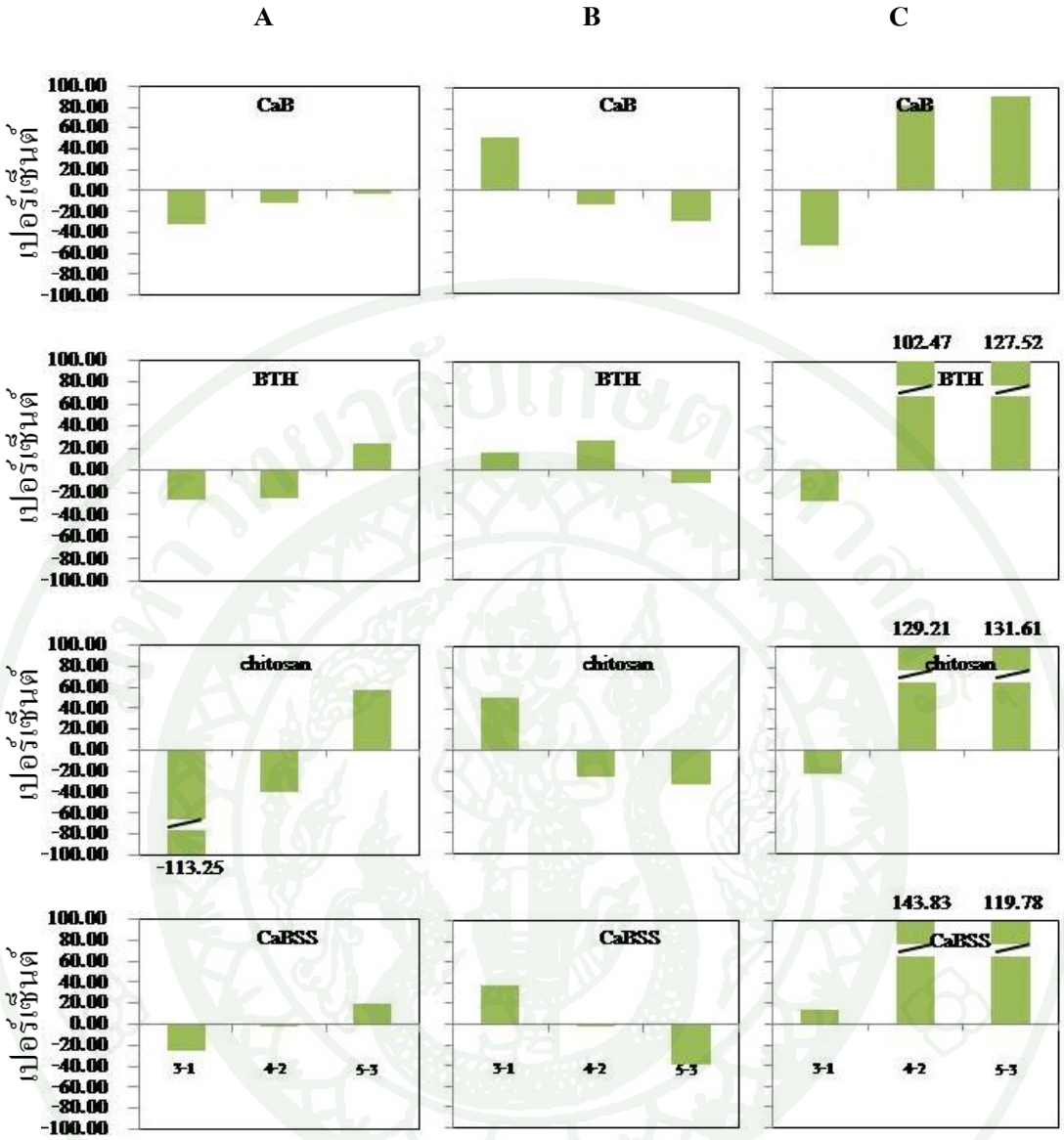


ภาพที่ 15 เปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนแปลงของกิจกรรมเอนไซม์ peroxidase (pox) ระหว่างพืชที่ได้รับสารชักนำความต้านทานและปลูกเชื้อ *Alternaria brassicicola* เปรียบเทียบกับพืชที่ได้รับสารชักนำความต้านทาน ทดสอบใน A) ผักคะน้า B) ผักกวางตุ้งฮ่องเต้ และ C) ผักกวางตุ้งใบหยก โดยสภาพที่ได้รับสารชักนำความต้านทานแล้วที่ระยะเวลาต่างกันดังนี้ 3-1) พืชได้รับสารชักนำความต้านทาน 3 วัน และได้รับเชื้อ 1 วัน 4-2) พืชได้รับสารชักนำความต้านทาน 4 วัน และได้รับเชื้อ 2 วัน 5-3) พืชได้รับสารชักนำความต้านทาน 5 วัน และได้รับเชื้อ 3 วัน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

3.3.3 การเปลี่ยนแปลงของกิจกรรมเอนไซม์ pal ของผักคะน้า ผักกวางตุ้งฮ่องเต้และผักกวางตุ้งใบหยก พบว่ากิจกรรมเอนไซม์ pal ของผักคะน้าเกิดการเปลี่ยนแปลงมากที่สุดในวันที่ได้รับสารชักนำความต้านทาน chitosan, BTH และ CaBSS แล้ว 5 วัน ปลูกเชื้อ 3 วัน ทำให้การเปลี่ยนแปลงของกิจกรรมเอนไซม์เกิดขึ้นเท่ากับ 57.32, 23.87 และ 19.70 เปอร์เซ็นต์ ผักกวางตุ้งฮ่องเต้ที่ตรวจกิจกรรมเอนไซม์ pal พบว่าเกิดมากที่สุดหลังจากได้รับสารแล้ว 3 วัน ปลูกเชื้อ 1 วัน ซึ่งเกิดการเปลี่ยนแปลงของกิจกรรมเอนไซม์เท่ากับ 52.32, 50.35, 37.12 และ 16.78 เปอร์เซ็นต์ เมื่อต้นกล้าได้รับสารชักนำความต้านทาน CaB, chitosan, CaBSS และ BTH สำหรับการเปลี่ยนแปลงกิจกรรมเอนไซม์ของผักกวางตุ้งใบหยกที่ได้รับสารชักนำความต้านทาน CaBSS, chitosan, BTH และ CaB แล้ว 4 วัน ปลูกเชื้อ 2 วัน เกิดการเปลี่ยนกิจกรรมเอนไซม์ 143.83, 129.21, 102.47 และ 81.93 เปอร์เซ็นต์ และเกิดการเปลี่ยนแปลงกิจกรรมเอนไซม์ pal เกิดเมื่อต้นกล้าได้รับสาร chitosan, BTH, CaBSS และ CaB แล้ว 5 วัน ปลูกเชื้อ 3 วัน ซึ่งมีการเปลี่ยนแปลงกิจกรรมเอนไซม์เกิดขึ้น 131.61, 127.52, 119.78 และ 90.69 เปอร์เซ็นต์

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 16 เปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนแปลงของกิจกรรมเอนไซม์ polyphenylalanine ammonia lyase (pal) ระหว่างพืชที่ได้รับสารชักนำความต้านทานและปลูกเชื้อ *Alternaria brassicicola* เปรียบเทียบกับพืชที่ได้รับสารชักนำความต้านทานทดสอบใน A) ผักคะน้า B)ผักกวางตุ้งฮ่องเต้ และ C) ผักกวางตุ้งใบหยก โดยสภาพที่ได้รับสารชักนำความต้านทานแล้วที่ระยะเวลาต่างกันดังนี้ 3-1) พืชได้รับสารชักนำความต้านทาน 3 วัน และได้รับเชื้อ 1 วัน 4-2) พืชได้รับสารชักนำความต้านทาน 4 วัน และได้รับเชื้อ 2 วัน 5-3) พืชได้รับสารชักนำความต้านทาน 5 วัน และได้รับเชื้อ 3 วัน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การตอบสนองของพืชโดยการสังเกตการเปลี่ยนแปลงกิจกรรมเอนไซม์เป็นวิธีการหนึ่งที่ใช้ในการพิจารณาการตอบสนองของพืชดังเช่นการตรวจวัดกิจกรรมเอนไซม์ ppo, pox และ pal ต้นกล้าถั่วเหลือง 4 สายพันธุ์ที่ได้รับการแช่สารละลาย BTH, BTH ผสม humic acid และสารละลาย humic acid ในขณะเป็นเมล็ด มีกิจกรรมเอนไซม์ pox เพิ่มสูงขึ้น แต่กิจกรรมเอนไซม์ pox เพิ่มสูงที่สุดเมื่อแช่ในสารละลาย BTH ผสม humic acid รองลงมาคือสารละลาย BTH และเมื่อพิจารณาจากสายพันธุ์ของถั่วเหลืองพบว่า สายพันธุ์ Giza 111 มีการเกิดกิจกรรมเอนไซม์ทั้ง 3 ชนิดสูงที่สุด (Abdel-Monaim *et al*., 2011) นอกจากนี้ยังพบว่าการใช้ BTH ในต้นทานตะวันที่มีการพัฒนาความต้านทานต่างกัน 3 สายพันธุ์ คือ พันธุ์อ่อนแอ พันธุ์ต้านทานบางส่วน และ พันธุ์ต้านทานสมบูรณ์ ก่อนการปลูกเชื้อรา *Plasmopara halstedii* สาเหตุโรคราน้ำค้าง เกิดกิจกรรมเอนไซม์ ppo เพิ่มขึ้นเมื่อได้รับสารแล้วเป็นเวลา 3 ถึง 13 วันแล้วจึงลดลงในพันธุ์อ่อนแอและพันธุ์ต้านทานบางส่วน ขณะที่พันธุ์ต้านทานสมบูรณ์เมื่อได้รับสาร BTH ทำให้เกิดผลตรงกันข้ามคือกิจกรรมเอนไซม์ ppo สูงขึ้นหลังจากวันที่ 13 กิจกรรมเอนไซม์ pox พบว่าการได้รับสาร BTH ก่อนแล้วปลูกเชื้อในทานตะวันทั้ง 3 สายพันธุ์ เกิดกิจกรรมเอนไซม์น้อยกว่าในชุดการทดลองที่ได้รับเชื้อเพียงอย่างเดียว (KÖrÖsi *et al*., 2011)

การใช้สารชักนำความต้านทานโดยวิธีอื่นๆเช่น การใช้กรด Abscisic (ABA) ในการยกระดับความต้านทานต่อเชื้อรา *A. solani* ในต้นกล้ามะเขือเทศ พบว่า ABA ความเข้มข้น 7.58 ไมโครโมล มีประสิทธิภาพในการลดความรุนแรงของอาการโรคในมะเขือเทศและจะพบว่ากิจกรรมเอนไซม์ ppo, pox และ pal เพิ่มขึ้นหลังจากให้ ABA ทางใบ กิจกรรมเอนไซม์ pal เกิดสูงที่สุดในวันที่ 2 เมื่อให้สาร ABA ร่วมกับการปลูกเชื้อ กิจกรรมเอนไซม์ pox เกิดขึ้น 1.87 เท่าและ 2.77 เท่าหลังจากให้ ABA แล้ว 2 และ 4 วัน ต่อจากนั้นกิจกรรมเอนไซม์จะลดลงอย่างรวดเร็ว การทดลองให้สาร ABA ร่วมกับเชื้อรากิจกรรมเอนไซม์เพิ่มสูงขึ้น 2.47 เท่า และ 3.15 เท่า กิจกรรมเอนไซม์ ppo เกิดสูงที่สุดในวันที่ 2 หลังจากได้รับ ABA สำหรับการได้รับ ABA ร่วมกับเชื้อราทำให้เกิดกิจกรรมเอนไซม์สูงมากในวันที่ 3 และ 4 ซึ่งมีค่ากิจกรรมเอนไซม์ 3.52 และ 2.91 เท่า (Song *et al*., 2011)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

3.4 การเปลี่ยนแปลงความสูงในต้นกล้าผักตระกูลกะหล่ำอายุ 7 วัน ที่ได้รับสารชักนำความต้านทาน

เมื่อทำการตรวจวัดความสูงของต้นกล้าผักทั้ง 3 ชนิดที่อายุ 7 วัน ภายหลังที่ได้รับสารชักนำความต้านทานดังแสดงในตารางที่ 8 พบว่าผักคะน้าที่ได้รับสารชักนำความต้านทาน CaB, BTH, chitosan, CaBSS และชุดควบคุมน้ำนึ่งฆ่าเชื้อที่ไม่ทำการปลูกเชื้อรา และชุดการทดลองที่ได้รับสารชักนำความต้านทานแล้วปลูกเชื้อ *A. brassicicola* ในทุกช่วงระยะการตรวจวัดจะพบความสูงที่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ โดยพบว่าความสูงครั้งสุดท้ายในวันที่ต้นกล้าได้รับสารชักนำความต้านทานแล้ว 9 วัน มีความสูงเฉลี่ย 8.45, 10.5, 9.46, 8.43 และ 8.18 เซนติเมตร ความสูงของต้นกล้าผักคะน้าที่ฉีดสารชักนำความต้านทาน CaB, BTH, chitosan, CaBSS และชุดควบคุมน้ำนึ่งฆ่าเชื้อ 2 วัน และปลูกเชื้อรา *A. brassicicola* มีความสูงเฉลี่ยเพิ่มขึ้นแต่เพิ่มขึ้นน้อยกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับชุดการทดลองที่ได้รับสารชักนำความต้านทานแล้วไม่ปลูกเชื้อ ความสูงของการชุดการทดลองที่ได้รับสารชักนำความต้านทานแล้ว 9 วัน และปลูกเชื้อ 6 วัน มีความสูงเท่ากับ 6.63, 7.32, 6.03, 6.89 และ 7.84 เซนติเมตร

เมื่อทำการวัดความสูงของต้นกล้าผักกวางตุ้งฮ่องเต้ที่อายุ 7 วัน พบว่าสารชักนำความต้านทานทุกชนิดทำให้ต้นกล้ามีอัตราความสูงเฉลี่ยทุกช่วงระยะการตรวจวัดมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ โดยมีความสูงเฉลี่ยของต้นกล้าครั้งสุดท้ายที่ได้รับสารชักนำความต้านทานแล้ว 9 วัน และไม่ได้ปลูกเชื้อรามีความสูงเฉลี่ย 5.1, 6.63, 6.47, 5.38 และ 5.96 เซนติเมตร และความสูงเฉลี่ยของต้นกล้าผักกวางตุ้งฮ่องเต้ที่ได้รับสารชักนำความต้านทานแล้ว 9 วัน และปลูกเชื้อ 6 วัน มีความสูงเฉลี่ย 5.6, 5.53, 5.45, 5.59 และ 5.36 เซนติเมตร

ความสูงของต้นกล้ากวางตุ้งใบหยกอายุ 7 วัน ที่ได้รับสารชักนำความต้านทานมีความสูงเฉลี่ยแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อตรวจวัดความสูงต้นกล้ามีความสูงเฉลี่ยของต้นกล้าผักที่ได้รับสารชักนำความต้านทานแล้ว 9 วัน โดยไม่ได้ปลูกเชื้อราเท่ากับ 3.53, 3.73, 3.89, 4.71 และ 5.11 เซนติเมตร ความสูงของต้นกล้าที่ได้รับสารชักนำความต้านทานและปลูกเชื้อมีความสูงเฉลี่ย 3.53, 3.22, 3.4, 4.91 และ 4.46 เซนติเมตร

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 8 ความสูงทรงพุ่มของต้นกล้าผักคะน้า ผักกวางตุ้งฮ่องเต้และผักกวางตุ้งใบหยกอายุ 7 วัน ที่ได้รับสารชักนำความต้านทาน

ความสูงทรงพุ่มของต้นกล้าผักคะน้าที่ฉีดสารชักนำความต้านทาน อายุ 7 วัน (เซนติเมตร)			
	ฉีดสารแล้ว 3 วัน	**ฉีดสารแล้ว 6 วัน**	**ฉีดสารแล้ว 9 วัน**
control	6.48 bc[3/]	6.80 bcd	8.45 bc
CaB[1/]	8.38 a	8.71 a	10.50 a
BTH	8.01 a	9.08 a	9.46 ab
chitosan	6.13 bc	6.77 bcd	8.43 bc
CaBSS	6.18 bc	6.96 bc	8.18 bcd
CaB/Di[2/]	5.91 bc	6.37 bcd	7.32 cdef
BTH/Di	5.51 c	6.06 cd	6.03 f
chitosan/Di	5.94 bc	6.49 bcd	6.89 def
CaBSS/Di	6.79 b	7.43 b	7.84 cde
F-test	***	***	***
CV	20.89	21.60	23.95
ความสูงทรงพุ่มของต้นกล้าผักกวางตุ้งฮ่องเต้ที่ฉีดชักนำความต้านทาน อายุ 7 วัน (เซนติเมตร)			
control	4.36 d	4.88 d	5.10 d
CaB	5.70 a	6.33 a	6.63 a
BTH	5.02 bc	5.91 ab	6.47 ab
chitisan	4.75 bcd	5.08 d	5.38 cd
CaBSS	5.21 ab	5.74 bc	5.96 bc
CaB/Di	5.14 abc	5.28 cd	5.53 cd
BTH/Di	4.37 d	4.83 d	5.45 cd
chitisan/Di	4.96 bcd	5.20 cd	5.59 cd
CaBSS/Di	4.58 cd	5.00 d	5.36 cd
F-test	***	***	***
CV	16.70	15.73	15.36

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 8 (ต่อ)

ความสูงทรงพุ่มของต้นกล้าผักกวางตุ้งใบหยกที่ฉีดสารชักนำความต้านทาน อายุ 7 วัน (เซนติเมตร)			
	ฉีดสารแล้ว 3 วัน	**ฉีดสารแล้ว 6 วัน**	**ฉีดสารแล้ว 9 วัน**
control	3.07 bc	3.40 abc	3.53 b
CaB	3.48 abc	3.60 abc	3.73 bc
BTH	3.24 abc	3.58 abc	3.89 bc
chitosan	3.59 abc	3.97 abc	4.71 b
CaBSS	4.18 a	4.64 a	5.11 a
CaB/Di	2.96 c	2.97 c	3.22 c
BTH/Di	3.07 c	3.22 bc	3.40 bc
chitosan/Di	4.23 a	4.87 a	4.91 b
CaBSS/Di	3.95 ab	4.44 ab	4.46 b
F-test	***	***	***
CV	29.28	31.61	27.34

[1/]วิธีการที่ฉีดพ่นสารชักนำความต้านทานให้พืชโดยไม่ได้ปลูกเชื้อรา *Alternaria brassicicola*

[2/]วิธีการที่ฉีดพ่นสารชักนำความต้านทานแล้ว 2 วันจึงปลูกเชื้อด้วยสารแขวนลอยโคนิเดียของเชื้อรา *Alternaria brassicicola* ความเข้มข้น 10^5 โคนิเดียต่อมิลลิลิตร

[3/]ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตามวิธี Duncan's new multiple range test (DMRT) P = 0.05

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เมื่อนำความสูงทรงพุ่มของต้นกล้าผักทั้ง 3 ชนิดหาอัตราการเจริญเฉลี่ยต่อวันดังแสดงในตารางที่ 9 ผักคะน้าที่ได้รับสารชักนำความต้านทานโดยไม่ได้ปลูกเชื้อพบว่าสาร CaB, CaBSS, BTH และ chitosan มีอัตราการเจริญเฉลี่ยต่อวันเท่ากับ 0.38, 0.34, 0.29 และ 0.24 เซนติเมตรต่อวัน โดยสารชักนำความต้านทาน CaB มีอัตราการเจริญเฉลี่ยต่อวันมากที่สุด สำหรับชุดที่ได้รับสารชักนำความต้านทานและปลูกเชื้อมีอัตราการเจริญเฉลี่ยของสารชักนำความต้านทาน CaB เพียงชนิดเดียวที่มีอัตราการเจริญมากกว่าชุดควบคุมเท่ากับ 0.24 เซนติเมตรต่อวัน อัตราการเจริญเฉลี่ยต่อวันในผักกวางตุ้งฮ่องเต้ที่ได้รับสารชักนำความต้านทาน CaB, CaBSS, BTH และ chitosan โดยไม่ได้ปลูกเชื้อรา มีอัตราการเจริญเฉลี่ยเท่ากับ 0.40, 0.35, 0.32 และ 0.29 เซนติเมตรต่อวัน ตามลำดับ สำหรับชุดที่ได้รับสาร CaB, chitosan, BTH และ CaBSS และได้รับการปลูกเชื้อมีอัตราการเจริญเฉลี่ยเท่ากับ 0.29, 0.26 และ 0.23 เซนติเมตรต่อวัน ซึ่งสารชักนำความต้านทาน BTH และ CaBSS มีอัตราการเจริญเฉลี่ยต่อวันเท่ากัน อัตราการเจริญเฉลี่ยของต้นกล้าผักกวางตุ้งใบหยกที่ได้รับสารชักนำความต้านทาน CaBSS, chitosan, BTH และ CaB โดยไม่ได้ปลูกเชื้อมีอัตราการเจริญเฉลี่ยเท่ากับ 0.18, 0.16 และ 0.13 เซนติเมตรต่อวัน โดยสารชักนำความต้านทาน CaB และ BTH มีอัตราการเจริญเฉลี่ยต่อวันเท่ากัน สำหรับชุดที่ได้รับสารชักนำความต้านทานและปลูกเชื้อพบว่าสาร CaBSS และ chitosan มีอัตราการเจริญเฉลี่ยต่อวัน 0.19 และ 0.17 เซนติเมตรต่อวัน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 9 อัตราการเจริญเฉลี่ยต่อวันของต้นกล้าผักคะน้า ผักกวางตุ้งฮ่องเต้และผักกวางตุ้งใบหยก อายุ 7 วัน ที่ได้รับสารชักนำความต้านทาน

อัตราการเจริญเฉลี่ยของต้นกล้าผักคะน้าที่ฉีดสารชักนำความต้านทาน อายุ 7 วัน (เซนติเมตร/วัน)				
	ฉีดสารแล้ว 3 วัน	**ฉีดสารแล้ว 6 วัน**	**ฉีดสารแล้ว 9 วัน**	**ค่าเฉลี่ยอัตราการเจริญ**
control	0.15	0.28	0.21	0.19
CaB[1/]	0.29	0.39	0.38	0.47
BTH	0.32	0.26	0.29	0.29
chitosan	0.21	0.32	0.24	0.20
CaBSS	0.31	0.34	0.34	0.37
CaB/Di[2/]	0.21	0.24	0.24	0.26
BTH/Di	0.19	0.12	0.17	0.19
chitosan/Di	0.18	0.16	0.17	0.17
CaBSS/Di	0.18	0.17	0.17	0.15
อัตราการเจริญเฉลี่ยของต้นกล้าผักกวางตุ้งฮ่องเต้ที่ฉีดชักนำความต้านทาน อายุ 7 วัน (เซนติเมตร/วัน)				
	ฉีดสารแล้ว 3 วัน	**ฉีดสารแล้ว 6 วัน**	**ฉีดสารแล้ว 9 วัน**	**ค่าเฉลี่ยอัตราการเจริญ**
control	0.20	0.16	0.20	0.24
CaB	0.38	0.28	0.40	0.54
BTH	0.32	0.28	0.32	0.35
chitosan	0.26	0.20	0.29	0.40
CaBSS	0.33	0.25	0.35	0.49
CaB/Di	0.24	0.19	0.29	0.43
BTH/Di	0.21	0.21	0.23	0.27
chitosan/Di	0.22	0.19	0.26	0.36
CaBSS/Di	0.22	0.18	0.23	0.29

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 9 (ต่อ)

อัตราการเจริญเฉลี่ยของต้นกล้าผักกวางตุ้งใบหยกที่ฉีดสารชักนำความต้านทาน อายุ 7 วัน (เซนติเมตร/วัน)				
	ฉีดสารแล้ว 3 วัน	**ฉีดสารแล้ว 6 วัน**	**ฉีดสารแล้ว 9 วัน**	**ค่าเฉลี่ยอัตราการเจริญ**
control	0.11	0.09	0.11	0.12
CaB	0.11	0.09	0.13	0.19
BTH	0.13	0.12	0.13	0.14
chitosan	0.14	0.18	0.16	0.16
CaBSS	0.17	0.17	0.18	0.20
CaB/Di	0.06	0.06	0.08	0.11
BTH/Di	0.06	0.06	0.07	0.07
chitosan/Di	0.21	0.14	0.19	0.21
CaBSS/Di	0.19	0.13	0.17	0.21

[1/]วิธีการที่ฉีดพ่นสารชักนำความต้านทานให้พืชโดยไม่ได้ปลูกเชื้อรา *Alternaria brassicicola*

[2/]วิธีการที่ฉีดพ่นสารชักนำความต้านทานแล้ว 2 วันจึงปลูกเชื้อด้วยสารแขวนลอยโคนิเดียของเชื้อรา *Alternaria brassicicola* ความเข้มข้น 10^5 โคนิเดียต่อมิลลิลิตร

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

จากภาพรวมของสารชักนำความต้านทานที่ใช้ต่อการเจริญของพืชตระกูลกะหล่ำจะพบว่าพืชตระกูลกะหล่ำที่ได้รับสารชักนำความต้านทาน CaB จะให้ผลดีต่อผักคะน้าและผักกวางตุ้งฮ่องเต้ ในขณะที่ผักกวางตุ้งใบหยกจะพบว่าสารชักนำความต้านทาน CaBSS และ chitosan .ให้ผลดี ซึ่งการตอบสนองต่อสารในลักษณะปุ๋ยต่อความแข็งแรงของพืชนั้นจะพบได้ในรายงานของ ยงยุทธ (2543) ถึงบทบาทของโบรอนในการสังเคราะห์และสร้างความสมบูรณ์ให้ผนังเซลล์ คือเมื่อขาดโบรอนทำให้โครงสร้างผนังเซลล์ผิดปกติเช่น ผนังเซลล์ collenchymas ส่วนมุมไม่หนา ผนังเซลล์ของ parenchyma มีการจัดเรียงของ microfibril อย่างหลวมๆ และความหนาของผนังเซลล์ไม่สม่ำเสมอ บทบาทในการเคลื่อนย้ายอินทรียสารคือเป็นองค์ประกอบในเยื่อหุ้มเซลล์ของท่อลำเลียงอาหารซึ่งมีผลต่อการผ่านเข้าออกของโมเลกุลน้ำตาลโดยเมื่อพืชขาดโบรอนจึงทำให้กิจกรรมด้านการเจริญเติบโตที่ปลายยอดและปลายรากต่ำหรือตายจึงทำให้ไม่มีการรองรับอาหารจากใบ และต้น พืชที่มีปริมาณแคลเซียมเพกเทต (calcium pectate) ที่มากพอในเนื้อเยื่อจะช่วยป้องกันการย่อยสลายของผนังเซลล์และเนื้อเยื่อซึ่งแคลเซียมจะไปยับยั้งการเกิดกิจกรรมเอนไซม์พอริกาแลกทูรอเนสซึ่งเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาการย่อยสลายสารเพกเทต ซึ่งเมื่อปริมาณแคลเซียมเพกเทตในผนังเซลล์มีในผนังเซลล์มีมากก็จะช่วยทำให้พืชมีความต้านทานต่อการทำลายของเชื้อราหรือยืดเวลาการสุกของผลได้ แคลเซียมยังมีผลต่อการยืดตัวของเซลล์คือแคลเซียมทำให้รากมีการยืดตัวโดยเซลล์มีการขยายขนาดจากการที่แคลเซียมช่วยถ่วงดุลและป้องกันไม่ให้ไอออนอื่นที่มีความเข้มข้นสูงในสารละลายทำให้เนื้อเยื่อเกิดความเสียหาย

Abdel-Monaim *et al* (2011) ได้มีการตรวจวัดอัตราการเจริญ (ความสูงและจำนวนผักต่อต้น) และปริมาณเมล็ดต่อตัน feddan ของต้นกล้าถั่วเหลือง 4 สายพันธุ์ จากการทดลองแช่เมล็ดในสารละลาย BTH, humic acid, และ BTH ผสม humic acid ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆแล้วปลูก 2 แหล่ง คือ Minia และ New Valley พบว่าสารทุกความเข้มมีผลทำให้ความสูง จำนวนฝักต่อต้นถั่วเหลืองและจำนวนเมล็ดเพิ่มขึ้นในถั่วเหลืองทุกสายพันธุ์และพื้นที่ปลูกทั้ง 2 แหล่ง

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 10 สรุปผลการตอบสนองต่อกิจกรรมทดสอบในผักตระกูลกะหล่ำอายุ 7 วัน ที่ได้รับสารชักนำความต้านทาน

การทดลอง	คะน้า	กวางตุ้งฮ่องเต้	กวางตุ้งใบหยก
ระดับอาการโรค	CaB และ BTH	CaB	CaB และ chitosan
การตรวจการเข้าทำลายในเนื้อเยื่อ	CaB, BTH และ chitosan	CaB, BTH และ chitosan	เกิดน้อย
กิจกรรมเอนไซม์ ppo	BTH, chitosan และ CaBSS		
กิจกรรมเอนไซม์ pox	chitosan และ CaB		
กิจกรรมเอนไซม์ pal	chitosan และ BTH		
อัตราการเจริญเฉลี่ย	CaB	CaB	CaBSS และ chitosan
สรุป	CaB, BTH และ chitosan		

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

4. ผลของการทดสอบประสิทธิภาพสารชักนำความต้านทานในต้นกล้าผักตระกูลกะหล่ำอายุ 25 วัน

4.1 การพัฒนาอาการโรคของต้นกล้าผักตระกูลกะหล่ำอายุ 25 วัน ที่ได้รับสารชักนำความต้านทาน

หลังจากฉีดสารชักนำความต้านทาน CaB, BTH, chitosan, CaBSS และชุดควบคุมน้ำนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 2 วัน บนต้นกล้าผักคะน้าอายุ 25 วัน ทำการปลูกเชื้อรา *A. brassiciola* โดยการฉีดพ่นทั่วต้นด้วยสารแขวนลอยโคนิเดียเชื้อราความเข้มข้น 10^5 โคนิเดียต่อมิลลิลิตร ทำการตรวจดูพัฒนาระดับอาการโรคของต้นกล้า (ระดับ 1 – 13 ตามข้อ 3.7.2) ผลดังแสดงในตารางที่ 11 พบว่าเริ่มมีการพัฒนาระดับอาการโรคในวันที่ 3 หลังจากปลูกเชื้อ โดยการพัฒนาอาการโรคจะเป็นลักษณะแผลจุดเหมือนลักษณะของอาการใบช้ำและแผลจุดสีน้ำตาลขนาดเล็กกระจายบนใบ การพัฒนาอาการโรคหลังจากปลูกเชื้อแล้ว 3, 4 และ 6 วัน พบว่าเมื่อเปรียบเทียบอาการโรคในผักกะหล่ำที่ได้รับสารชักนำความต้านทานกับชุดควบคุมแล้วชุดที่ได้รับสารชักนำความต้านทานแสดงอาการโรคมากกว่าชุดควบคุม ยกเว้นชุดที่ได้รับสารชักนำความต้านทาน BTH ที่ปลูกเชื้อ 3 วัน มีอาการโรคน้อยกว่าชุดควบคุมเท่ากับ 1.65 สารชักนำความต้านทาน BTH และ chitosan แสดงการเกิดอาการโรคน้อยกว่าชุดควบคุมเมื่อต้นกล้าผักคะน้าถูกปลูกเชื้อแล้ว 7 และ 8 วัน โดยแสดงอาการโรควันที่ 7 เท่ากับ 2.35 และ 2.53 และแสดงอาการโรควันที่ 8 เท่ากับ 2.71 และ 2.46

การพัฒนาอาการโรคของต้นกล้าผักกวางตุ้งฮ่องเต้อายุ 25 วัน เมื่อทำการตรวจวัดระดับอาการโรคในวันที่ 3 มีเพียงสาร CaB ที่มีอาการโรคเกิดน้อยกว่าชุดควบคุมเท่ากับ 2.52 สำหรับอาการโรคในวันที่ 4 และวันที่ 5 สารชักนำความต้านทานทุกชนิดแสดงอาการโรคมากกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม อาการโรคของผักกวางตุ้งใบหยกในวันที่ 6 พบว่า สาร chitosan แสดงอาการโรคเท่ากับ 2.96 สำหรับสาร CaB, BTH และ CaBSS แสดงอาการโรคมากกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม

อาการโรคของต้นกล้าผักกวางตุ้งใบหยกอายุ 25 วัน เมื่อตรวจผลการเกิดอาการโรค พบว่าสารชักนำความต้านทาน BTH สามารถทำให้การเกิดโรคน้อยที่สุดและสารชักนำความต้านทาน chitosan ทำให้ต้นกล้าเกิดอาการโรคน้อยกว่าชุดควบคุม เมื่อต้นกล้าถูกปลูกเชื้อแล้ว 3, 4, 5 และ 6 วัน โดยต้นกล้าที่ได้รับสารชักนำความต้านทาน BTH แสดงอาการโรค 2.06, 2.25, 2.58 และ 2.27 สารชักนำความต้านทาน chitosan แสดงอาการโรคเท่ากับ 2.31, 2.36, 2.78 และ 2.78

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ภายหลังการฉีดพ่นสารชักนำความต้านทาน CaB, BTH, chitosan, CaSS และน้ำนึ่งฆ่าเชื้อ 2 วัน แล้วปลูกเชื้อ ตรวจสอบอาการโรคที่ระยะเวลาต่างๆ ในผักคะน้าที่ระยะเวลาได้รับเชื้อแล้ว 3, 7 และ 8 วัน เกิดอาการโรคน้อยกว่าชุดควบคุมเมื่อได้รับสาร BTH และ chitosan เช่นเดียวกับในผักกวางตุ้งใบหยกที่ปลูกเชื้อแล้ว 3 - 6 วัน สำหรับผักกวางตุ้งฮ่องเต้ที่ได้รับสาร CaB และ chitosan เกิดอาการโรคน้อยหลังจากได้รับเชื้อในวันที่ 4 และ 6 จากการศึกษาของ Pan and Liu (2011) ได้ศึกษาผลของการใช้สารชักนำความต้านทาน BTH ที่ความเข้มข้น 200 และ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร แช่ผลมะม่วงพันธุ์ Nang klangwan และ Tainong พบว่าสาร BTH มีประสิทธิภาพในการช่วยยกระดับความต้านทานต่อเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* ซึ่งตรวจพบสาร phenolic, flavonoid, lignin และ hydroxyproline-rich glycoprotein (HRGP) เพิ่มขึ้นอย่างชัดเจน การใช้ BTH ชักนำความต้านทานในต้นกล้ามะเขือเทศพบว่าสามารถลดความรุนแรงของโรคแคงเกอร์สาเหตุจากเชื้อแบคทีเรีย *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* ได้ถึง 75% เมื่อฉีดพ่นสารละลาย BTH ให้กับต้นกล้าเป็นเวลา 72 ชั่วโมงก่อนปลูกเชื้อ (Soylu *et al*., 2003) การศึกษาของ Cavalcanti *et al*. (2006) พบว่าสาร BTH สามารถลดความรุนแรงของอาการโรคใบจุดของมะเขือเทศจากเชื้อ *Xanthomonas vesicatoria* ได้ 49. 3 % และทำให้ต้นมะเขือเทศมีประสิทธิภาพการใช้น้ำและกระบวนการ carboxyl เกิดดีกว่าชุดควบคุมที่ปลูกเชื้อและชุดควบคุมปกติพร้อมทั้งมีกิจกรรมเอนไซม์ pox เกิดขึ้นอย่างรวดเร็วเมื่อได้รับการฉีดพ่นด้วยสาร BTH และเมื่อใช้ BTH ในการควบคุมความรุนแรงของโรค Chrysanthemum yellow phytoplasma ที่เข้าทำลายในเดซี่ สามารถช่วยชะลอการพัฒนาอาการโรคและการเพิ่มปริมาณของเชื้อ phytoplasma แต่ไม่สามารถลดการถ่ายทอดโรคและควบคุมแมลงพาหะ (leaf hopper) ได้ (D'Amelio *et al*., 2010) นอกจากนี้การใช้สารชักนำความต้านทาน BTH ร่วมกับปุ๋ยอินทรีย์ (สารสกัดของชาและสาหร่ายทะเล) พบว่ามีประสิทธิภาพในการลดความรุนแรงจากโรคราแป้งบนใบแตงกวาเมื่อใช้ BTH ความเข้มข้น 0.05 มิลลิโมล ร่วมกับปุ๋ยอินทรีย์ (Bayoumi and Hafez, 2006) การสเปรย์สาร chitosan บนใบยาสูบสามารถลดอาการโรคที่เกิดจากเชื้อรา *Phytophthora nicotianae* ได้ 36 - 41% เมื่อใช้อนุพันธ์ chitosan (CH-36) ที่ความเข้มข้น 1 และ 2.5 กรัมต่อลิตร และลดอาการโรคได้ 27 - 33% เมื่อสเปรย์ด้วย oligochitosan ความเข้มข้น 0.1 และ 1 กรัมต่อลิตร และยังทำให้กิจกรรมเอนไซม์ pal และ pox เพิ่มสูงกว่าชุดควบคุม (Falcón-Rodríguez *et al*., 2011) ซึ่งคล้ายกับการศึกษาของ Abo-Elyousr *et al*. (2009) ที่ใช้ *Trichoderma hamatum* + *Paecilomyces lilacinus* + Salicylic acid และ BTH ร่วมกันเพื่อป้องกันโรครากเน่าของฝ้ายสาเหตุจากเชื้อ *Fusarium oxysporum* และ *Pythium debaryanum* พบว่าสามารถลดอาการของโรคได้ 72.3 % และ 69.3 % เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม และยังพบว่าปริมาณองค์ประกอบโครงสร้างของผนังเซลล์ (Cellulose, hemicelluloses และ lignin) เพิ่มขึ้น การทดลองของ Fitza *et al*. (2013) ใช้ chitosan เป็นตัวชักนำให้ต้นสนต้านทานต่อ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

โรค pitch canker ซึ่งเกิดจากเชื้อรา *Fusarium circinatum* พบว่าการใช้ chitosan จำนวน 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถลดลดการเกิดโรคและทำให้อาการโรคเกิดได้ช้า นอกจากนี้ chitosan และ oligachitosan ยังมีผลต่อการเหนี่ยวนำให้เกิดความต้านทานต่อโรผลเน่า (brown rot) จากเชื้อ *Monilinia fructicola* ของผลพีช และยังช่วยในการชะลอการสุกและทำให้ผลนิ่ม เมื่อตรวจ antioxidant และกิจกรรมเอนไซม์ที่เกี่ยวกับการป้องกันตัวยังเพิ่มสูง เช่น catalase, peroxidase, β-glucanase และ chitinase (Ma *et al*., 2013)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 11 ผลการประเมินอาการโรคที่พบบนผักคะน้า ผักกวางตุ้งฮ่องเต้และผักกวางตุ้งใบหยกที่ระยะเวลาต่างๆภายหลังการฉีดสารชักนำความต้านทานก่อนเป็นเวลา 2 วัน แล้วจึงปลูกเชื้อ *Alternaria brassicicola*

อาการโรคผักคะน้าอายุ 25 วัน (ฉีดสารชักนำความต้านทานแล้ว 2 วัน จึงปลูกเชื้อ AL2)					
	ปลูกเชื้อ 3 วัน	**ปลูกเชื้อ 4 วัน**	**ปลูกเชื้อ 6 วัน**	**ปลูกเชื้อ 7 วัน**	**ปลูกเชื้อ 8 วัน**
control	1.76	1.73	1.87	2.73	3.13
CaB	1.93	1.92	2.07	3.07	3.07
BTH	1.65	1.73	1.88	2.35	2.71
chitosan	1.76	1.86	2.33	2.53	2.46
CaBSS	1.80	1.83	1.91	3.36	2.56
CV	26.86	27.75	46.91	50.74	48.24
อาการโรคผักกวางตุ้งฮ่องเต้อายุ 25 วัน (ฉีดสารชักนำความต้านทานแล้ว 2 วัน จึงปลูกเชื้อ AL2)					
	ปลูกเชื้อ 3 วัน	**ปลูกเชื้อ 4 วัน**	**ปลูกเชื้อ 5 วัน**	**ปลูกเชื้อ 6 วัน**	
control	2.58	2.76 b[1/]	2.79 b	3.00	
CaB	2.52	3.35 a	3.48 a	3.20	
BTH	2.78	3.00 ab	3.04 ab	3.27	
chitosan	2.72	2.86 ab	3.04 ab	2.96	
CaBSS	2.72	3.32 ab	3.38 ab	3.39	
CV	29.81	31.89	32.77	30.43	
อาการโรคผักกวางตุ้งใบหยกอายุ 25 วัน (ฉีดสารชักนำความต้านทานแล้ว 2 วัน จึงปลูกเชื้อ AL2)					
control	2.56	2.61	2.86	2.93 ab	
CaB	2.41	2.76	3.08	2.92 ab	
BTH	2.06	2.25	2.58	2.27 a	
chitosan	2.31	2.36	2.78	2.78 ab	
CaBSS	2.50	2.78	3.08	3.08 a	
CV	34.39	33.21	36.48	32.27	

[1/]ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตามวิธี Duncan's new multiple range test (DMRT) P = 0.05

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

หมายเหตุ การประเมินระดับอาการโรค

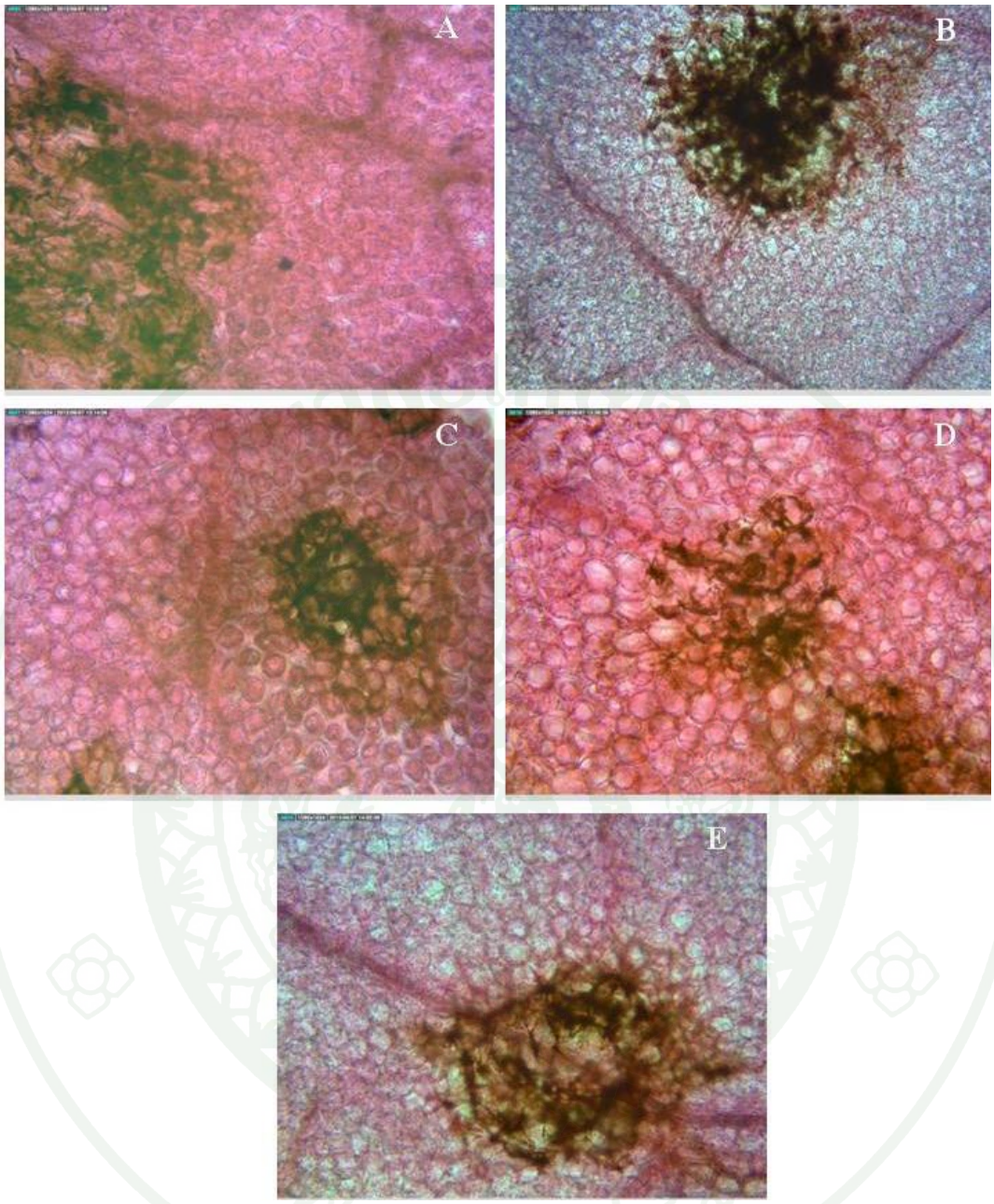
ระดับ 1 = เกิดอาการโรค 0 - 0.9 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่ใบ
ระดับ 2 = เกิดอาการโรค 1 – 4.9 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่ใบ
ระดับ 3 = เกิดอาการโรค 5 – 9.9 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่ใบ
ระดับ 4 = เกิดอาการโรค 10 – 14.9 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่ใบ
ระดับ 5 = เกิดอาการโรค 15 – 19.9 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่ใบ
ระดับ 6 = เกิดอาการโรค 20 – 24.9 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่ใบ
ระดับ 7 = เกิดอาการโรค 25 – 29.9 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่ใบ
ระดับ 8 = เกิดอาการโรค 30 – 34.9 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่ใบ
ระดับ 9 = เกิดอาการโรค 35 – 39.9 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่ใบ
ระดับ 10 = เกิดอาการโรค 40 – 44.9 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่ใบ
ระดับ 11 = เกิดอาการโรค 50 – 54.9 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่ใบ
ระดับ 12 = เกิดอาการโรค 55 – 59.9 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่ใบ
ระดับ 13 = เกิดอาการโรคมากกว่า 60 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่ใบ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

4.2 การตรวจสอบตัวอย่างพืชที่ถูกเชื้อราเข้าทำลายในพืชอายุ 25 วัน

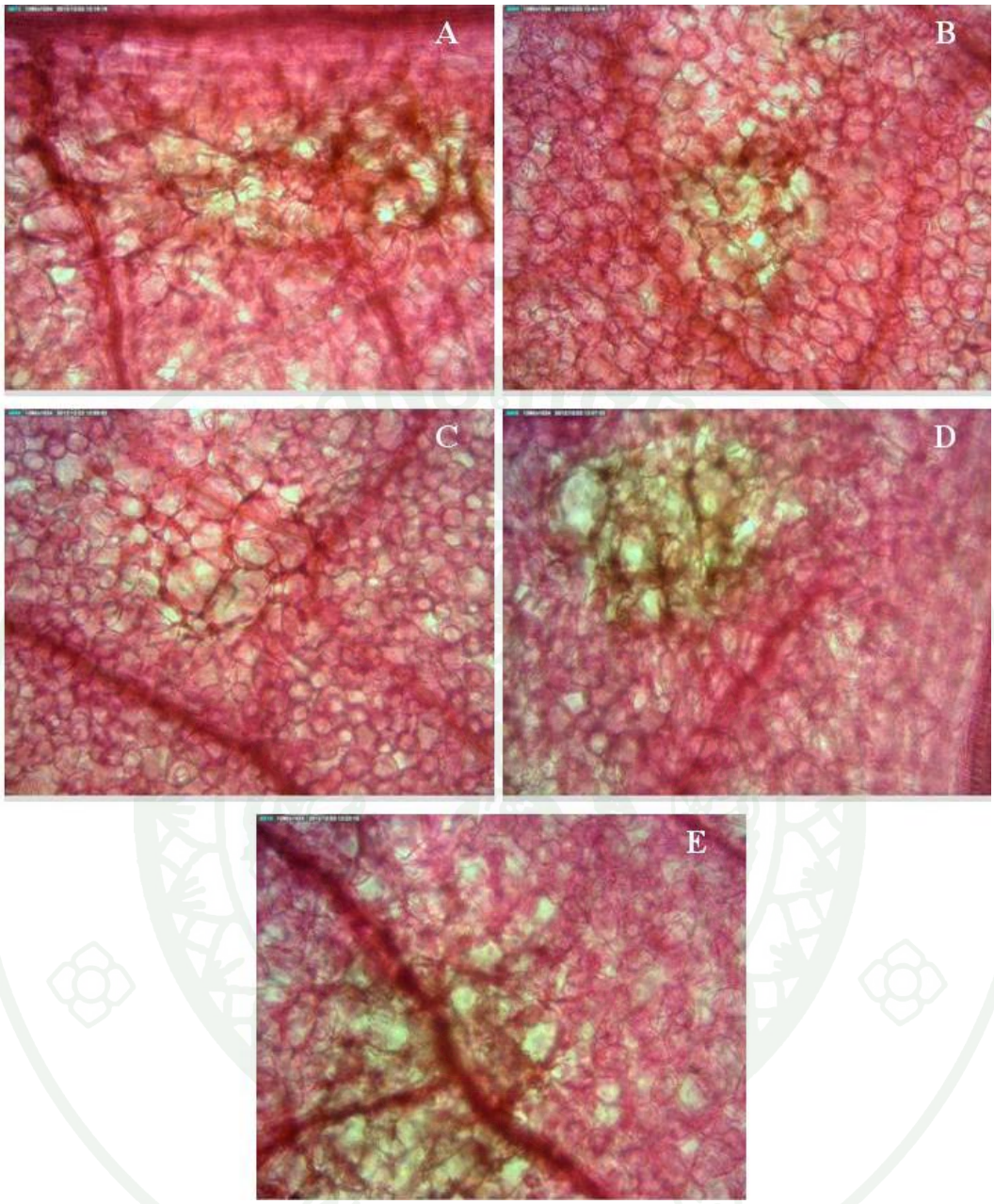
ลักษณะของเนื้อเยื่อของพืชที่ได้รับสารชักนำความต้านทานในผักคะน้าและผักกวางตุ้งใบหยกโดยการฉีดพ่นสารชักนำความต้านทานแล้ว 5 วัน ปลูกเชื้อ 3 วัน ดังแสดงในภาพที่ 17 และ 19 จะพบว่าเซลล์ที่ถูกเชื้อเข้าทำลายในชุดที่ได้รับสารชักนำความต้านทานจะมีการเปลี่ยนเป็นสี้นำตาลซึ่งมีขนาดกว้างกว่าชุดควบคุมที่มีสภาพของเซลล์ที่เสื่อมสภาพทำให้เห็นเป็นรอยแผลได้ชัดเจน โดยเซลล์ของพืชที่ได้รับสารชักนำความต้านทาน BTH และ chitosan จะมีเซลล์สีน้ำตาลรอบๆเซลล์ที่ติดเชื้ออย่างชัดเจนทำให้เกิดการรุกรานของเชื้อได้ยากขึ้นเนื่องจากการตอบสนองเพื่อการป้องกันตัวจากพืช การตรวจดูลักษณะเนื้อเยื่อเซลล์ของผักกวางตุ้งฮ่องเต้จะพบว่าเซลล์ที่ถูกเชื้อรุกรานจะเปลี่ยนสีเซลล์เป็นสีน้ำตาลซึ่งจะเห็นชัดเจนที่ขอบผนังของเซลล์ที่ติดอยู่กับบริเวณที่ติดเชื้อเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมจะพบว่ามีการเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลของเซลล์ขยายวงกว้างกว่าชุดที่ได้รับสารชักนำความต้านทานจึงทำให้การแสดงอาการโรคของชุดควบคุมเกิดน้อยกว่าเมื่อทำการประเมินอาการโรคด้วยสายตา (ภาพที่ 18) Benhamou and Nicole (1999) ได้กล่าวเกี่ยวกับการใช้ fungal chitin ซึ่งเป็น polymer ของ B-1,4-*N*-acetyl-D-glucosamine ในต้นข้าวสาลีซึ่งผลปรากฏว่าสารชนิดนี้สามารถทำให้ผนังเซลล์ของพืชแข็งอย่างรวดเร็วซึ่งเป็นปฏิกิริยาในการป้องกันตัวของพืชจากเชื้อสาเหตุที่จะแทงสู่เซลล์และยังกล่าวว่า chitosan ไม่ได้มีผลเพียงทำให้เชื้อสาเหตุโรคชะงักการเจริญเติบโตแต่ยังส่งผลไปชักนำให้โครงสร้างเกิดการเปลี่ยนแปลงและทำให้โมเลกุลของเชื้อราไม่เป็นระเบียบ การศึกษาของ Hammerschmidt (1999) พบว่าเมื่อเชื้อรามีการสร้าง appressoria แทงเข้าสู่เนื้อเยื่อพืชและทำการตั้งรกรากทั้งในพืชชุดควบคุมและพืชที่ได้รับสารชักนำความต้านทาน หลังจากที่เชื้อตั้งรกรากแล้วเส้นใยเชื้อราชุดควบคุมมีการพัฒนาจากระยะ primary hyphae เป็นระยะ secondary hyphae แต่ในพืชที่ได้รับสารชักนำความต้านทานเส้นใยหยุดการพัฒนาซึ่งยังคงสภาพอยู่ในระยะ primary hyphae และเมื่อตรวจดูเนื้อเยื่อพบว่าเนื้อเยื่อพืชเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลและเกิดการสะสมของ phytoalexins การใช้ mycelia extract ของเชื้อรา *Bipolaris oryzae*, *Pythium ultimum* และ *Rhizopus stolonifer* ชักนำให้ข้าวบาร์เลย์ (*Hordeum vulgare*) เกิดความต้านทานต่อโรคราแป้งขาว สาเหตุเชื้อ *Blumeria graminis* f.sp. *hordei* ได้โดยพบว่าเชื้อรางอกและสร้าง primary germ tube และสร้าง appressorium แทงเข้าสู่เซลล์พืช แต่ไม่สามารถพัฒนาเป็น haustorium ได้เนื่องจากเซลล์ในบริเวณที่ถูกแทงมีการสร้าง papilla ขึ้น (Haugaard *et al*., 2002)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



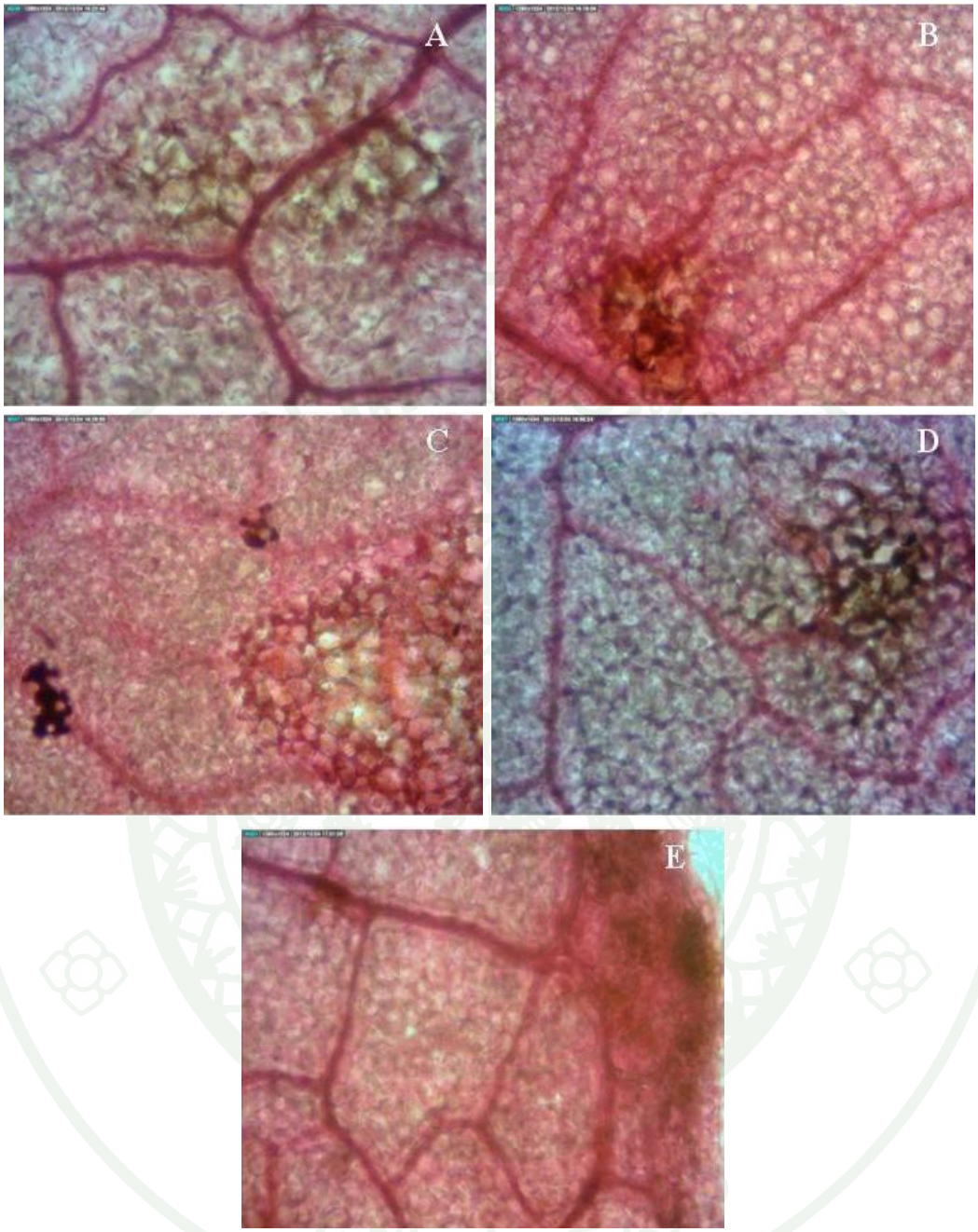
ภาพที่ 17 เนื้อเยื่อใบของต้นกล้าผักคะน้าอายุ 25 วันที่ได้รับสารชักนำความต้านทานแล้ว 5 วัน ปลูกเชื้อ *Alternaria brassicicola* แล้ว 3 วัน เนื้อเยื่อใบที่ย้อมด้วยสี acid fuchsin ใน lactophenol A) control, B) CaB, C) BTH, D) chitosan และ E) CaBSS

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 18 เนื้อเยื่อใบของต้นกล้ากวางตุ้งฮ่องเต้อายุ 25 วันที่ได้รับสารชักนำความต้านทานแล้ว 5 วัน ปลูกเชื้อ *Alternaria brassicicola* แล้ว 3 วัน เนื้อเยื่อใบที่ย้อมด้วยสี acid fuchsin ใน lactophenol A) control, B) CaB, C) BTH, D) chitosan และ E) CaBSS

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



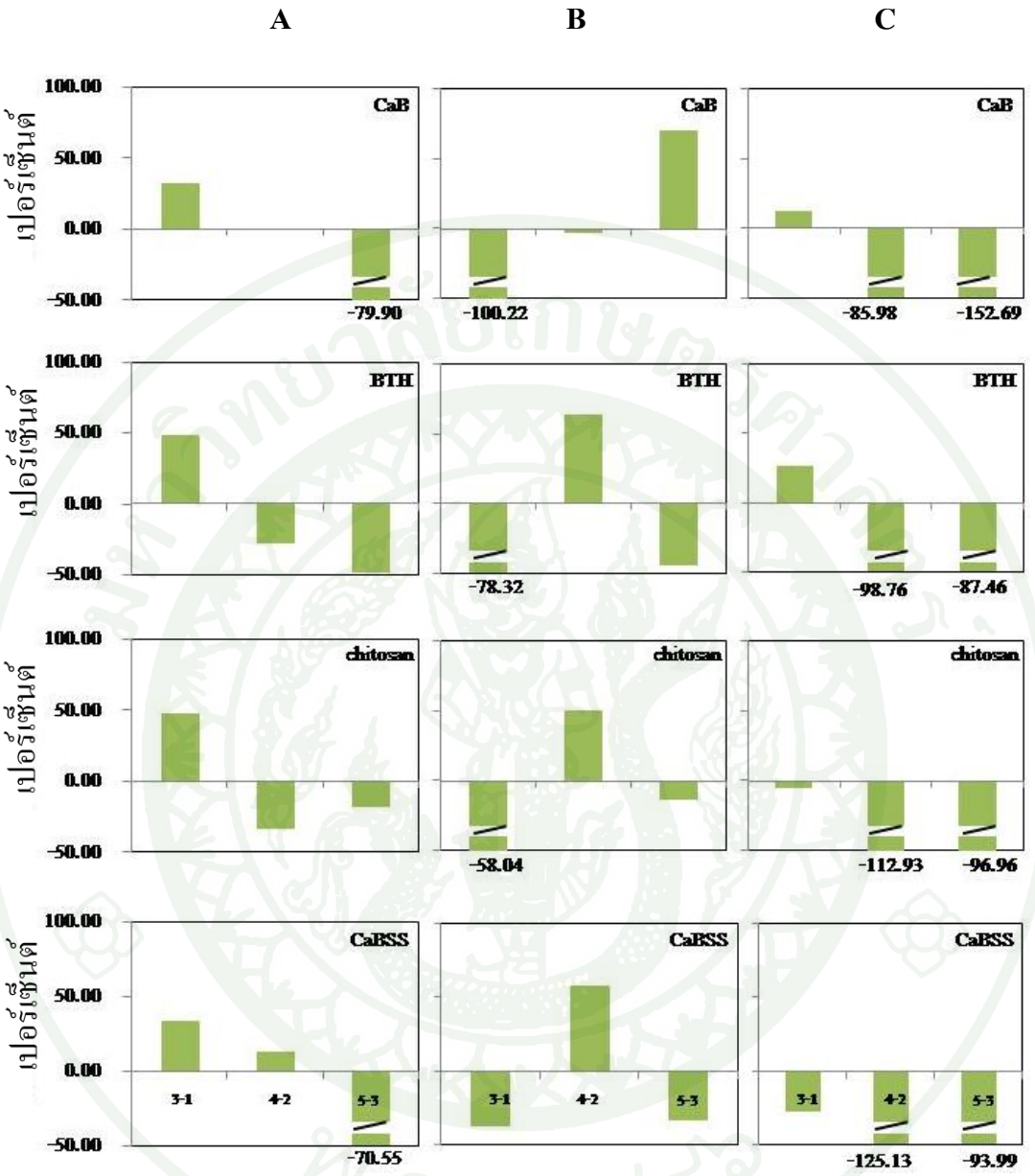
ภาพที่ 19 เนื้อเยื่อใบของต้นกล้ากวางตุ้งใบหยกอายุ 25 วันที่ได้รับสารชักนำความต้านทานแล้ว 5 วัน ปลูกเชื้อ *Alternaria brassicicola* แล้ว 3 วัน เนื้อเยื่อใบที่ย้อมด้วยสี acid fuchsin ใน lactophenol A) control, B) CaB, C) BTH, D) chitosan และ E) CaBSS

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

4.3 การเปลี่ยนแปลงของกิจกรรมเอนไซม์ในผักตระกูลกะหล่ำอายุ 25 วัน ที่ได้รับสารชักนำความต้านทาน

4.3.1 ตรวจการเปลี่ยนแปลงของกิจกรรมเอนไซม์ ppo ที่เวลา 2, 3, 4 และ 5 วัน หลังจากฉีดสารชักนำความต้านทานให้ต้นกล้าผักคะน้า ผักกวางตุ้งฮ่องเต้และผักกวางตุ้งใบหยก อายุ 25 วัน ด้วย CaB, BTH, chitosan, CaBSS และชุดควบคุมน้ำนึ่งฆ่าเชื้อโดยไม่ได้ปลูกเชื้อ และชุดการทดลองที่ฉีดสารชักนำความต้านทาน 2 วัน แล้วปลูกเชื้อรา *A. brassicicola* เก็บตัวอย่างพืชทั้ง 3 ชนิด ตรวจกิจกรรมเอนไซม์ ppo ดังแสดงในภาพที่ 20 เมื่อเปรียบเทียบระหว่างพืชที่ได้รับสารชักนำความต้านทานและปลูกเชื้อเทียบกับพืชที่ได้รับเพียงสารชักนำความต้านทาน กิจกรรมเอนไซม์ ppo ของผักคะน้าที่ได้รับสารชักนำความต้านทาน BTH, chitosan, CaBSS และ CaB แล้ว 3 วัน ปลูกเชื้อ 1 วัน มีการเปลี่ยนแปลงกิจกรรมเอนไซม์ ppo เท่ากับ 48.12, 47.73, 33.59 และ 32.58 เปอร์เซ็นต์ ผักกวางตุ้งฮ่องเต้มีการเปลี่ยนแปลงกิจกรรมเอนไซม์ ppo เมื่อได้รับสารชักนำความต้านทาน BTH, CaBSS และ chitosan แล้ว 4 วัน ปลูกเชื้อ 2 วัน ซึ่งมีการเปลี่ยนแปลงกิจกรรมเอนไซม์เท่ากับ 63.26, 58.20 และ 49.98 เปอร์เซ็นต์ สำหรับสารชักนำความต้านทาน CaB ไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงกิจกรรมเอนไซม์ในวันที่ได้รับสาร 4 วัน ปลูกเชื้อ 2 วัน แต่มีการเปลี่ยนแปลงกิจกรรมเอนไซม์เมื่อระยะเวลาหลังจากได้รับสารนานขึ้น ผักกวางตุ้งใบหยกการเปลี่ยนแปลงกิจกรรมเอนไซม์เกิดน้อยโดยมีสารเพียง 2 ชนิดที่ทำให้กิจกรรมเอนไซม์ ppo เกิดการเปลี่ยนแปลงหลังจากต้นกล้าได้รับสารชักนำความต้านทาน CaB และ BTH แล้ว 3 วัน ปลูกเชื้อ 1 วัน เกิดการเปลี่ยนแปลงกิจกรรมเอนไซม์ ppo เท่ากับ 26.89 และ 12.63 เปอร์เซ็นต์

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

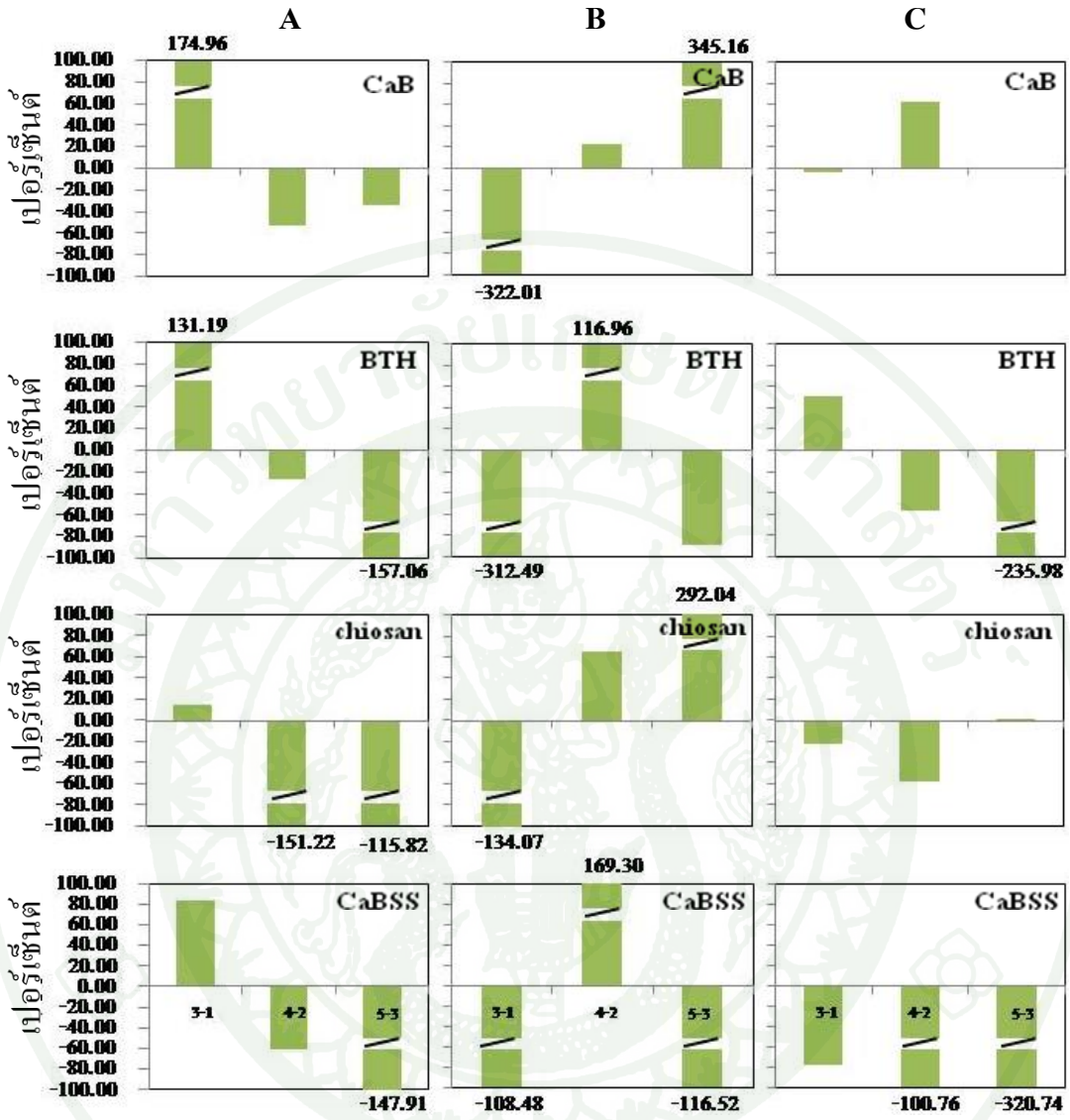


ภาพที่ 20 เปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนแปลงของกิจกรรมเอนไซม์ polyphenoloxidase (ppo) ระหว่างพืชที่ได้รับสารชักนำความต้านทานและปลูกเชื้อ *Alternaria brassicicola* เปรียบเทียบกับพืชที่ได้รับสารชักนำความต้านทาน ทดสอบใน A) ผักคะน้า B) ผักกวางตุ้งฮ่องเต้ และ C) ผักกวางตุ้งใบหยก โดยสภาพที่ได้รับสารชักนำความต้านทานแล้วที่ระยะเวลาต่างกันดังนี้ 3-1) พืชได้รับสารชักนำความต้านทาน 3 วัน และได้รับเชื้อ 1 วัน 4-2) พืชได้รับสารชักนำความต้านทาน 4 วัน และได้รับเชื้อ 2 วัน 5-3) พืชได้รับสารชักนำความต้านทาน 5 วัน และได้รับเชื้อ 3 วัน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

4.3.2 การเปลี่ยนแปลงของกิจกรรมเอนไซม์ pox ของผักคะน้า ผักกวางตุ้งฮ่องเต้ และผักกวางตุ้งใบหยกดังแสดงในภาพที่ 21 การเปลี่ยนแปลงกิจกรรมเอนไซม์ pox ของผักคะน้าที่ได้รับสารชักนำความต้านทาน CaBSS, BTH, chitosan และ CaB แล้ว 3 วัน ปลูกเชื้อ 1 วัน เกิดการเปลี่ยนแปลงกิจกรรมเอนไซม์ pox เท่ากับ 169.30, 116.96, 65.49 และ 22.17 เปอร์เซ็นต์ การเปลี่ยนแปลงกิจกรรมเอนไซม์ของผักกวางตุ้งฮ่องเต้เกิดมากที่สุดหลังจากได้รับสารชักนำความต้านทาน CaBSS, BTH, chitosan และ CaB แล้ว 4 วัน ปลูกเชื้อ 2 วัน มีการเปลี่ยนแปลงกิจกรรมเอนไซม์ pox เกิดขึ้น 169.30, 116.96, 65.49 และ 22.17 เปอร์เซ็นต์ และผักกวางตุ้งใบหยกมีการเปลี่ยนแปลงกิจกรรมเอนไซม์เล็กน้อยเมื่อได้รับสารชักนำความต้านทาน CaB แล้ว 4 วัน ปลูกเชื้อ 2 วัน และ 5 วัน ปลูกเชื้อ 3 วัน ซึ่งกิจกรรมเอนไซม์เกิดการเปลี่ยนแปลงเท่ากับ 62.79 และ 0.42 เปอร์เซ็นต์ ได้รับสารชักนำความต้านทาน BTH แล้ว 3 วัน ปลูกเชื้อ 1 วัน มีการเปลี่ยนแปลงกิจกรรมเอนไซม์เท่ากับ 50.38 เปอร์เซ็นต์ และสารชักนำความต้านทาน chitosan ทำให้เกิดกิจกรรมเอนไซม์เปลี่ยนแปลง 2.11 เปอร์เซ็นต์ เมื่อได้รับสาร 5 วัน ปลูกเชื้อ 3 วัน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

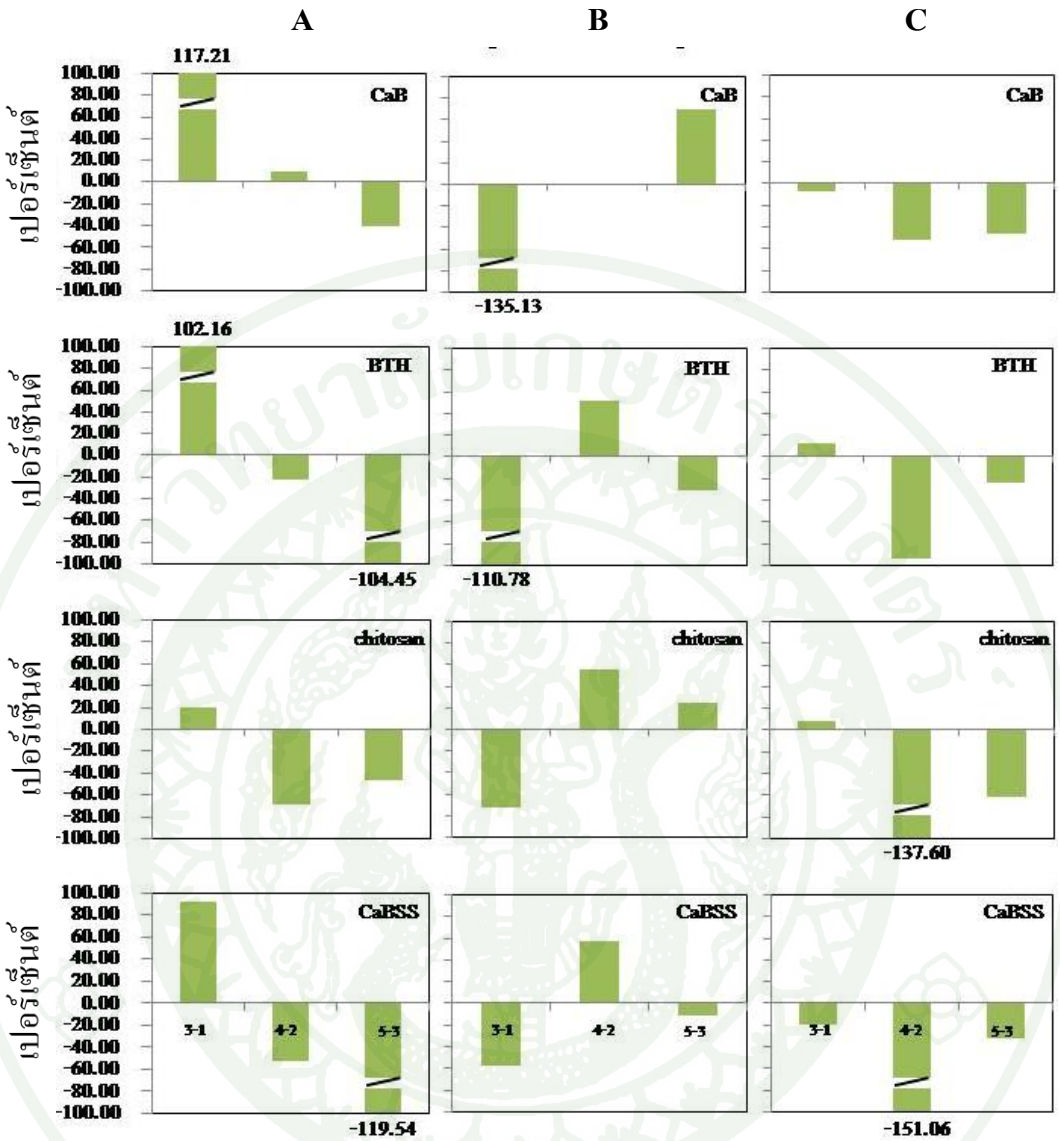


ภาพที่ 21 เปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนแปลงของกิจกรรมเอนไซม์ peroxidase (pox) ระหว่างพืชที่ได้รับสารชักนำความต้านทานและปลูกเชื้อ *Alternaria brassicicola* เปรียบเทียบกับพืชที่ได้รับสารชักนำความต้านทาน ทดสอบใน A) ผักคะน้า B) ผักกวางตุ้งฮ่องเต้ และ C) ผักกวางตุ้งใบหยก โดยสภาพที่ได้รับสารชักนำความต้านทานแล้วที่ระยะเวลาต่างกันดังนี้ 3-1) พืชได้รับสารชักนำความต้านทาน 3 วัน และได้รับเชื้อ 1 วัน 4-2) พืชได้รับสารชักนำความต้านทาน 4 วัน และได้รับเชื้อ 2 วัน 5-3) พืชได้รับสารชักนำความต้านทาน 5 วัน และได้รับเชื้อ 3 วัน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

4.3.3 การเปลี่ยนแปลงของกิจกรรมเอนไซม์ pal ของผักคะน้า ผักกวางตุ้งฮ่องเต้ และผักกวางตุ้งใบหยกดังแสดงในภาพที่ 22 ต้นกล้าผักคะน้ามีการเปลี่ยนแปลงกิจกรรมเอนไซม์เกิดขึ้นมากที่สุดเมื่อได้รับสารสารชักนำความต้านทาน CaB, BTH, CaBSS และ chitosan แล้ว 3 วัน ปลูกเชื้อ 1 วัน ซึ่งเกิดการเปลี่ยนแปลงของกิจกรรมเอนไซม์เท่ากับ 117.21, 102.16, 91.45 และ 19.24 เปอร์เซ็นต์ ผักกวางตุ้งฮ่องเต้มีการเปลี่ยนแปลงกิจกรรมเอนไซม์ pal มากที่สุดเมื่อต้นกล้าได้รับสารชักนำความต้านทาน CabSS, chitosan และ BTH แล้ว 4 วันปลูกเชื้อ 2 วัน ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของกิจกรรมเอนไซม์ pal เท่ากับ 57.06, 55.10 และ 51.23 เปอร์เซ็นต์ และการเปลี่ยนแปลงกิจกรรมเอนไซม์ของผักกวางตุ้งใบหยกเกิดการเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อยเมื่อต้นกล้าได้รับสารชักนำความต้านทาน BTH และ CaB แล้ว 3 วัน ปลูกเชื้อ 1 วัน มีการเปลี่ยนแปลงของกิจกรรมเอนไซม์เกิดขึ้น 60.59 และ 28.43 เปอร์เซ็นต์

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 22 เปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนแปลงของกิจกรรมเอนไซม์ polyphenylalanine ammonia lyase (pal) ระหว่างพืชที่ได้รับสารชักนำความต้านทานและปลูกเชื้อ *Alternaria brassicicola* เปรียบเทียบกับพืชที่ได้รับสารชักนำความต้านทาน ทดสอบใน A) ผักคะน้า B) ผักกวางตุ้งฮ่องเต้ และ C) ผักกวางตุ้งใบหยก โดยสภาพที่ได้รับสารชักนำความต้านทานแล้วที่ระยะเวลาต่างกันดังนี้ 3-1) พืชได้รับสารชักนำความต้านทาน 3 วัน และได้รับเชื้อ 1 วัน 4-2) พืชได้รับสารชักนำความต้านทาน 4 วัน และได้รับเชื้อ 2 วัน 5-3) พืชได้รับสารชักนำความต้านทาน 5 วัน และได้รับเชื้อ 3 วัน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การตรวจสอบการตอบสนองของพืชโดยการดูจากการเปลี่ยนแปลงกิจกรรมเอนไซม์สามารถบอกถึงสภาวะที่มีการตอบสนองในการป้องกันตัวของพืชได้จากการศึกษาของ He *et al*. (2002) พบว่าเชื้อรา *Fusarium oxysporum* (npFo) ซึ่งเป็น nonphathogenic สามารถชักนำความต้านทานและป้องกันการเข้าทำลายของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f. sp. *asparagi* (Foa)ใน *Asparagus officinalis* พบว่าเกิดการตอบสนองแบบ hypersensitive และเกิดความต้านทานภายหลังจากปลูกเชื้อรา พร้อมทั้งสามารถลดความรุนแรงของโรคได้ เกิดกิจกรรมเอนไซม์ pox และ pal เท่ากับ 2.5 และ 3.5 เท่าหลังจากปลูกเชื้อ npFo แล้ว 2 วันและตามด้วยเชื้อ Foa แล้ว 4 วัน กิจกรรมเอนไซม์ pal, ppo และ pox ซึ่งเกี่ยวข้องกับการป้องกันตัวของพืชมีการเพิ่มขึ้นเมื่อต้นมะเขือเทศและพริกได้รับ *Pseudomonas fluorescent* สายพันธุ์ Pf1 แล้วปลูกตามด้วยเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* สาเหตุโรคเน่าคอดินของต้นกล้าพริกและมะเขือเทศ (Ramamoorthy, 2002) นอกจากนี้ Mauch-Mani and Slusarenko (1996) ได้พบว่ากิจกรรมเอนไซม์ pal เป็นการสะสมและสร้างสารพิษโดยการสังเคราะห์ทางชีวะเช่น การสร้าง phytoalexin, phenol, lignin และ salicylic acid ในเส้นทางของกระบวนการป้องกันตัวในพืช

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

4. การเปลี่ยนแปลงความสูงของผักตระกูลกะหล่ำอายุ 25 วัน ที่ได้รับสารชักนำความต้านทาน

เมื่อทำการตรวจวัดความสูงของต้นกล้าผักทั้ง 3 ชนิดอายุ 25 วัน ดังแสดงในตารางที่ 12 ผักคะน้าที่ฉีดด้วยสารชักนำความต้านทาน CaB, BTH, chitosan, CaBSS และชุดควบคุมน้ำนึ่งฆ่าเชื้อไม่ทำการปลูกเชื้อรา *A. brassicicola* และชุดการทดลองที่ได้รับสารชักนำความต้านทานทั้ง 4 ชนิด และปลูกเชื้อ พบว่าความสูงเฉลี่ยของต้นกล้าผักคะน้าที่ได้รับสารชักนำความต้านทานแล้ว 9 วัน โดยไม่ได้ปลูกเชื้อรามีความสูงเฉลี่ย 16.40, 16.45, 14.75, 20.70 และ 15.45 เซนติเมตร ความสูงเฉลี่ยของต้นกล้าผักคะน้าที่ได้รับสารชักนำความต้านทานและปลูกเชื้อรามีความสูงเฉลี่ยครั้งสุดท้ายหลังจากได้รับสารชักนำความต้านทาน 9 วัน และปลูกเชื้อรา 6 วัน เท่ากับ 18.75, 17.70, 17.70 และ 14.70 เซนติเมตร

ความสูงของต้นกล้าผักกวางตุ้งฮ่องเต้อายุ 25 วัน ที่ได้รับสารชักนำความต้านทานแล้ว 9 วัน มีความสูงเฉลี่ยเท่ากับ 16.88, 17.65, 15.13, 17.05 และ 17.10 เซนติเมตร ความสูงเฉลี่ยของชุดการทดลองที่ได้รับสารชักนำความและปลูกเชื้อมีความสูงเฉลี่ยเพิ่มขึ้นอย่างไม่สม่ำเสมอซึ่งความสูงเฉลี่ยครั้งสุดท้ายหลังจากได้รับสารชักนำความต้านทานแล้ว 9 วันและปลูกเชื้อราแล้ว 6 วัน เท่ากับ 19.45, 17.93, 16.15 และ 15.95 เซนติเมตร

เมื่อตรวจวัดความสูงของต้นกล้ากวางตุ้งใบหยกอายุ 25 วัน ผักกวางตุ้งใบหยกที่ได้รับสารชักนำความต้านทาน 9 วันและไม่ปลูกเชื้อมีความสูงเฉลี่ยเท่ากับ 9.97, 10.10, 9.17, 9.30 และ 9.97 เซนติเมตร สำหรับความสูงของต้นกล้าผักกวางตุ้งใบหยกที่ได้รับสารชักนำความต้านทาน 9 วัน และปลูกเชื้อ 6 วันมีความสูงเฉลี่ยเท่ากับ 10.40, 9.87, 11.20 และ 11.80 เซนติเมตร

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 12 ความสูงทรงพุ่มของต้นกล้าผักคะน้า ผักกวางตุ้งฮ่องเต้และผักกวางตุ้งใบหยกอายุ 25 วัน ที่ได้รับสารชักนำความต้านทาน

ความสูงทรงพุ่มของต้นกล้าผักคะน้าที่ฉีดสารชักนำความต้านทาน อายุ 25 วัน (เซนติเมตร)			
	ฉีดสารแล้ว 3 วัน	**ฉีดสารแล้ว 6 วัน**	**ฉีดสารแล้ว 9 วัน**
control	15.64	16.07	16.40
CaB[1/]	14.76	15.70	16.45
BTH	14.12	13.27	14.75
chitosan	14.04	16.10	20.70
CaBSS	14.58	15.50	15.45
CaB/Di[2/]	14.18	18.00	18.75
BTH/Di	14.02	17.23	17.70
chitosan/Di	13.85	15.93	17.70
CaBSS/Di	12.40	11.47	14.70
CV	23.01	29.42	36.32

ความสูงทรงพุ่มของต้นกล้าผักกวางตุ้งฮ่องเต้ที่ฉีดสารชักนำความต้านทาน อายุ 25 วัน (เซนติเมตร)			
control	15.84	16.50	16.88
CaB	18.60	17.65	17.65
BTH	15.30	14.90	15.13
chitosan	16.94	17.00	17.05
CaBSS	16.08	16.83	17.10
CaB/Di	18.30	19.40	19.45
BTH/Di	17.72	18.70	17.93
chitosan/Di	16.74	16.53	16.15
CaBSS/Di	15.60	16.10	15.95
CV	13.93	14.83	14.20

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 12 (ต่อ)

อัตราความสูงทรงพุ่มของต้นกล้าผักกวางตุ้งใบหยกที่ฉีดสารชักนำความต้านทาน อายุ 25 วัน (เซนติเมตร)

	ฉีดสารแล้ว 3 วัน	ฉีดสารแล้ว 6 วัน	ฉีดสารแล้ว 9 วัน
control	7.82	8.95	9.97
CaB	8.40	9.08	10.10
BTH	8.58	9.38	9.17
chitosan	7.86	9.38	9.30
CaBSS	8.48	9.50	9.97
CaB/Di	8.30	9.58	10.40
BTH/Di	8.16	9.68	9.87
chitosan/Di	8.58	10.48	11.20
CaBSS/Di	8.36	10.58	11.80
CV	18.56	14.59	10.49

[1/]วิธีการที่ฉีดพ่นสารชักนำความต้านทานให้พืชโดยไม่ได้ปลูกเชื้อรา *Alternaria brassicicola*

[2/]วิธีการที่ฉีดพ่นสารชักนำความต้านทานแล้ว 2 วันจึงปลูกเชื้อด้วยสารแขวนลอยโคนิเดียของเชื้อรา *Alternaria brassicicola* ความเข้มข้น 10^5 โคนิเดียต่อมิลลิลิตร

ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตามวิธี Duncan's new multiple range test (DMRT) P = 0.05

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เมื่อนำความสูงทรงพุ่มของต้นกล้าผักทั้ง 3 ชนิดหาอัตราการเจริญเฉลี่ยต่อวันดังแสดงในตารางที่ 13 ผักคะน้าที่ได้รับสารชักนำความต้านทานแล้ว โดยไม่ได้ปลูกเชื้อพบว่าสารชักนำความต้านทาน chitosan และ CaBSS มีอัตราการเจริญเฉลี่ยต่อวันเท่ากับ 0.93 และ 0.75 เซนติเมตรต่อวัน ซึ่งมีอัตราการเจริญเฉลี่ยมากกว่าชุดควบคุม สำหรับชุดที่ได้รับสารชักนำความต้านทานและปลูกเชื้อมีเพียงสาร CaB ที่มีอัตราการเจริญมากกว่าชุดควบคุมเท่ากับ 0.87 เซนติเมตรต่อวัน ผักกวางตุ้งฮ่องเต้ที่ได้รับสารชักนำความต้านทาน CaB, CaBSS และ chitosan โดยไม่ได้ปลูกเชื้อรา มีอัตราการเจริญเฉลี่ยเท่ากับ 0.21, 0.16 และ 0.06 เซนติเมตรต่อวัน สำหรับชุดการทดลองที่ได้รับสารชักนำความต้านทาน BTH, CaB และ CaBSS และได้รับการปลูกเชื้อมีอัตราการเจริญเฉลี่ยเท่ากับ 0.20, 0.17 และ 0.09 เซนติเมตรต่อวัน อัตราการเจริญเฉลี่ยในผักกวางตุ้งใบหยกที่ได้รับสารชักนำความต้านทาน CaBSS โดยไม่ได้ปลูกเชื้อมีอัตราการเจริญเฉลี่ยเท่ากับ 0.27 เซนติเมตร สำหรับชุดที่ได้รับสารชักนำความต้านทานและปลูกเชื้อพบสารชักนำความต้านทาน CaBSS และ chitosan ทำให้ต้นกล้ามีอัตราการเจริญเพิ่มขึ้นเท่ากับ 0.32 และ 0.29 เซนติเมตร

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 13 อัตราการเจริญเฉลี่ยต่อวันของต้นกล้าผักคะน้า ผักกวางตุ้งฮ่องเต้และผักกวางตุ้งใบหยกอายุ 25 วัน ที่ได้รับสารชักนำความต้านทาน

อัตราการเจริญเฉลี่ยของต้นกล้าผักคะน้าที่ได้รับสารชักนำความต้านทานอายุ 25 วัน (เซนติเมตร/วัน)				
	ฉีดสารแล้ว 3 วัน	**ฉีดสารแล้ว 6 วัน**	**ฉีดสารแล้ว 9 วัน**	**ค่าเฉลี่ยอัตราการเจริญ**
control	1.12	0.63	0.46	0.74
CaB[1/]	0.96	0.64	0.51	0.70
BTH	0.63	0.18	0.28	0.36
chitosan	0.94	0.81	1.05	0.93
CaBSS	1.10	0.70	0.46	0.75
CaB/Di[2/]	0.80	1.04	0.77	0.87
BTH/Di	0.57	0.82	0.60	0.66
chitosan/Di	0.57	0.63	0.62	0.60
CaBSS/Di	-0.12	-0.21	0.22	-0.04
อัตราความเจริญเฉลี่ยของต้นกล้าผักกวางตุ้งฮ่องเต้ที่ได้รับสารชักนำความต้านทานอายุ 25 วัน (เซนติเมตร/วัน)				
control	-0.09	0.06	0.08	0.02
CaB	0.49	0.08	0.06	0.21
BTH	-0.09	-0.11	-0.05	-0.08
chitisan	0.09	0.06	0.04	0.06
CaBSS	0.13	0.19	0.16	0.16
CaB/Di	0.11	0.24	0.16	0.17
BTH/Di	0.22	0.27	0.10	0.20
chitisan/Di	-0.04	-0.06	-0.08	-0.06
CaBSS/Di	0.08	0.12	0.07	0.09

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 13 (ต่อ)

อัตราความเจริญเฉลี่ยของต้นกล้าผักกวางตุ้งใบหยกที่ได้รับสารชักนำความต้านทานอายุ 25 วัน (เซนติเมตร/วัน)				
	ฉีดสารแล้ว 3 วัน	**ฉีดสารแล้ว 6 วัน**	**ฉีดสารแล้ว 9 วัน**	**ค่าเฉลี่ยอัตราการเจริญ**
control	0.21	0.29	0.31	0.27
CaB	0.13	0.18	0.23	0.18
BTH	0.28	0.27	0.16	0.24
chitosan	0.17	0.34	0.22	0.24
CaBSS	0.26	0.30	0.25	0.27
CaB/Di	0.11	0.27	0.27	0.22
BTH/Di	0.13	0.32	0.23	0.23
chitosan/Di	0.14	0.39	0.34	0.29
CaBSS/Di	0.11	0.43	0.42	0.32

[1/]วิธีการที่ฉีดพ่นสารชักนำความต้านทาให้พืชโดยไม่ได้ปลูกเชื้อรา *Alternaria brassicicola*

[2/]วิธีการที่ฉีดพ่นสารชักนำความต้านทานแล้ว 2 วันจึงปลูกเชื้อด้วยสารแขวนลอยโคนิเดียของเชื้อรา *Alternaria brassicicola* ความเข้มข้น 10^5 โคนิเดียต่อมิลลิลิตร

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 14 สรุปผลการตอบสนองจากการทดสอบสารชักนำความต้านทานในผักตระกูลกะหล่ำ อายุ 25 วัน

การทดลอง	คะน้า	กวางตุ้งฮ่องเต้	กวางตุ้งใบหยก
ระดับอาการโรค	BTH และ chitosan	BTH และ chitosan	chitosan
การตรวจการเข้าทำลายในเนื้อเยื่อ	BTH และ chitosan	BTH และ chitosan	เกิดน้อย
กิจกรรมเอนไซม์ ppo		BTH	
กิจกรรมเอนไซม์ pox		CaB และ BTH	
กิจกรรมเอนไซม์ pal		BTH และ chitosan	
อัตราการเจริญเฉลี่ย	CaB	CaB	CaBSS
สรุป		BTH และ chitosan	

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

5. การพัฒนาอาการโรคและการเปลี่ยนแปลงของกิจกรรมเอนไซม์ของต้นกล้าผักตระกูลกะหล่ำแบบกึ่งแปลงปลูก

5.1 การพัฒนาอาการโรคของต้นกล้าผักตระกูลกะหล่ำระยะกึ่งแปลงปลูก

จากผลการทดสอบประสิทธิภาพสารชักนำความต้านทานในผักตระกูลกะหล่ำในสภาพโรงเรือนที่อายุพืช 7 วัน และ 25 วัน จะพบว่าพืชที่ได้รับสาร BTH และ chitosan แสดงอาการโรคน้อยกว่าชุดทดสอบอื่นๆจึงได้คัดเลือกสารชักนำความต้านทานเพื่อมาทดสอบการชักนำความต้านทานในระยะกึ่งแปลงปลูกกับ ผักคะน้าและผักกวางตุ้งฮ่องเต้ที่มีอายุ 15 วัน ภายหลังจากการย้ายกล้าปลูกและฉีดพ่นสารชักนำความต้านทานจำนวน 3 ครั้งที่อายุพืชหลังจากการเพาะเมล็ด 15, 21 และ 28 วัน ผลการแสดงอาการของโรคดังแสดงในตารางที่ 15 พบอาการโรคในผักคะน้าเกิดขึ้นวันที่ 5 หลังจากได้รับการปลูกเชื้อ อาการโรคของผักคะน้าที่ได้รับสารชักนำความต้านทาน BTH แสดงอาการโรคน้อยที่สุดเมื่อตรวจสอบอาการโรคที่ระยะเวลา 5, 7, 9, 11, 13 และ 15 วัน โดยแสดงอาการโรค 1.05, 1.09, 1.23, 1.26, 1.39 และ 1.78 ส่วนต้นที่ได้รับสารชักนำความต้านทาน chitosan แสดงอาการโรค น้อยกว่าชุดควบที่ปลูกเชื้อ เท่ากับ 1.07, 1.23, 1.35, 1.37, 1.36 และ 1.82 ตามลำดับ

การฉีดพ่นสารชักนำความต้านทาน BTH และ chitosan จำนวน 3 ครั้งทุกๆ 7 วัน พร้อมทั้งปลูกเชื้อกับต้นกล้าผักกวางตุ้งฮ่องเต้ พบว่าผักเริ่มแสดงอาการโรคหลังจากปลูกเชื้อแล้ว 3 วัน ในผักกวางตุ้งฮ่องเต้ที่ได้รับสาร chitosan จะแสดงอาการโรคน้อยที่สุดเมื่อปลูกเชื้อแล้วในช่วงเวลาที่เก็บข้อมูล 3, 4, 5, 6, 7, 8 และ 9 วัน โดยเกิดอาการโรค 1.22, 1.59, 2.10, 2.26, 2.35, 2.55 และ 2.69 รองลงมาได้แก่ผักกวางตุ้งฮ่องเต้ที่ได้รับสาร BTH แสดงอาการโรคน้อยกว่าชุดควบคุมที่ปลูกโรคเท่ากับ 1.35, 1.71, 2.11, 2.33, 2.48, 2.66 และ 2.79 ตามลำดับ

ประสิทธิภาพของสารทดสอบชักนำความต้านทาน BTH และ chitosan ที่ฉีดพ่นให้ผักตระกูลกะหล่ำในระยะกึ่งแปลงปลูก พบว่าสารชักนำความต้านทาน BTH มีประสิทธิภาพในการลดการเกิดโรคได้ดีในผักคะน้าและสารชักนำความต้านทาน chitosan มีประสิทธิภาพลดการเกิดโรคได้ดีในผักกวางตุ้งฮ่องเต้ อันเป็นผลเนื่องมาจากพันธุ์ของผักแต่ละชนิดอาจมีการตอบสนองต่อสารชักนำความต้านทานที่แตกต่างกัน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 15 ค่าเฉลี่ยของการพัฒนาอาการโรค (ระดับ 1- 13) ของต้นกล้าผักคะน้าและผักกวางตุ้งฮ่องเต้ระยะกึ่งแปลงปลูก

อาการโรคผักคะน้าระดับกึ่งแปลงปลูก (ฉีดสารชักนำความต้านทานครั้งที่ 2 แล้ว 2 วันจึงปลูกเชื้อ AL2)						
	ปลูกเชื้อ 5 วัน	**ปลูกเชื้อ 7 วัน**	**ปลูกเชื้อ 9 วัน**	**ปลูกเชื้อ 11 วัน**	**ปลูกเชื้อ 13 วัน**	**ปลูกเชื้อ 15 วัน**
control/di[2/]	1.09	1.16	1.31	1.47	1.99a[1/]	2.61a
BTH	1.05	1.09	1.23	1.26	1.39b	1.78b
chitosan	1.07	1.23	1.35	1.37	1.36b	1.82b
F-test	ns	ns	ns	ns	***	*
CV	14.41	20.69	39.29	39.52	27.67	39.53

อาการโรคผักกวางตุ้งฮ่องเต้ระดับกึ่งแปลงปลูก (ฉีดสารชักนำความต้านทานครั้งที่ 2 แล้ว 2 วันจึงปลูกเชื้อ AL2)							
	ปลูกเชื้อ 3 วัน	**ปลูกเชื้อ 4 วัน**	**ปลูกเชื้อ 5 วัน**	**ปลูกเชื้อ 6 วัน**	**ปลูกเชื้อ 7 วัน**	**ปลูกเชื้อ 8 วัน**	**ปลูกเชื้อ 9 วัน**
control/di	1.73a	2.08a	2.34	2.35	2.56	2.90a	3.04a
BTH	1.35b	1.71b	2.11	2.33	2.48	2.66ab	2.79ab
chitosan	1.22b	1.59b	2.10	2.26	2.35	2.55a	2.69b
F-test	***	***	ns	ns	ns	*	ns
CV	27.82	19.52	19.92	14.78	16.15	15.18	16.14

[1/]ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตามวิธี Duncan's new multiple range test (DMRT) P = 0.05

[2/] control/di = ชุดควบคุมที่ปลูกเชื้อรา

ns = ไม่มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ

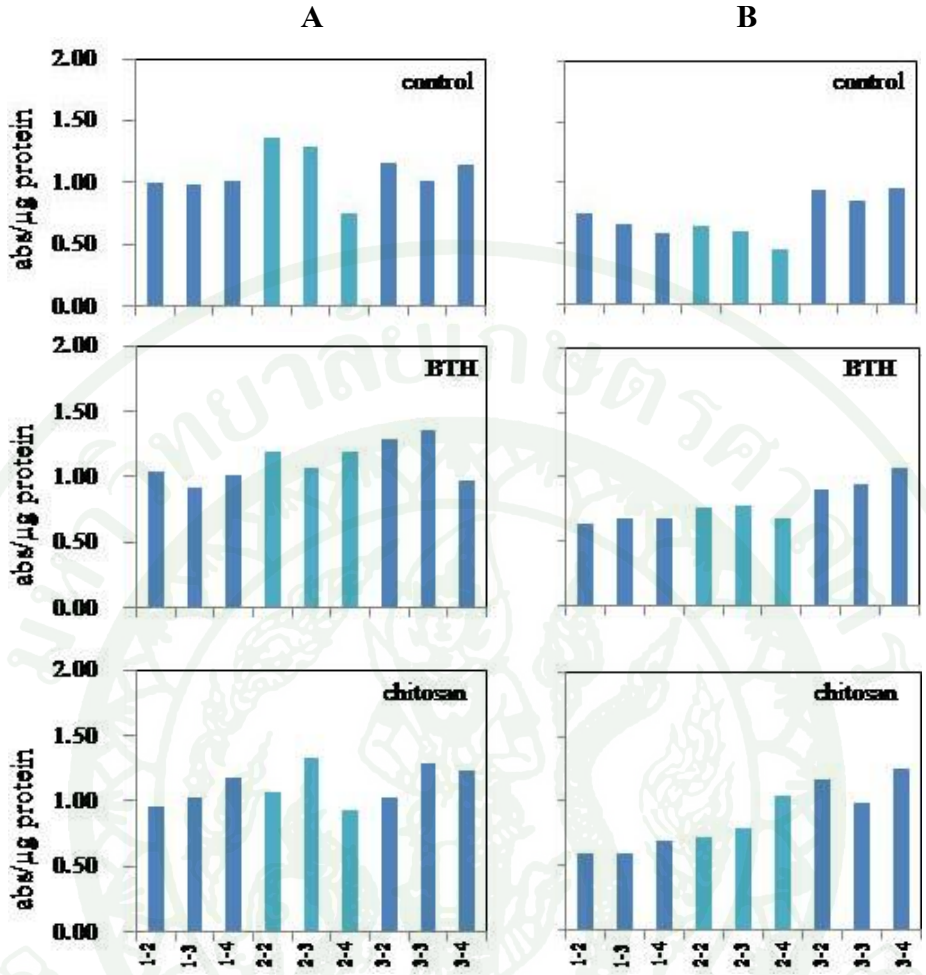
ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

5.2 การเปลี่ยนแปลงของกิจกรรมเอนไซม์ผักตระกูลกะหล่ำระยะกึ่งแปลงปลูก

เมื่อตรวจกิจกรรมเอนไซม์ของผักคะน้า และผักกวางตุ้งฮ่องเต้ที่ทดสอบในระยะกึ่งแปลงปลูก ผลที่ได้รับสารชักนำความต้านทาน Benzo-(1,2,3)-thiadiazole-7-carbothioic acid S-methylester (BTH), chitosan และชุดควบคุมน้ำนึ่งฆ่าเชื้อ ฉีดพ่นสารชักนำความต้านทาน 3 ครั้ง ดังแสดงในรูปที่ 23 พบว่ากิจกรรมเอนไซม์ ppo ของผักคะน้าที่ได้รับสารชักนำความต้านทานครั้งที่ 3 แล้ว มีกิจกรรมเอนไซม์เพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ปริมาณกิจกรรมเอนไซม์ ppo เกิดขึ้นเท่ากับ 1.29, 1.36 และ 0.97 abs/µg protein เมื่อได้รับสาร BTH และเมื่อได้รับสาร chitosan กิจกรรมเอนไซม์ ppo เกิดขึ้นเท่ากับ 1.03, 1.29 และ 1.24 abs/µg protein กิจกรรมเอนไซม์ ppo ของผักกวางตุ้งฮ่องเต้พบว่า การได้รับสารชักนำความต้านทานครั้งที่ 3 แล้วมีค่ากิจกรรมเอนไซม์เกิดขึ้นเท่ากับ 0.90, 0.94 และ 0.98 abs/µg protein เมื่อได้รับสาร BTH และ1.17, 0.99 และ 1.25 abs/µg protein เมื่อได้รับสาร chitosan

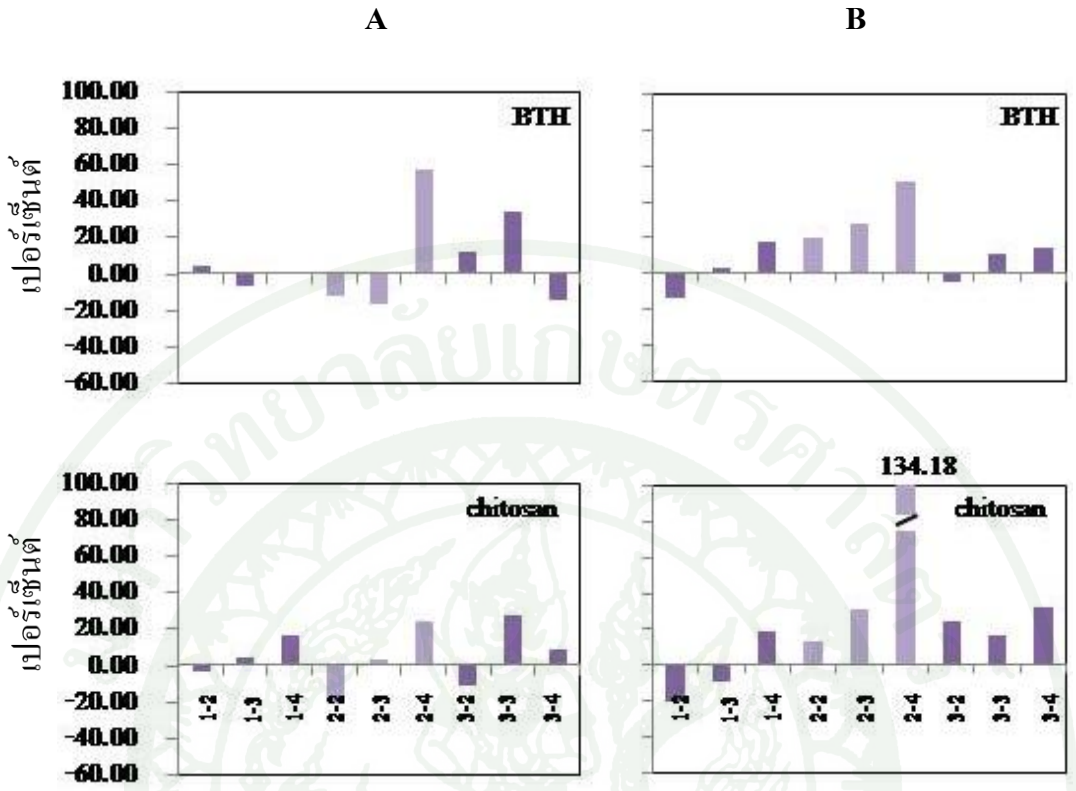
เปอร์เซ็นต์ความแตกต่างของกิจกรรมเอนไซม์ ppo ของผักคะน้าและผักกวางตุ้งฮ่องเต้ ดังแสดงในภาพที่ 24 ในชุดที่ได้รับสารชักนำความต้านทานเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่ได้รับสารชักนำความต้านทาน พบว่าในผักคะน้าที่ได้รับสารชักนำความต้านทานมีค่าเปอร์เซ็นต์ความแตกต่างของกิจกรรมเอนไซม์ ppo เมื่อได้รับสาร BTH ครั้งที่ 3 แล้ว 2 และ 3 วัน เกิดเปอร์เซ็นต์ความแตกต่างเท่ากับ 12.21 และ 33.84 เปอร์เซ็นต์ และ 27.61 และ 8.43 เปอร์เซ็นต์ เมื่อได้รับสาร chitosan แล้ว 3 และ 4 วัน สำหรับผักกวางตุ้งฮ่องเต้มีเปอร์เซ็นต์ความแตกต่างของกิจกรรมเอนไซม์ ppo เท่ากับ 10.63 และ 13 89 เปอร์เซ็นต์หลังจากรับสาร BTH แล้ว 3 และ 4 วัน และการได้รับสาร chitosan แล้ว 2, 3 และ 4 วันเกิดเปอร์เซ็นต์ความแตกต่างของกิจกรรมเอนไซม์ ppo เท่ากับ 24.53, 16.11 และ 32.23 เปอร์เซ็นต์

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 23 ค่ากิจกรรมเอนไซม์ polyphenoloxidase (ppo) (abs/µg protein) ในต้นกล้า A) ผักคะน้า และ B) ผักกวางตุ้งฮ่องเต้ ที่ได้รับสารชักนำความต้านทาน 3 ครั้งและปลูกเชื้อ *Alternaria brassicicola* ภายหลังได้รับสารชักนำความต้านทานครั้งที่ 2 แล้ว 2 วันโดย 1-2 ถึง 1-4 เป็นพืชที่ได้รับสารชักนำความต้านทานครั้งที่ 1 สำหรับ 2-2 ถึง 2-4 เป็นชุดที่ได้รับสารชักนำความต้านทานครั้งที่ 2 และผ่านการปลูกเชื้อ 1-2 วัน และ 3-2 ถึง 3-4 เป็นชุดที่ได้รับสารชักนำความต้านทานครั้งที่ 3 และผ่านการปลูกเชื้อแล้ว 7-9 วัน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



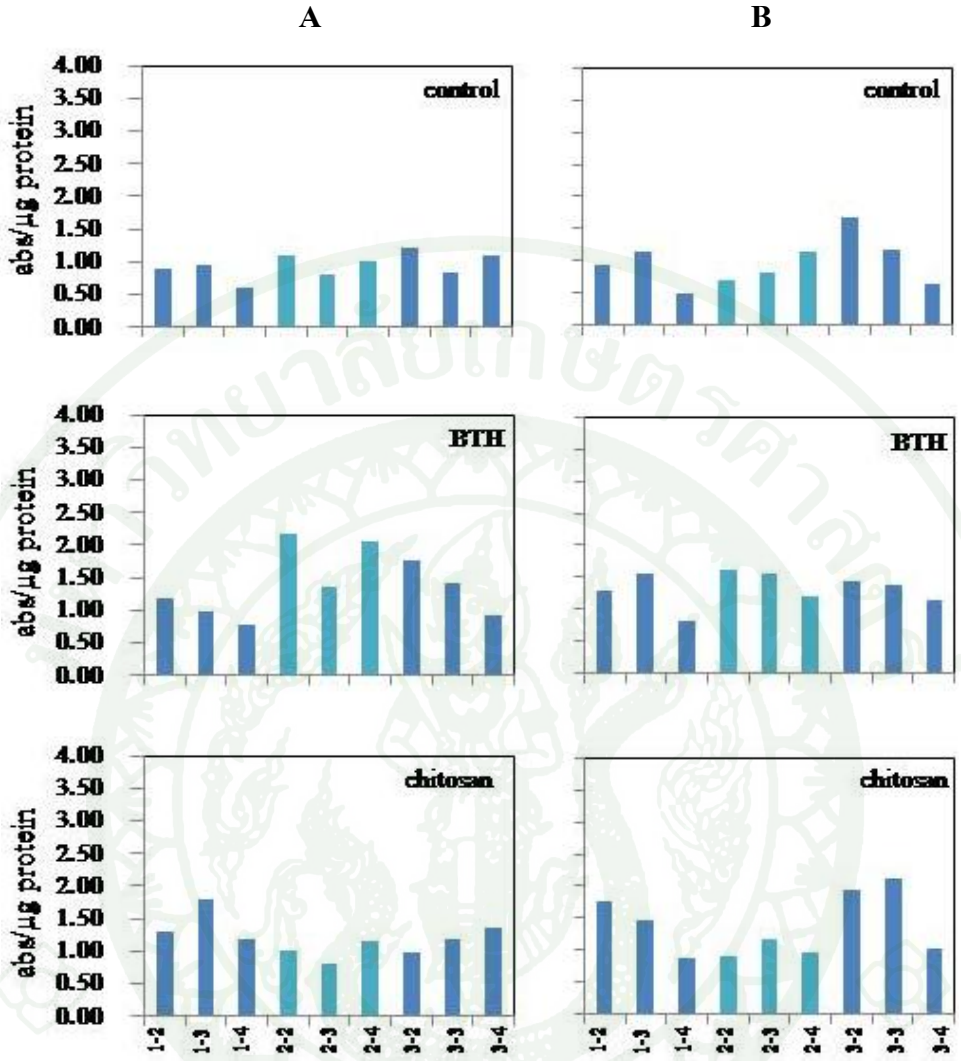
ภาพที่ 24 เปอร์เซ็นต์ความแตกต่างของกิจกรรมเอนไซม์ polyphenoloxidase (ppo) ระหว่างชุดที่ได้รับสารชักนำแล้วปลูกเชื้อเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่ได้รับสารชักนำใน A) ผักคะน้า และ B) ผักกวางตุ้งฮ่องเต้ โดย 1-2 ถึง 1-4 เป็นพืชที่ได้รับสารชักนำความต้านทานครั้งที่ 1 สำหรับ 2-2 ถึง 2-4 เป็นชุดที่ได้รับสารชักนำความต้านทานครั้งที่ 2 และผ่านการปลูกเชื้อ 1-2 วัน และ 3-2 ถึง 3-4 เป็นชุดที่ได้รับสารชักนำความต้านทานครั้งที่ 3 และผ่านการปลูกเชื้อแล้ว 7-9 วัน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

กิจกรรมเอนไซม์ pox ของผักคะน้าและผักกวางตุ้งฮ่องเต้ดังแสดงในภาพที่ 25 กิจกรรมเอนไซม์ pox หลังจากได้รับสารชักนำความต้านทานครั้งที่ 3 แล้ว 2, 3 และ 4 วัน โดยผักคะน้าที่ได้รับสาร BTH มีกิจกรรมเอนไซม์ pox เกิดขึ้นเท่ากับ 1.76, 1.41 และ 0.94 abs/µg protein และสาร chitosan เกิดขึ้นเท่ากับ 0.98, 1.18 และ 1.36 abs/µg protein เช่นเดียวกับผักกวางตุ้งฮ่องเต้ที่ได้รับสาร BTH มีกิจกรรมเอนไซม์ pox เกิดเท่ากับ 1.43, 1.38 และ 1.14 abs/µg protein และสาร chitosan เกิดเท่ากับ 1.93, 2.13 และ 1.03 abs/µg protein

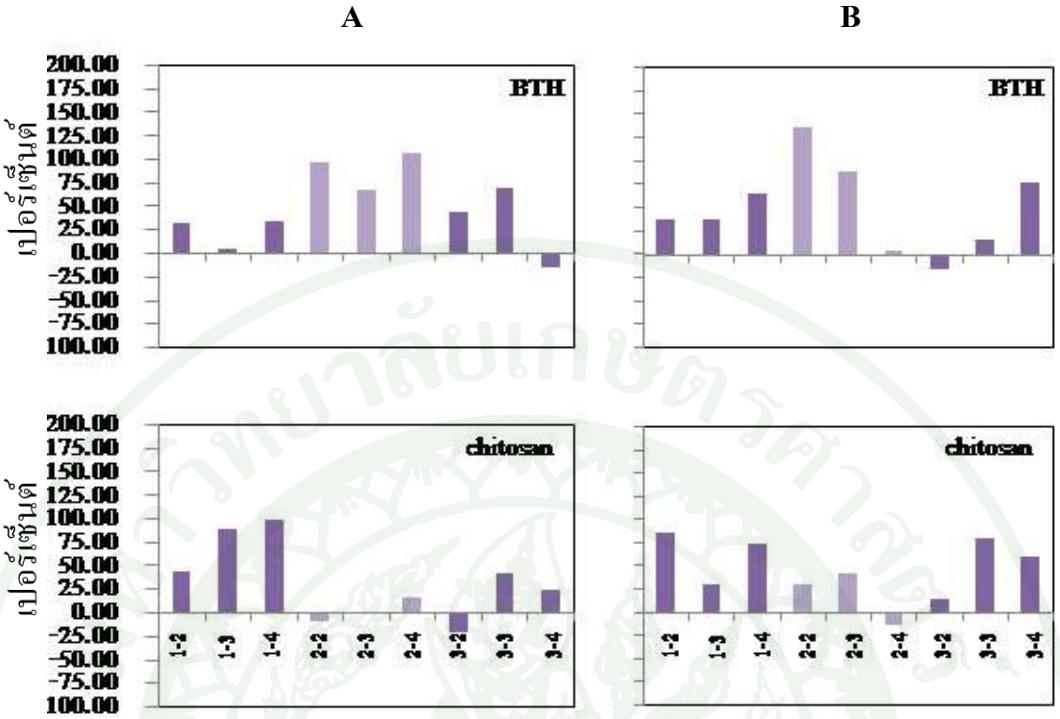
เปอร์เซ็นต์ความแตกต่างของกิจกรรมเอนไซม์ pox ในผักคะน้าและผักกวางตุ้งฮ่องเต้ดังแสดงในภาพที่ 26 ผักคะน้าและผักกวางตุ้งฮ่องเต้เกิดเปอร์เซ็นต์ความแตกต่างมากที่สุดเมื่อได้รับสาร BTH ครั้งที่ 2 แล้ว 2, 3 และ 4 วันเท่ากับ 96.28, 66.70 และ 106.38 เปอร์เซ็นต์ และ 135.63, 88.92 และ 5.03 เปอร์เซ็นต์ ภายหลังได้รับสาร chitosan เปอร์เซ็นต์ความแตกต่างของกิจกรรมเอนไซม์ pox ในผักคะน้าและกวางตุ้งฮ่องเต้เกิดมากเมื่อได้รับสารชักนำความต้านทานครั้งแรกเกิดความแตกต่างเท่ากับ 43.16, 89.41 และ 98.92 เปอร์เซ็นต์ และ 85.21, 29.34 และ 74.61 เปอร์เซ็นต์

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 25 ค่ากิจกรรมเอนไซม์ peroxidase (pox) (abs/µg protein) ในต้นกล้า A) ผักคะน้า และ B) ผักกวางตุ้งฮ่องเต้ ที่ได้รับสารชักนำความต้านทาน 3 ครั้งและปลูกเชื้อ *Alternaria brassicicola* ภายหลังได้รับสารชักนำความต้านทานครั้งที่ 2 แล้ว 2 วัน โดย 1-2 ถึง 1-4 เป็นพืชที่ได้รับสารชักนำความต้านทานครั้งที่ 1 สำหรับ 2-2 ถึง 2-4 เป็นชุดที่ได้รับสารชักนำความต้านทานครั้งที่ 2 และผ่านการปลูกเชื้อ 1-2 วัน และ 3-2 ถึง 3-4 เป็นชุดที่ได้รับสารชักนำความต้านทานครั้งที่ 3 และผ่านการปลูกเชื้อแล้ว 7-9 วัน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



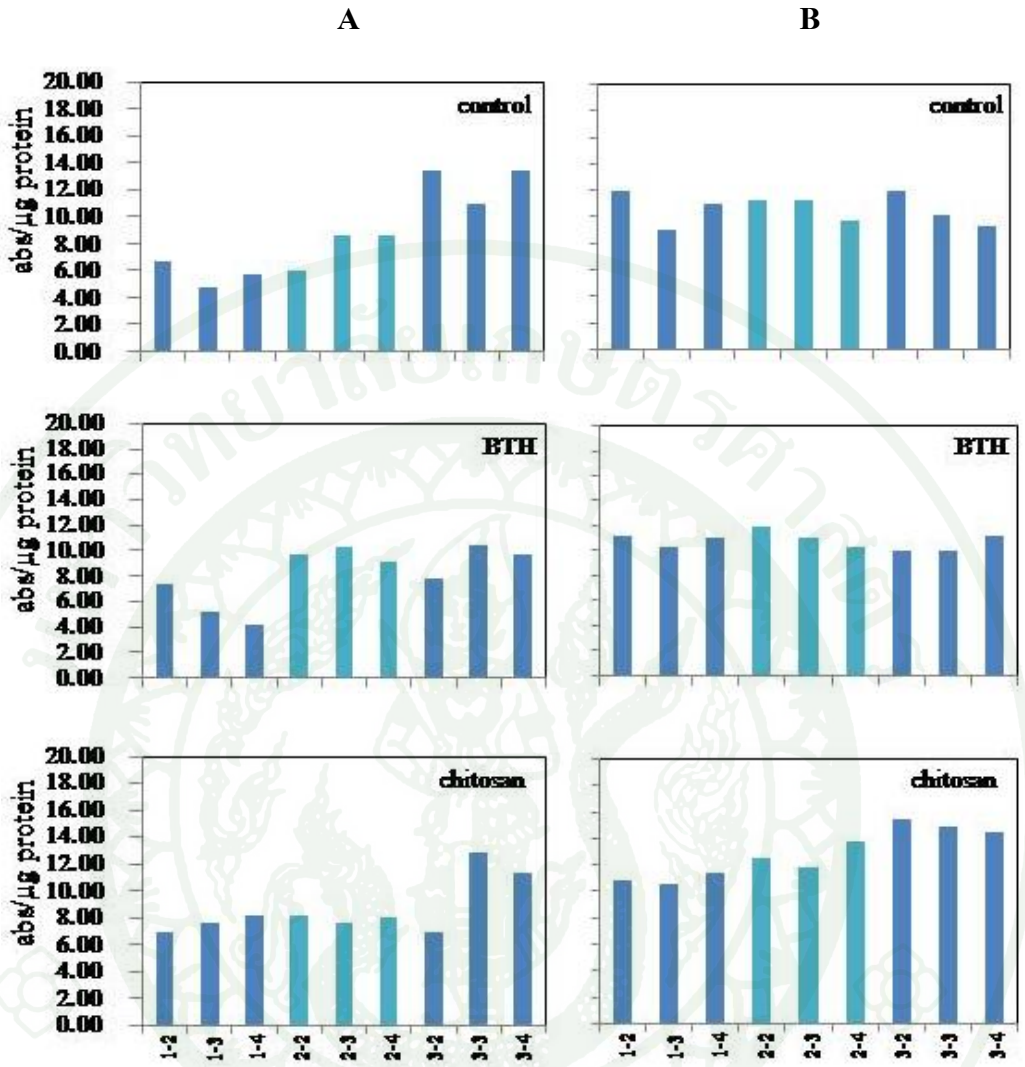
ภาพที่ 26 เปอร์เซ็นต์ความแตกต่างของกิจกรรมเอนไซม์ peroxidase (pox) ระหว่างชุดที่ได้รับสารชักนำแล้วปลูกเชื้อเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่ได้รับสารชักนำใน A) ผักคะน้า และ B) ผักกวางตุ้งฮ่องเต้ โดย 1-2 ถึง 1-4 เป็นพืชที่ได้รับสารชักนำความต้านทานครั้งที่ 1 สำหรับ 2-2 ถึง 2-4 เป็นชุดที่ได้รับสารชักนำความต้านทานครั้งที่ 2 และผ่านการปลูกเชื้อ 1-2 วัน และ 3-2 ถึง 3-4 เป็นชุดที่ได้รับสารชักนำความต้านทานครั้งที่ 3 และผ่านการปลูกเชื้อแล้ว 7-9 วัน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การเกิดกิจกรรมเอนไซม์ pal ของผักคะน้าและผักกวางตุ้งฮ่องเต้ดังแสดงในภาพที่ 27 ที่ได้รับสารชักนำความต้านทาน BTH และ chitosan พบว่ากิจกรรมเอนไซม์ pal เกิดขึ้นเมื่อได้รับสารชักนำความต้านทาน BTH ครั้งที่ 2 แล้ว 2, 3 และ 4 วัน เท่ากับ 9.64, 10.31, 9.12 abs/µg protein ในผักคะน้าและ 11.88, 11.07 และ 10.26 abs/µg proteinในผักกวางตุ้งฮ่องเต้ สำหรับการได้รับสารชักนำความต้านทาน chitosan เกิดกิจกรรมเอนไซม์ pal เกิดขึ้นในผักคะน้าและผักกวางตุ้งฮ่องเต้เมื่อได้รับสารชักนำความต้านทานครั้งที่ 3 แล้ว 2, 3 และ 4 วัน เท่ากับ 7.00, 12.90 และ 11.40 abs/µg protein และ 15.40, 14.79 และ 14.40 abs/µg protein

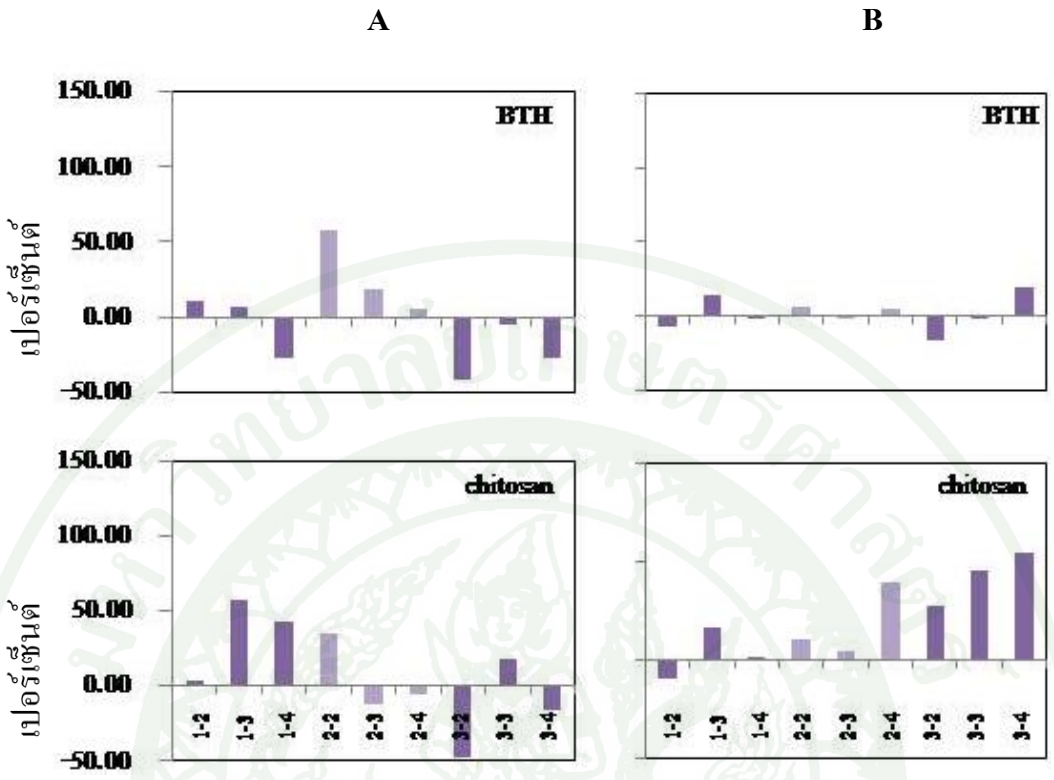
เปอร์เซ็นต์ความแตกต่างของกิจกรรมเอนไซม์ pal ในผักคะน้าและผักกวางตุ้งฮ่องเต้ดังแสดงในภาพที่ 28 เปอร์เซ็นต์ความแตกต่างของกิจกรรมเอนไซม์ pal ในผักคะน้ามีเปอร์เซ็นต์ความแตกต่างเกิดขึ้นในวันที่ได้รับสาร BTH และ chitosan ครั้งที่ 1 เกิดเปอร์เซ็นต์ความแตกต่างเท่ากับ 10.26 และ 7.36 เปอร์เซ็นต์ภายหลังได้รับสาร BTH แล้ว 2 และ 3 วัน และเกิดเปอร์เซ็นต์ความแตกต่างเท่ากับ 3.08, 57.36 และ 42.18 เปอร์เซ็นต์ภายหลังได้รับสาร chitosan แล้ว 2, 3 และ 4 วัน การเกิดเปอร์เซ็นต์ความแตกต่างในผักกวางตุ้งฮ่องเต้เกิดขึ้นเมื่อได้รับสาร chitosan ครั้งที่ 3 แล้ว 2, 3 และ 4 วัน เท่ากับ 27.78, 45.60 และ 54.62 เปอร์เซ็นต์

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 27 ค่ากิจกรรมเอนไซม์ polyphenylalanine ammonia lyase (pal) (abs/µg protein) ในต้นกล้า A) ผักคะน้า และ B) ผักกวางตุ้งฮ่องเต้ ที่ได้รับสารชักนำความต้านทาน 3 ครั้ง และปลูกเชื้อ *Alternaria brassicicola* ภายหลังได้รับสารชักนำความต้านทานครั้งที่ 2 แล้ว 2 วัน โดย 1-2 ถึง 1-4 เป็นพืชที่ได้รับสารชักนำความต้านทานครั้งที่ 1 สำหรับ 2-2 ถึง 2-4 เป็นชุดที่ได้รับสารชักนำความต้านทานครั้งที่ 2 และผ่านการปลูกเชื้อ 1-2 วัน และ 3-2 ถึง 3-4 เป็นชุดที่ได้รับสารชักนำความต้านทานครั้งที่ 3 และผ่านการปลูกเชื้อแล้ว 7-9 วัน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 28 เปอร์เซ็นต์ความแตกต่างของกิจกรรมเอนไซม์ polyphenylalanine ammonia lyase (pal) ระหว่างชุดที่ได้รับสารชักนำแล้วปลูกเชื้อเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่ได้รับสารชักนำใน A) ผักคะน้า และ B) ผักกวางตุ้งฮ่องเต้ โดย 1-2 ถึง 1-4 เป็นพืชที่ได้รับสารชักนำความต้านทานครั้งที่ 1 สำหรับ 2-2 ถึง 2-4 เป็นชุดที่ได้รับสารชักนำความต้านทานครั้งที่ 2 และผ่านการปลูกเชื้อ 1-2 วัน และ 3-2 ถึง 3-4 เป็นชุดที่ได้รับสารชักนำความต้านทานครั้งที่ 3 และผ่านการปลูกเชื้อแล้ว 7-9 วัน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

5.3 การเปลี่ยนแปลงความสูงทรงพุ่มของผักตระกูลกะหล่ำระยะกึ่งแปลงปลูกที่ได้รับสารชักนำความต้านทาน

ผลทำการตรวจวัดความสูงของต้นกล้าผักคะน้าและผักกวางตุ้งฮ่องเต้ที่ได้รับสารชักนำความต้านทาน BTH, chitosan, ชุดควบคุมน้ำนึ่งฆ่าเชื้อและปลูกเชื้อ และชุดควบคุมน้ำนึ่งฆ่าเชื้อดังแสดงในตารางที่ 16 พบว่าความสูงของต้นกล้าผักคะน้าหลังจากได้รับสารชักนำความต้านทาน 3 ครั้ง มีความสูงเฉลี่ยเพิ่มขึ้นโดยพบว่าความสูงครั้งสุดท้ายที่ต้นกล้าได้รับสารชักนำความต้านทานครั้งที่ 3 มีความสูงเฉลี่ย 18.32, 16.66, 16.64 และ 17.75 เซนติเมตร การตรวจวัดความสูงของต้นกล้าผักกวางตุ้งฮ่องเต้ พบว่าความสูงเฉลี่ยของต้นกล้าผักหลังจากได้รับสารชักนำความต้านทานทั้ง 3 ครั้ง มีความสูงเพิ่มขึ้นเล็กน้อย ซึ่งมีความสูงเฉลี่ยเมื่อตรวจวัดครั้งสุดท้ายเท่ากับ 9.18, 11.36, 11.87 และ 12.41 เซนติเมตร

การหาอัตราการเจริญของต้นกล้าผักคะน้าและผักกวางตุ้งฮ่องเต้ที่ได้รับสารชักนำความต้านทานพบว่าอัตราการเจริญเฉลี่ยของต้นกล้าผักตระกูลกะหล่ำทั้ง 2 ชนิด ดังแสดงในตารางที่ 17 ที่ได้รับสารชักนำความต้านทาน BTH และ chitosan มีอัตราการเจริญเฉลี่ยน้อยกว่าชุดควบคุม

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 16 ความสูงของต้นกล้าผักคะน้าและผักกวางตุ้งฮ่องเต้ระยะกึ่งแปลงปลูก

ความสูงเฉลี่ยของต้นกล้าผักคะน้าที่ได้รับสารชักนำความต้านทานระยะกึ่งแปลงปลูก (เซนติเมตร)			
	ฉีดสารชักนำความต้านทานครั้งที่ 1	**ฉีดสารชักนำความต้านทานครั้งที่ 2**	**ฉีดสารชักนำความต้านทานครั้งที่ 3**
control	12.84	16.49	17.75
control/di[2/]	11.89	15.67	16.66
BTH	13.21	17.16	18.32
chitosan	12.47	15.68	16.64
F-test	ns	ns	ns[3/]
CV	8.28	7.70	8.64
ความสูงเฉลี่ยของต้นกล้าผักกวางตุ้งฮ่องเต้ที่ได้รับสารชักนำความต้านทานระยะกึ่งแปลงปลูก (เซนติเมตร)			
	ฉีดสารชักนำความต้านทานครั้งที่ 1	**ฉีดสารชักนำความต้านทานครั้งที่ 2**	**ฉีดสารชักนำความต้านทานครั้งที่ 3**
control	9.13a[1/]	10.31a	12.41a
control/di	8.47ab	9.97a	11.87a
BTH	7.69b	8.03b	9.18b
chitosan	8.19ab	9.34a	11.36a
F-test	ns	**	***
CV	12.25	10.64	12.14

[1/]ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตามวิธี Duncan's new multiple range test (DMRT) P = 0.05

[2/] control/di = ชุดควบคุมที่ปลูกเชื้อรา

[3/]ns = ไม่มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 17 อัตราการเจริญเฉลี่ยต่อวันของต้นกล้าผักคะน้าและผักกวางตุ้งฮ่องเต้ที่ได้รับสารชักนำความต้านทาน

อัตราการเจริญเฉลี่ยของต้นกล้าผักคะน้าที่ได้รับสารชักนำความต้านทานระยะกึ่งแปลงปลูก (เซนติเมตรต่อวัน)				
	ฉีดสารชักนำความต้านทานครั้งที่ 1	**ฉีดสารชักนำความต้านทานครั้งที่ 2**	**ฉีดสารชักนำความต้านทานครั้งที่ 3**	**ค่าเฉลี่ยอัตราการเจริญ**
control	0.2125	0.2607	0.0600	0.1777
control/di	0.1101	0.2700	0.0471	0.1424
BTH	0.1484	0.2821	0.0552	0.1619
chitosan	0.1807	0.2293	0.0457	0.1519
อัตราการเจริญเฉลี่ยของต้นกล้าผักกวางตุ้งฮ่องเต้ที่ได้รับสารชักนำความต้านทานระยะกึ่งแปลงปลูก (เซนติเมตรต่อวัน)				
	ฉีดสารชักนำความต้านทานครั้งที่ 1	**ฉีดสารชักนำความต้านทานครั้งที่ 2**	**ฉีดสารชักนำความต้านทานครั้งที่ 3**	**ค่าเฉลี่ยอัตราการเจริญ**
control	0.0002	0.0843	0.1000	0.0615
control/di	0.0005	0.1071	0.0905	0.0660
BTH	0.0006	0.0243	0.0548	0.0266
chitosan	0.0006	0.0821	0.0962	0.0596

[1/] control/di = ชุดควบคุมที่ปลูกเชื้อรา

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 18 สรุปการตอบสนองของกิจกรรมทดสอบสารชักนำความต้านทานในผักตระกูลกะหล่ำระยะกึ่งแปลงปลูก

การทดลอง	ผักคะน้า	ผักกวางตุ้งฮ่องเต้
ระดับอาการโรค	BTH	Chitosan และ BTH
กิจกรรมเอนไซม์ ppo	BTH,	Chitosan
กิจกรรมเอนไซม์ pox	BTH,	Chitosan
กิจกรรมเอนไซม์ pal	BTH,	Chitosan
อัตราการเจริญเฉลี่ย	สาร BTH และ chitosan ไม่มีผลต่อผักทั้ง 2 ชนิด	
สรุป	BTH และ chitosan	

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สรุป

จากการแยกตัวอย่างใบคะน้าที่เป็นโรคใบจุด Alternaria ด้วยวิธี Tissue transplanting สามารถแยกเชื้อราได้ 2 สายพันธุ์ คือ สายพันธุ์ AL1 และ สายพันธุ์ AL2 โดยได้ลักษณะโคโลนีเชื้อราที่เลี้ยงบนอาหาร PDA เชื้อราสายพันธุ์ AL1 ให้โคโลนีสีน้ำตาล ขอบโคโลนีไม่เรียบสม่ำเสมอ และมีเส้นใยสีขาวบางๆขึ้นปกคลุมทั่วทั้งโคโลนี ลักษณะของเส้นใยฟูปานกลาง เชื้อราสายพันธุ์ AL2 มีโคโลนีกลม ขอบเรียบ โคโลนีมีเขียวเมื่ออายุ 3 - 7 วัน และเปลี่ยนเป็นสีดำเมื่อมีอายุ 8 - 14 วัน เส้นใยไม่ฟู โคนิเดียบนโคโลนีมีสีดำ แต่เมื่อส่องสะท้อนกับแสงไฟสีโคโลนีจะเหลือบสีเขียวมะกอก เมื่อวัดการเจริญเติบโตเชื้อรา AL1 ใช้เวลา 10 วัน ในการเจริญเติมจานอาหารเลี้ยงเชื้อ ส่วนเชื้อรา AL2 ใช้เวลา 11 วัน ในการเจริญเต็มอาหารเลี้ยงเชื้อ และเมื่อตรวจดูลักษณะโครงสร้างด้วยวิธี slide culture พบว่าเชื้อราสายพันธุ์ AL1 มีโคนิเดียใหญ่ มีผนังกั้นเซลล์แบบตามยาวหรือเอียง (longitudinal septa) จำนวน 1 - 2 septum และตามขวาง (transverse septa) จำนวน 3 - 5 septum และมี beak เชื้อราสายพันธุ์ AL2 มีโคนิเดียขนาดเล็กพบผนังกั้นเซลล์ตามขวาง (transverse septa) จำนวน 3 - 4 septum ไม่พบผนังกั้นเซลล์ตามยาว (longitudinal septa) และไม่พบ beak ซึ่งเมื่อทำการจำแนกพบว่าเชื้อราสายพันธุ์ AL2 คือ *A. brassicicola* ที่เป็นเชื้อราสาเหตุก่อโรคใบจุดในผักตระกูลกะหล่ำ

การทดสอบความสามารถในการก่อโรคพบว่าเชื้อราสายพันธุ์ AL2 สามารถก่อโรคในต้นกล้าผักคะน้าอายุ 7 วัน หลังจากปลูกเชื้อไปแล้ว 48 ชั่วโมง ต้นกล้าเริ่มแสดงอาการโรคและต้นกล้าตายหลังจากปลูกเชื้อสายพันธุ์ AL2 แล้ว 96 ชั่วโมง สำหรับเชื้อราสายพันธุ์ AL1 ไม่สามารถก่อให้เกิดโรคได้ในผักคะน้าตลอดช่วงเวลาทดสอบ

การตรวจหาความเข้มข้นของโคนิเดียเชื้อราที่เหมาะสม โดยทำการทดสอบที่ความเข้มข้นของสารแขวนลอยโคนิเดียเชื้อรา *A. brassicicola* (AL2) ที่ระดับความเข้มข้น 10^4, 10^5 และ 10^6 โคนิเดียต่อมิลลิลิตร ทำการปลูกเชื้อกลับเข้าสู่ต้นกล้าผักทั้ง 3 ชนิด คือ ผักคะน้า ผักกวางตุ้งฮ่องเต้ และผักกวางตุ้งใบหยก ที่มีอายุ 10 วัน พบว่าความเข้มข้นที่เหมาะสมเพื่อใช้ทำการทดลองคือ 10^5 โคนิเดียต่อมิลลิลิตร ซึ่งผักทั้ง 3 ชนิดแสดงอาการโรคแบบมีพัฒนาการของอาการโรค

จากการฉีดพ่นสารชักนำความต้านทาน 4 ชนิดได้แก่ CaB, BTH, chitosan และ CaBSS ให้แก่ต้นกล้าผักคะน้า ผักกวางตุ้งฮ่องเต้และผักกวางตุ้งใบหยกอายุ 7 และ 25 วัน แล้ว 2 วันจึงปลูกเชื้อรา *A. brassicicola* พบว่าสารชักนำความต้านทาน CaB จะทำให้ผักคะน้าและผักกวางตุ้งฮ่องเต้

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

อายุ 7 วันแสดงอาการโรคน้อยกว่าชุดควบคุม สำหรับผักกวางตุ้งใบหยกอาการโรคเกิดน้อยกว่าชุดควบคุมเมื่อได้รับสาร CaB และ chitosan อาการโรคของต้นกล้าผักตระกูลกะหล่ำอายุ 25 วัน ภายหลังได้รับสาร BTH และ chitosan สามารถทำให้แสดงอาการโรคน้อยในผักคะน้าและผักกวางตุ้งใบหยก สำหรับผักกวางตุ้งฮ่องเต้ภายหลังได้รับสาร chitosan ทำให้ต้นกล้าแสดงอาการโรคน้อยกว่าชุดควบคุม

การตรวจสอบตัวอย่างเนื้อเยื่อพืชที่ถูกเชื้อรา *A. brassicicola* เข้าทำลายภายหลังได้รับสารชักนำความต้านทานแล้ว 2 วัน จึงปลูกเชื้อ พบว่าลักษณะของเนื้อเยื่อตัวอย่างพืชที่อายุ 7 วัน ผักคะน้าเกิดการตอบสนองมากที่สุด รองลงมาคือผักกวางตุ้งใบหยก และผักกวางตุ้งฮ่องเต้มีการตอบสนองต่อสารชักนำความต้านทานน้อยที่สุด พบว่าลักษณะการตอบสนองของพืชเกิดขึ้นโดยเซลล์มีการเปลี่ยนสีเป็นสีน้ำตาลรอบๆบริเวณที่มีเชื้อเข้าทำลายในชุดที่ได้รับสารชักนำความต้านทานมากกว่าชุดควบคุมเนื่องจากพืชเกิดการป้องกันตัวเองไม่ให้เชื้อโรคเข้าทำลายได้ง่ายโดยเกิดการสะสมฟีนอลหรือเกิด lignifications ภายหลังได้รับสาร CaB, BTH และ chitosan สำหรับตัวอย่างพืชอายุ 25 วัน พบการเปลี่ยนแปลงของเซลล์บริเวณที่ถูกเชื้อเข้าทำลายพบว่าในผักคะน้าและผักกวางตุ้งใบหยกมีการตอบสนองในการป้องกันตัวได้ดีภายหลังจากได้รับสาร BTH และ chitosan โดยเซลล์รอบๆบริเวณที่เชื้อเข้าทำลายมีการเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลมากกว่าชุดควบคุม แต่ผักกวางตุ้งฮ่องเต้มีการตอบสนองในการป้องกันตัวเองของพืชเกิดน้อยภายหลังได้รับสารชักนำความต้านทานทุกชนิดเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม แต่ผักคะน้าและผักกวางตุ้งใบหยกชุดที่ได้รับสารชักนำความต้านทานมีการป้องกันตัวเองของพืชดีกว่า

เปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนแปลงกิจกรรมเอนไซม์ ppo, pox และ pal ของผักตระกูลกะหล่ำอายุ 7 วัน พบกิจกรรมเอนไซม์ ppo ในผักคะน้าที่ได้รับสารชักนำความต้านทานแล้ว 3 วัน ปลูกเชื้อ 1 วัน มีเพิ่มมากขึ้นจากชุดควบคุม สำหรับผักกวางตุ้งฮ่องเต้และกวางตุ้งใบหยกกิจกรรมเอนไซม์ ppo เกิดมากที่สุดหลังจากรับสารแล้ว 5 วัน ปลูกเชื้อ 3 วัน กิจกรรมเอนไซม์ pox ของผักทั้ง 3 ชนิดเกิดกิจกรรมเอนไซม์มากที่สุดเมื่อได้รับสารชักนำความต้านทานแล้ว 5 วัน ปลูกเชื้อ 3 วัน และกิจกรรมเอนไซม์ pal ผักคะน้าเกิดมากสุดเมื่อได้รับสาร 5 วัน ปลูกเชื้อ 3 วัน ผักกวางตุ้งฮ่องเต้เกิดดีเมื่อได้รับสาร 3 วัน ปลูกเชื้อ 1 วัน และผักกวางตุ้งใบหยก เกิดดีเมื่อได้รับสารแล้ว 4 วัน ปลูกเชื้อ 2 วัน และได้รับสาร 5 วัน ปลูกเชื้อ 3 วัน เปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนแปลงกิจกรรมเอนไซม์ ppo, pox และ pal ในผักตระกูลกะหล่ำอายุ 25 วัน กิจกรรมเอนไซม์ทั้ง 3 ชนิดเกิดมากที่สุดหลังจากรับสารชักนำความต้านทานแล้วแล้ว 3 วัน ปลูกเชื้อ 1 วัน ในผักคะน้าและผักกวางตุ้งใบหยก สำหรับผักกวางตุ้งฮ่องเต้เกิดมากเมื่อได้รับสารชักนำความต้านทานแล้ว 4 วัน ปลูกเชื้อ 2 วัน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การเปลี่ยนแปลงความสูงทรงพุ่มของต้นกล้าผักคะน้า กวางตุ้งฮ่องเต้และกวางตุ้งใบหยก อายุ 7 วัน มีอัตราการเจริญค่าเฉลี่ยมากที่สุดเมื่อได้รับสาร CaB ซึ่งมีอัตราการเจริญเฉลี่ยเท่ากับ 0.47, 0.54 และ 0.19 เซนติเมตรต่อวัน สำหรับผักอายุ 25 วัน อัตราการเจริญเฉลี่ยของผักคะน้าพบว่าสารชักนำความต้านทาน chitosan และ CaB มีอัตราการเจริญเฉลี่ยเท่ากับ 0.93 และ 0.87 เซนติเมตรต่อวัน สำหรับผักกวางตุ้งฮ่องเต้การได้รับสาร CaB มีอัตราการเจริญเฉลี่ยมากที่สุดเท่ากับ 0.21 เซนติเมตรต่อวัน และผักกวางตุ้งใบหยกสูงเมื่อได้รับสาร CaBSS และ chitosan มีอัตราเฉลี่ยการเจริญเท่ากับ 0.32 และ 0.29 เซนติเมตรต่อวัน

การทดสอบประสิทธิภาพของสารชักนำความต้านทานในระยะกึ่งแปลงปลูกโดยการคัดเลือกสารชักนำความต้านทานที่มีประสิทธิภาพการลดโรคดีจากการทดสอบในสภาพโรงเรือน ได้แก่ สาร BTH และ chitosan กับผัก 2 สายพันธุ์ คือผักคะน้าและผักกวางตุ้งฮ่องเต้โดยการให้สารชักนำความต้านทาน 3 ครั้งทุกๆ 7 วัน เมื่อทำการตรวจวัดอาการโรคพบว่า สาร BTH สามารถลดการเกิดโรคได้ดีในผักคะน้า สำหรับสาร chitosan มีประสิทธิภาพลดการเกิดโรคได้ดีในผักกวางตุ้งฮ่องเต้ เมื่อตรวจ กิจกรรมเอนไซม์ ppo และ pox ในผักคะน้าเพิ่มขึ้นภายหลังได้รับสารชักนำ BTH ครั้งที่สองและสาม สำหรับผักกวางตุ้งฮ่องเต้กิจกรรมเอนไซม์ ppo, pox และ pal เพิ่มขึ้นภายหลังการได้รับสารชักนำความต้านทานครั้งที่ 1 และเพิ่มมากขึ้นภายหลังการได้รับสารชักนำครั้งที่สองและสาม การตรวจวัดอัตราการเจริญเฉลี่ยพบว่าผักทั้ง 2 ชนิดที่ได้รับสารชักนำความต้านทาน BTH และ chitosan มีอัตราการเจริญเฉลี่ยน้อยกว่าชุดควบคุม

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

กมล สุกิน. 2546. **หยุดสารเคมีเกษตรเพื่อสุขภาพคนไทย**. สถาบันวิจัยระบบสาธารณสุข. 45 หน้า

กรมส่งเสริมการส่งออกสินค้าระหว่างประเทศ. 2554. **สินค้าผักสดในตลาดสิงคโปร์**. แหล่งที่มา: www.depthai.go.th/DEP/DOC/54/54000471.doc, 15 มีนาคม 2554.

จานุลักษณ์ ขนบดี. 2541. **การผลิตเมล็ดพันธุ์ผัก**. สถาบันวิจัยและการฝึกอบรมการเกษตรลำปาง สถาบันเทคโนโลยีราชมงคล.

ณรงค์ สิงห์บุระอุดม. 2525. **เอกสารประกอบการสอนความสัมพันธุ์ระหว่างพืชกับเชื้อโรค กลไกและพันธุกรรมการเกิดโรคพืช**. ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

เทอดพันธ์ ธรรมรัตนพงษ์. 2548. **ชีววิทยาและการก่อให้เกิดโรคของ *Alternaria brassicicola* สาเหตุโรคใบจุดของผักกาดกวางตุ้งและการกระตุ้นเพื่อให้ต้านทานต่อโรคก่อนการเก็บเกี่ยว**. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 119 หน้า

ธรรมศักดิ์ สมมาตย์. 2531. **หลักการป้องกันกำจัดเชื้อโรค**. พิมพ์ครั้งที่ 3. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ม, กรุงเทพมหานคร. 286 หน้า.

_____. 2532. **คู่มือสารเคมีควบคุมโรคพืชสำหรับประชาชน**. ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพมหานคร. 141 หน้า.

นิพนธ์ ทวีชัย. 2550. **การควบคุมโรคพืชด้วยวิธีธรรมชาติ**. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร, กรุงเทพมหานคร. 37 หน้า.

นิสาพร มูหะมัด. 2551. **การสะสมของเอนไซม์ฟีนิลอะลานีนแอมโมเนียไลเอส เอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดสและสารประกอบฟีนอลิกในยางพาราหลังจากติดเชื้อรา**. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. 131 หน้า.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เนื่องพณิช สินชัยศรี และ สาทร สิริสิงห์. 2548. **ข้อเท็จจริงการใช้สารเคมีกับการพัฒนาเกษตรไทย**. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพมหานคร.

พรทิพย์ วงศ์แก้ว. 2533. **โรคพืชวิทยาขั้นสูง**. คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

พิสุทธิ์ เอกอำนวย. 2550. **โรคและแมลงของพืชเศรษฐกิจที่สำคัญ**. บริษัท อมรินทร์พริ้นติ้งแอนด์พับลิชชิ่ง จำกัด, กรุงเทพมหานคร.

เพิ่มพูน กีรติกสิกร. 2546. **โบรอน-จุลธาตุอาหารพืช**. ภาควิชาทรัพยากรที่ดินและสิ่งแวดล้อม คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

ภาควิชาโรคพืช. 2551. **บทปฏิบัติการโรคพืชวิทยาเบื้องต้น (036281)**. ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, นครปฐม.

ยงยุทธ โอสถสภา. 2543. **ธาตุอาหารพืช**. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพมหานคร.

ลัดดาวัลย์ ขาวสอาด, วาริช ศรีละออง และ ศิริชัย กัลยาณรัตน์. 2549. ผลของ Salicylic Acid ต่อคุณภาพและการเก็บรักษาเงาะพันธุ์ทองเมืองตราด. หน้า 420. *ใน* **รายงานการประชุมวิชาการ พืชสวนแห่งชาติ ครั้งที่ 6.** โรงแรมโลตัสปางสวนแก้ว, เชียงใหม่.

วิวัฒน์ เสือสะอาด. 2539. **แมลงศัตรูธัญพืชและพืชไร่และศัตรูธรรมชาติ**. ศูนย์วิจัยและควบคุมศัตรูพืชโดยชีวินทรีย์แห่งชาติ ภาคกลาง, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน.

วัชรี ประชาศรัยสรเดช. 2518. **การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา กายวิภาควิทยาและเซลวิทยาของผักกาดเขียวกวางตุ้งและผักกาดขาวกวางตุ้ง (*Brassica chinensis* L.)**. วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ศิริชัย กัลป์ยาณรัตน์. 2548. **ผลของ salicylic acid ต่อคุณภาพหลังการเก็บเกี่ยวของมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้**. แหล่งที่มา: http://www.phtnet.org/newsletter/download/Issue1.pdf, 21 ตุลาคม 2553

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ศศิธร วุฒิวณิชย์. 2549. **โรคของผักและการควบคุมโรค**. ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน, นครปฐม.

ศูนย์ข้อมูลวัตถุอันตรายและเคมีภัณฑ์. **Silicic acid (H4SiO4), tetraethyl ester**. แหล่งที่มา: http://msds.pcd.go.th/searchName.asp?vID=1374, 21 ตุลาคม 2553

สรสิทธิ์ วัชโรทยาน, เนื่องพณิช สินชัยศรี และ สาทร สิริสิงห์. 2551. **ข้อเท็จจริงการใช้สารเคมีกับการพัฒนาเกษตรไทย ฉบับที่ 2**. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพมหานคร.

สุเทพ สหายา. (ไม่ระบุปีที่ตีพิมพ์). **สารป้องกันกำจัดแมลงและไรศัตรูพืช**. กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพมหานคร.

สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ. 2551. แจ้ง**การเปลี่ยนแปลงมาตรฐานสารเคมีทางการเกษตรของประเทศญี่ปุ่น**. แหล่งที่มา: www.acfs.go.th/news_detail.php?ntype=07&id=2254, 21 ตุลาคม 2553

สำนักพัฒนาคุณภาพสินค้าเกษตร กรมส่งเสริมการเกษตร. 2553. **โรคใบจุด (Alternaria leaf spot)**. แหล่งที่มา: www.forecast.doae.go.th/web/.../1094-alternaria-leaf-spot.html, 17 ตุลาคม2553

Abdel-Monaim, M.F., M.E. Ismail and K.M. Morsy. 2011. Induction of systemic resistance in soybean plant againt Fusarium wilt disease by seed treatment with benzothiadiazole and humic acid. **African Journal of Biotechnology** 11 (10): 2454-2465.

Abo-Elyousr, K.A M., M. Hashem and E.H. Ali. 2009. Integrated control of cotton root rot disease by mixing fungal biocontrol agents and resistance inducers. **Crop protection** 28: 295-301.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Anfoka, G. H. 2000. Benzo-(1,2,3)-thiadiazole-7-carbothioic acid *S*-methyl ester induces systemic resistance in tomato (*Lycopersicon esculentum*. Mill cv.Vollendung) to *Cucumber mosaic virus*. **Crop Protection** 9: 401-405.

Barnett, H.L. and B.B. Hunter. 1972. **Illustrated Genera of Imperfect Fungi**. Burgess Publishing Company, Minnesota.

Bautista-Ban, S., M. Hernández-López, E. Bosquez-Molina and C.L. Wilson. 2003. Effects of chitosan and plant extracts on growth of *Colletotrichum gloeosporioides*, anthracnose levels and quality of papaya fruit. **J. Crop Protection** 22: 1087–1092.

Bayoumi, Y.A. and Y.M. Hafez. 2006. Effect of organic fertilizers combined with benzo (1,2,3) thiadiazole-7-carbothioic acid S-methtl ester (BTH) on the cucumber powdery mildew and the yield production. **Acta Biologica Szegediensis** 50 (3-4): 131-136.

Beaudoin-Eagan, L. and T. A. Thorpe. 1985. Tyrosine and phenylalanine ammonia lyase activities during shoot initiation in tobacco callus cultures. **Plant Physiol** 78: 438-441.

Benhamou, N. and R.R. Belanger. 1998. Benzothiadiazole-mediated induced resistance to *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicislycopersici* in tomato. **Plant Physiology** 118 (4): 1203-1212.

Benhamou, N. and M. Nicole. 1999. Cell biology of plant immunization against microbial infection: The potential of induce resistance in controlling plant diseases. **Plant Physiol**. **Biochem** 37 (10): 703-719.

Bolkan, H.A., W.R. C. Ribeiro and J.C. Dianese. 1983. Occurrence and pathogenicity of *Alternaria brassicicola* in Brazil. **Plant Disease** 67: 825-827.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical biochemistry** 72: 248-254.

Cao, B., H. Li, S. Tian and G. Qin. 2012. Boron improves the biocontrol activity of *Cryptococcus laurentii* against *Penicillium expansum* in jujube fruit. **Posthavest Biology and Technology** 68: 16-21.

Cavalcanti, F.R., M.L.V. Resende, J.P.M.S. Lima, J.A.G. Silveira and J.T.A. Oliveira. 2006. Activity of antioxidant enzymes and photosynthetic responses in tomato pre-treated by plant activators and inoculated by Xanthomonas vesicatoria. **Physiological and Molecular Plant Pathology** 68: 198-208.

Chabgsri, W. and G.F. Weber. 1963. Three *Alternaria* species pathogenic on certain cultivated crucifers. **Phytopathology** 53: 643-648.

Cheng, G.W. and P.J. Breen. 1991. Activity of phenylalnine ammonia-lyase (PAL) and concentrations of anthocyanins and phenolic in developing strawberry fruit. **J. Amer. Soc. Hort. Scl** 116 (5): 865-869.

Chiocchio, V., N. Venedikian., A.E. Martinez., A. Menendez., J.A. Ocampo and A. Godeas. 2000. Effect of the fungicide benomyl on spore germination and hyphal length of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae*. **International microbial** 3: 173-175.

Costet, L., S. Cordelier, S. Dorey, F. Baillieul, B Fritig and S. Kauffmann. 1999. Relationship between localized acquired resistance (LAR) and the hypersensitive response (HR): HR is necessary for LAR to occur and salicylic acid is not sufficient to trigger LAR. **MPMI** 12: 655-662.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Daniel, R. and D. Guest. 2006. Defence responses induced by potassium phosphonate in *Phytophthora palmivora*-challenged *Arabidopsis thaliana*. **Physiological and Molecular Plant Pathology** 67: 194-201.

D'Amelio, R., C. Marzachi and D. Bosco. 2010. Activity of benzothiadiazole on chrysanthemum yellows phytoplasma ('Candidatus Phytoplasma asteris') infection in daisy plants. **Crop protection** 29: 1094-1099.

Diogo, R.V.C. and K. Wydra. 2007. Silicon-induced basal resistance in tomato against *Ralstonia solanacearum* is related to modification of pectic cell wall polysaccharide structure. **Physiological and Molecular Plant Pathology** 70: 120–129.

Dillard, H.R., A.C. Cobb and J.S. Lamboy. 1998. Transmission of *Alternaria brassicicola* to cabbage by flea beetles (*Phyllotreta cruciferae*). **Plant disease** 82: 153-157.

Falcón-Rodríguez, A.B., D. Costale, J.C. Cabrera and M.Á. Martínez-Téllez. 2011. Chitosan physic-chemical properties modulate defense responses and resistance in tobacco plants against the oomycete *Phytophthora nicotaanae*. **Pesticide Biochemistry and Physiology** 100: 221-228.

Fauteux, F., W. Rémus-Borel, J.G. Menzies and R.R. Bélanger. 2005. Silicon and plant disease resistance against pathogenic fungi. **FEMS Microbiology Letters** 249: 1-6.

Fitza, K.N.E., K.G. Payn, E.T. Steenkamp, A.A. Myburg and S. Naidoo. 2013. Chitosan application improves resistance to *Fusarium circinatum* in *Pinus patula*. **South African Journal of Botany** 85: 70-78.

Flor, H.H. 1956. The complementary genetic system in flax and flax rust. **Adv. Genet** 8: 29-54.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Fungicide resistance action committee. 2010. **FRAC Code List©*: Fungicides sorted by mode of action (including FRAC Code numbering)**. Source: www.frac.info, 20 August 2011.

Groves, J.W. and A.J. Skolko. 1944. Notes on seed-borne fungi. II. Alternaria. **Can. J. Res. Sect. C** 22: 217-234.

Hammerschamidt, R. 1999. Induced disease resistance: how do induce plants stop pathogens. Physiological and Molecular. **Plant Pathology** 55: 77-84.

Haugaard, H., D.B. Collinge and M.F. Lyngkær. 2002. Mechanisms involved in control of Blumeria graminis f.sp. hordei in barley treated with mycelia extracts from cultured fungi. **Plant Pathology** 51: 612-620.

He, C.Y., T. Haiang and D.J. Wolyn. 2002. Induction of systemic disease resistance and pathogen defence responses in *Asparagus officinalis* inoculated with nonpathogenic strains of *Fusarium oxysporum.* **Plant pathology** 51: 225-230.

Heine, G., G. Tikum and W.J. Horst. 2006. The effect of silicon on the infection by and spread of *Pythium aphanidermatum* in single roots of tomato and bitter gourd. **J. Jornal of Experimental Botany** 58: 569-577.

Hirano, S. 1997. Applications of chitin and chitosan in the ecological and environment fields, pp. 31–54. *In*: M.F.A. Goosen (Ed.). **Application of chitin and chitosan**, technomic publishing company.

Hirschi, K.D. 2004. The calcium conundrum. Both versatile nutrient and specific signal. **Plant Physiol** 13: 2438–2442.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Insecticide mode of action classification. 2005 . Source: www.irac-online.org, 13 September 2011.

Jeun, Y. C., K. S. Park, C. H. Kim, W. D. Fowler and J. W. Kloepper. 2004. Cytological observation of cucumber plants during induce resistance elicited by rhizobacteria. **Biological Control** 29: 34-42.

Kelman, A., R.G. McGuire and K-C. Tzeng. 1989. **Reducing the severity of bacteria soft rot by increasing the concentration of calcium in potato tuber in soil borne plant pathogen: management of diseases with macro-and micro-element, Ed. A. W**. Engelhard. St. Paul, MN: APS press.

Ko, W-H. and C-W. C. Kao. 1989. **Evidence for the role of calcium in reducing root disease incited by *Pythium* spp.in soil borne plant pathogen: management of diseases with macro-and micro-element, Ed. A. W**. Engelhard. St. Paul, MN: APS press.

KÖrÖsi, K., R. Bán, B. Barna and F. Virányi. 2011. Biochemical and molecular changes in downy mildew-infected sunflower triggered by resistance inducers. **J Phytopahol** 159: 471-478.

Kucharek, T. 1994. **Aternaria disease of Crucifers**. University of Florida, Florida.

Leslie, C.A. and R.J. Romani. 1986. Salicylic acid: a new inhibitor of ethylene biosynthesis. **Plant Cell Reporters** 5: 144-146.

Leslie, C.A. and R.J. Romani. 1988. Inhibition of ethylene biosynthesis by salicylic acid. **Plant Physiology** 88: 833-837.

Li Q., E.T. Dunn, E.W. Grandmaison and M.F.A. Goosen. 1992. Applications and properties of chitosan. **Bioactive Compound Polymers** 7: 370-97.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Loomis W.D. and R.W. Durst. 1992. Chemistry and biology of boron. **BioFactors** 3: 229–239.

Lui, J., S. Tian, X. Meng and Y. Xu. 2007. Effects of chitosan on control of postharvest diseases and physiological responses of tomato fruit. **Postharvest Biology and Technology** 44: 300–306.

Ma, Z., L. Yang, H. Yan, J. F. Kennedy and X. Meng. 2013. Chitosan and oligochitosan enhance the resistance of peach fruit to brown rot. **Carbohydrate polymers** 94: 272-277

Mandal, S., N. Mallick and A. Mitra. 2009. Salicylic acid-induced resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *Lycopersici* in tomato. **Plant Physiology and Biochemistry** 47: 642-649.

Mbouobda, H.D., P.F. Fotso, N.D. Omokolo, I. El Hadrami and T. Boudjeko. 2010. Benzo-(1,2,3)-thiadiazole-7-carbothioic S-methyl ester (BTH) stimulates defense reactions in *Xanthosoma sagittifolium*. **Phytoparasitica** 38(1): 71-79.

Mauch-Mani, B. and A.J. Slusarenko. 1996. Production of Salicylic acid precursors is a major function of phenylalanine ammonia-lyase in the resistance of Arabidopsis to *Peronospora parasitica*. **The Plant Cell** 8: 203-212.

Maymon, M., A. Zveibil, S. Pivonia, D. Minz and S. Freeman. 2006. Identification and characterization of benomyl-resistance and –sensitive populations of *Colletotrichum gloeosporioides* from statice (*Limonium* spp.). **Phytophatology.** 96: 542-548.

Métraux, J.P., H. Signer, J. Ryals, E. Ward, M. Wyss-Benz, J. Gaudin, K. Raschdorf, E. Schmid, W. Blum and B. Inverardi. 1990. Increase in salicylic acid at the onset of systemic acquired resistance in cucumber.*Science*. 250 (4983): 1004-1006.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Meyer, S.L.F., R.M. Sayre and R.N. Huettel. 1991. Benomyl tolerrance of ten fungi antagonistic to plant-parasite nematode. **Journal of nematology** 23 (4): 402-408.

Mohammadi, M. and H. Kazemi. 2002. Changes in peroxidase and polyphenol oxidase activities in susceptible and resistant wheat heads inoculated with *Fusarium graminearum* and induced resistance. **Plant Science** 162: 491-498.

Neergaard, P. 1945**. Danish species of *Alternaria* and *Stemphylium***. Oxford university press, London.

Nowicki, M., M. Nowakowska, A. Niezgoda and E.U. Kozik. 2012. Alternaria black spot of crucifers: symptoms, importance of disease, and perspectives of resistance breeding. **DOI** 76: 5-19.

Pan, Y. and X. Liu. 2011. Effect of benzo-thiadiazole-7-carbothioic acid S-methyl ester (BTH) treatment on the resistant substance in postharvest mango fruits of different varieties **African Journal of Biotechnology**. 10 (69): 15521-15528.

Pattanamahakul, P., R.N. Strange. 1999. Identification and toxicity of *Alternaria brassicicola*, the causal agent of dark leaf spot disease of Brassica species grown in Thailand. **Plant pathology** 48: 749-755.

Peiser, G., G. López-Gálvez, M. Cantwell and M.E. Saltveit. 1998. Phenylalanine ammonia lyase inhibitors control browning of cut lettuce. **Postharvest Biology and Technology** 14: 171-177.

Qin, G., Y. Zong, Q. Chen, D. Hua and S. Tian. 2009. Inhibitory effect of boron against *Botrytis cinerea* on table grapes and its possible mechanisms of action. **J. Food Microbiology** 138: 145–150.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Rathmell, W.G. and L. Sequeira. 1974. Soluble peroxidase in fluid from the intercellular spaces of tobacco leaves. **Plant Physiol** 53: 517-518.

Rasmussen, J.B., R. Hammerschmidt and M.N. Zook. 1991. Systemic induction of salicylic acid accumulation in cucumber after inoculation with *Pseudomonas syringae* pv *syringae*. **Plant Physiol** 97: 1342-1347.

Raskin, I. 1992. Role of salicylic acid in plant. Annu. **Rev. Plant Physiol. Mol. Biol** 43: 439-463.

Romani, R.J., B.M. Hess and C.A. Leslie. 1989. Salicylic acid inhibition of ethylene production by apple discs and other plant tissue. **J.Plant Growth Regul** 8: 63-69.

Rise, A. and L.S. Boiteux. 2010. Alternaria species infecting brassicaceae in the Brazilian neotropics: geographical distribution, host range and dpecificity. **J. Plant Pathology** 92 (3): 661-668.

Song, W., X. Ma, H. Tan and J. Zhou. 2011. Abscisic acid enhances resistance to *Alternaria solani* in tomato seedlings. **Plant Physiology and Biochemistry** 49: 693-700.

Soylu, E.M., S. Soylu. and Ö. Baysal. 2003. Induction of disease resistance and antioxidant enzymes by acibenzolar-s-methyl against bacterial canker (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*) intomato. **J. plant pathology** 85 (3), 175-181.

Srivastava, M.K. and U.N. Dwivedi. 2000. Delayed ripening of banana fruit by salicylic acid. **Plant Sci** 158: 87-96.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Sugimoto, T., K. Watanabe, S. Yoshida, M. Aino, M. Furiki, M. Shiono, T. Matoh, and A.R. Biggs. 2010. Field application of calcium to reduce phytophthora stem rot of soybean and calcium distribution in plants. **J. Plant disease** 94 (7): 812-819.

Sun, B., N. Liu, Y. Zhao, H. Yan and Q. Wang. 2011. Variation of glucosinolates in three edible parts of chinese kale (*Brassica alboglabra* Bailey) varieties. **Food Chemistry** 124: 941-947.

Terry, L.A. and D.C. Joyce. 2004. Elicitors of induced disease resistance in postharvest horticultural crops: a brief review. **Postharvest Biology and Technology** 32: 1-13.

Van Wess, S.C.M., M. Luijendijk, I. Smoorenburg, L C. vanLoon and C.M.J. Pieterse. 1999. Rhizobacteria-mediated induce systemic resistance (ISP) in *Arabidopsis* is not associated with a direct effect on expression of known defense-relate genes but stimulates the expression of the jasmonate-inducible gene *Atvsp* upon challenge. **Plant Mol. Biol** 41: 567-549.

Webster, M.A. and G.R. Dixon. 1991. Boron, pH and inoculums concentration influencing colonization by *Plasmodiophora brassicae*. **Mycol. Res** 95 (1); 74-79.

Wen, P.F., J.Y. Chen, W.F. Kong, Q.H. Pan, S.B. Wan and W.D. Huang. 2005. Salicylic acid induced the expression of phenylalanineammonia-lyase gene in grape berry. **Plant Sci** 169: 928–934.

White, P.J. and M.R. Broadley. 2003. Calcium in plants. **Annals Botany** 92: 487–511.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ประวัติการศึกษาและการทำงาน

ชื่อ นางสาวสุดารัตน์ สิริปรัชญาภิคุปต์

เกิดวันที่ 30 สิงหาคม 2528

สถานที่เกิด อำเภอเมือง จังหวัดสุพรรณบุรี

ประวัติการศึกษา วท.บ. (เกษตรศาสตร์) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตำแหน่งปัจจุบัน -

สถานที่ทำงานปัจจุบัน -

ผลงานดีเด่นและ/หรือรางวัลทางวิชาการ งานวิจัยเรื่องกรกระตุ้นความต้านทานต่อโรคใบจุดของเชื้อรา Alternaria brassicicola ในผักตระกูลกะหล่ำ

ทุนการศึกษาที่ได้รับ ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัย ระดับบัณฑิตศึกษา ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (พ.ศ. 2552)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์