การวิจัยและทดสอบเทคโนโลยีการใช้สารสกัดในการควบคุมเชื้อรา Colletotrichum capsici สาเหตุโรคแอนแทรคโนสพริก

อภิญญา สุราวุธ, ปิยนันท์ สังขะไพฑูรย์, นันทิการ์ เสนแก้ว, ลักษมี สุภัทรา, อรพรรณ วิเศษสังข์

บทคัดย่อ

การศึกษาวิจัยและทดสอบเทคโนโลยีการใช้สารสกัดจากพืชในการควบคุมเชื้อรา Colletotrichum capsici สาเหตุโรคแอนแทรคโนสพริก เพื่อทราบถึงชนิดของสารสกัด และอัตราส่วนที่เหมาะสมในการผลิตสารสกัดเพื่อใช้ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสพริก ทำการทดลองระหว่างเดือน ต.ค. 2548 - ก.ย. 2550 โดยสำรวจการกระจายตัวเชื้อสาเหตุโรคแอนแทรคโนสพริกใน 7 จังหวัดภาคใต้ตอนล่าง พบการกระจายตัวของเชื้อ Colletotrichum capsici ในพื้นที่ 7 จังหวัด ซึ่งมากกว่าการกระจายตัวของเชื้อ Colletotrichum gloeosporioides ซึ่งพบใน 6 จังหวัด โดยจังหวัดที่มีการกระจายตัวของเชื้อทั้ง 2 ชนิด มี 6 จังหวัด คือ จ.สงขลา พัทลุง ตรัง สตูล นราธิวาส และนครศรีธรรมราช การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัด 5 ชนิด คือ ขมิ้นชัน ว่านน้ำ ข่า กระเทียม และพริกไทย ที่ระดับความเข้มข้น 1000, 3000, 5000 และ 10000 ppm ที่มีผลต่อการเจริญของเส้นใย พบว่าสารสกัดจากว่านน้ำ 10000 ppm มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเส้นใยสูงที่สุด คือ 87.72 เปอร์เซ็นต์ ส่วนเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการงอกของสปอร์พบว่า เมื่อความเข้มข้นของสารสกัดสูงขึ้นเปอร์เซนต์การยับยั้งการงอกของสปอร์จะสูงขึ้น และที่ระดับความเข้มข้น 10000 ppm สารสกัดจากขมิ้นชัน ว่านน้ำ ข่า กระเทียม และสารแมนโคแซบ สามารถยับยั้งการเจริญของสปอร์ได้ 100 เปอร์เซ็นต์ และทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดในการควบคุมโรคที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์และเปอร์เซ็นต์การงอก พบว่าเมล็ดพันธุ์ที่แช่ในสารสกัดมีเปอร์เซ็นต์เชื้อราที่ติดมากับเมล็ดลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม โดยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การทดสอบการงอกของเมล็ดพันธุ์หลังการแช่ในสารสกัดที่ระดับความเข้มข้น 5000 และ 10000 ppm พบว่าเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดพันธุ์เพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม และพบว่าเมล็ดพันธุ์ที่ผ่านการแช่ในสารสกัดจะมีเปอร์เซ็นต์ของเมล็ด

ที่งอกและถูกเชื้อราเข้าทำลายแตกต่างจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยพบว่าชุดควบคุมมีเปอร์เซ็นต์ของเมล็ดที่งอกและถูกเชื้อราเข้าทำลายสูงถึง 15.25 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ยังพบว่าเมื่อใช้สารสกัดที่ระดับความเข้มข้นที่สูงคือ 10000 ppm เปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดพันธุ์ลดลง การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดต่อการยับยั้งการเกิดโรคของผลพริกในห้องปฏิบัติการมีแนวโน้มช่วยลดความสูญเสียจากการเข้าทำลายของเชื้อราได้ แต่การทดสอบการเกิดโรคบนต้นพริกไม่สามารถควบคุมโรคแอนแทรคโนสของพริกได้

คำนำ

พริกจัดพืชผักที่มีศักยภาพสูงและมีความสำคัญทางด้านเศรษฐกิจของประเทศ มีการเพาะปลูกกันอย่างแพร่หลายทั่วทุกภาคของประเทศ ปัญหาในการผลิตพริกที่พบส่วนใหญ่คือปัญหาด้านโรคและแมลง โดยเฉพาะโรคแอนแทรคโนสหรือโรคกุ้งแห้ง ซึ่งมีสาเหตุจากเชื้อรา Colletotrichum sp. ส่งผลกระทบต่อผลผลิตทั้งในด้านปริมาณ และคุณภาพ นอกจากนี้ยังสามารถติดไปกับเมล็ดได้ ทำให้ปัจจุบันเกษตรกรหันมาใช้สารเคมีกันอย่างกว้างขวาง แม้ว่าการใช้สารเคมีในการควบคุมศัตรูพืชในระยะแรกพบว่ามีประสิทธิภาพสูงมาก แต่ก็ก่อให้เกิดปัญหาหลายอย่างตามมา เช่น ปัญหาการตกค้างของสารเคมีในผลิตผลเกษตร เป็นปัญหาสำคัญในการส่งออก ซึ่งนับวันยิ่งทวีความรุนแรงมากขึ้นเรื่อยๆ และส่งผลกระทบโดยตรงต่อผู้บริโภค รวมไปถึงสภาวะสินค้าเกษตรเพื่อการแข่งขันในตลาดโลก ซึ่งมีมาตรการกีดกันสินค้าเกษตรที่ผลิตในขบวนการที่ไม่ได้มาตรฐาน นอกจากนี้ยังมีปัญหาการต้านทานของเชื้อต่อสารเคมีที่ใช้ ปัญหาเหล่านี้สามารถลดลงได้ หากเราหลีกเลี่ยงการใช้สารเคมีโดยหันมาใช้สารสกัดจากธรรมชาติในการควบคุมศัตรูพืช สมุนไพรเป็นพืชกลุ่มหนึ่งซึ่งมีบทบาทสำคัญในการผลิตสารต้านเชื้อราสาเหตุโรคพืช ในสภาวะที่ประเทศกำลังประสบปัญหาด้านเศรษฐกิจ การนำพืชและสมุนไพรมาพัฒนาเป็นยา ตลอดจนการพัฒนาแนวทางในการนำสมุนไพรมาใช้ในการควบคุมศัตรูพืช จะช่วยประหยัดเงินตราที่ต้องนำเข้าผลิตภัณฑ์เหล่านั้น นอกจากนี้ยังเป็นการนำภูมิปัญญาท้องถิ่นของไทยมาปรับใช้ในยุคปัจจุบัน อย่างไรก็ตามงานวิจัยเกี่ยวกับสมุนไพรส่วนใหญ่มักเน้นเกี่ยวกับการแพทย์เนื่องจากโรคติดเชื้อ ส่วนงานวิจัยในการนำสมุนไพรมาใช้ในการป้องกันกำจัดจุลินทรีย์โรคพืชนั้นยังอยู่ในวงจำกัด การศึกษาวิจัยและทดสอบเทคโนโลยีการผลิตสารสกัดจากพืชทดแทนสารเคมีเพื่อใช้ในการควบคุมโรคพืช จะเป็นข้อมูลในการนำพืชและสมุนไพรมาประยุกต์ในการกำจัดศัตรูพืชสำคัญทางเศรษฐกิจ ซึ่งจะเป็นการลดการใช้สารเคมี และปัญหาสารพิษตกค้างในผลิตผลเกษตรต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

วัสดุและอุปกรณ์

ตู้อบเครื่องแก้ว หม้อนึ่งความดัน กล้องจุลทรรศน์ สไลด์ กระจกปิดสไลด์ ตู้ปลอดเชื้อ ตู้อบฆ่าเชื้ออุณหภูมิสูง กล้องถ่ายภาพ เครื่องชั่งไฟฟ้า เครื่องระเหยแบบหมุนพร้อมลดความดัน (rotary evaporator) อาหารเลี้ยงเชื้อพีดีเอ กระดาษกรอง เทปปิดขอบจานเลี้ยงเชื้อ สารเคมีป้องกันกำจัดโรคพืช ขมิ้นชัน กระเทียม ว่านน้ำ ข่า และพริกไทย

วิธีการ

1. ศึกษาชนิดและการแพร่กระจายของเชื้อสาเหตุโรคแอนแทรคโนสพริกในพื้นที่ภาคใต้ตอนล่างและการแยกเชื้อบริสุทธิ์

ทำการสำรวจและเก็บตัวอย่างโรคแอนแทรคโนสพริกในพื้นที่ภาคใต้ตอนล่าง นำมาจำแนกเชื้อสาเหตุในห้องปฏิบัติการ การแยกเชื้อบริสุทธิ์ของโรคแอนแทรคโนสใช้วิธี Tissue transplanting technique

2. การเตรียมสกัดสารจากพืช

นำสมุนไพรที่ใช้ในการทดลอง 5 ชนิด คือ ขมิ้นชัน ข่า กระเทียม ว่านน้ำ และพริกไทย นำสมุนไพร 4 ชนิด คือ ขมิ้นชัน ข่า ว่านน้ำ และ พริกไทย มาหั่นเป็นชิ้นเล็กๆ และนำไปอบที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นำมาสกัดด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ 95 กรองเอาส่วนที่เป็นกากออก กากที่เหลือนำมาสกัดซ้ำอีก 2 ครั้ง นำไประเหยตัวทำละลายด้วยเครื่องระเหยแบบหมุนพร้อมลดความดัน นำสารสกัดที่ได้ไปชั่งน้ำหนัก และนำไปเก็บในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อเก็บไว้ใช้ในการทดลองต่อไป ส่วนกระเทียมใช้วิธีบดให้ละเอียด และคั้นน้ำ

3. การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืช (เชื้อ C. capsici ที่ใช้ในการทดลองเป็นเชื้อที่แยกจาก อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา)

3.1 การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดที่มีผลต่อการเจริญของเส้นใย

เลี้ยงเชื้อบริสุทธิ์ C. capsici บนอาหารพีดีเอ 7 วัน และใช้ cork borer เจาะเส้นใยและย้ายชิ้นวุ้นไปวางบนอาหารพีดีเอที่ผสมสารสกัดจากพืชและสารแมนโคแซบที่ความเข้มข้น 1000 3000 5000 และ 10000 ppm. วัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนี เปรียบเทียบกับชุดเปรียบเทียบ นำค่าที่ได้มาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญ (ภัทรลดา, 2535)

$$\text{เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง} = \frac{(A-B)}{A} \times 100$$

A คือ ค่าเฉลี่ยของเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีเชื้อราบนจานเลี้ยงเชื้อเปรียบเทียบ

B คือ ค่าเฉลี่ยของเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีเชื้อราบนอาหารที่ผสมสารสกัดจากพืช

3.2 การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดที่มีผลต่อการงอกของสปอร์

เตรียมสารแขวนลอยสปอร์ (spore suspension) แล้วนำสารแขวนลอยสปอร์ 0.1 มิลลิลิตร หยดลงบนอาหารพีดีเอที่ผสมสารสกัดจากพืชและสารแมนโคแซบที่ระดับความเข้มข้น 1000 3000 5000 และ 10000 ppm. เกลี่ยสปอร์ให้ทั่วผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อ เลี้ยงเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 6 ชั่วโมง ตรวจการงอกของสปอร์เชื้อรา C. capsici ด้วยกล้องจุลทรรศน์ นับจำนวนสปอร์ที่งอกต่อการสุ่มนับสปอร์จำนวนทั้งหมด 500 สปอร์ เปรียบเทียบการงอกของสปอร์กับชุดเปรียบเทียบ คำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการงอกของสปอร์ โดยใช้สูตร

$$\text{เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง} = \frac{(A-B)}{A} \times 100$$

A คือ จำนวนสปอร์ที่งอกบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อเปรียบเทียบ

B คือ จำนวนสปอร์ที่งอกบนจานอาหารที่ผสมสารสกัดจากพืช

3.3 การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดในการควบคุมโรคที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ และเปอร์เซ็นต์การงอก

นำชนิดของสารสกัดและความเข้มข้นที่เหมาะสมที่ได้จากข้อ 3.1 และ 3.2 มาแช่ในเมล็ดพันธุ์พริก เป็นเวลา 3 นาที ผึ่งให้แห้ง ตรวจสอบเชื้อราที่ติดมากับเมล็ดเปรียบเทียบกับ Control และการใช้สารป้องกันกำจัดโรคพืชแมนโคแซบ การตรวจสอบเชื้อราที่ติดมากับเมล็ดใช้วิธี blotter plate method โดยเมล็ดพริกที่นำมาใช้ในการทดสอบได้จากผลพริกที่มีระดับความรุนแรงของโรคอยู่ที่ระดับ 4 ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การของพื้นที่ผิวที่เป็นโรค 61-80 เปอร์เซ็นต์ (บุญญวดี, 2540) โดยใช้ตัวอย่าง 400 เมล็ด วางบนจานเลี้ยงเชื้อ (ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 cm.) ที่มีกระดาษกรอง 3 ชั้น จุ่มน้ำให้ชื้น จำนวน 25 เมล็ดต่อจาน และตรวจสอบเปอร์เซ็นต์การงอกโดยวิธี top of paper ตรวจจำนวนต้นกล้าเป็นโรค หลังจากการเพาะเมล็ดที่ 6 และ 14 วัน

3.4 การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดต่อการยับยั้งการเกิดโรคของผลพริก

3.4.1 การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดต่อการยับยั้งการเกิดโรคของผลพริกในห้องปฏิบัติการ

เตรียมสารสกัด โดยใช้เหล้าขาวเป็นตัวทำละลายในอัตราส่วนต่างๆ กัน คือ 4 สูตร คือ

1. ว่านน้ำ + ขมิ้นชัน อัตราส่วน 3 : 2
2. ว่านน้ำ + ขมิ้นชัน + ข่า อัตราส่วน 3 : 2 : 4
3. ว่านน้ำ + กระเทียม + ขมิ้นชัน อัตราส่วน 3 : 1 : 2
4. ว่านน้ำ + กระเทียม + ขมิ้นชัน + ข่า อัตราส่วน 3 : 1 : 2 : 4

เปรียบเทียบประสิทธิภาพการยับยั้งการเกิดโรคโดยเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (น้ำกลั่น และเหล้าขาว) และสารแมนโคแซบ โดยนำผลพริกมาทำความสะอาดที่ผิวโดยใช้แอลกอฮอล์เช็ดให้ทั่วผลพริก ทำการปลูกเชื้อ โดยใช้เข็มเขี่ยที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วเจาะที่ผิวของผลพริก 2 รู เพื่อเป็นช่องทางให้เชื้อเข้าทำลายได้สะดวก ฉีดพ่นสารสกัดโดยใช้สารสกัดแต่ละสูตร น้ำกลั่น เหล้าขาว และสารแมนโคแซบ ผึ่งให้แห้ง นำชิ้น inoculum วางบนแผลที่ทำไว้โดยวางคว่ำให้ด้านที่มีเส้นใยของเชื้อราสัมผัสกับผลพริก จากนั้นนำผลพริกที่ได้รับการปลูกเชื้อวางในกล่องพลาสติก ให้ความชื้นโดยใช้สำลีชุบน้ำกลั่นวางไว้ในกล่อง บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้องหลังจาก

ปลูกเชื้อ 24 ชั่วโมง เปิดถุงเขี่ยเอาชิ้น inoculum ออก และบ่มเชื้อต่อวัดขนาดแผลหลังบ่มเชื้อ 7 วัน

3.4.2 การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดต่อการยับยั้งการเกิดโรคบนต้นพริก

ทำการปลูกพริกชี้ฟ้าในกระถาง (40 กระถางต่อ 1 กรรมวิธี) เมื่อพริกเริ่มติดผล คัดเลือกผลพริกโดยทำเครื่องหมายและใช้ด้ายสีผูกขั้วผลพริก ทำการฉีดพ่นสารสกัดทุก 7 วัน เปรียบเทียบกับชุดควบคุม (น้ำกลั่น และเหล้าขาว) และการใช้สารแมนโคแซบ ทำการปลูกเชื้อ โดยการฉีดพ่น spore suspension ของเชื้อรา C. capsici นับจำนวนผลพริกที่แสดงอาการของโรค และนำข้อมูลมาวิเคราะห์

ระยะเวลา (เริ่มต้น - สิ้นสุด)

ต.ค. 2548 - ก.ย. 2550

สถานที่ดำเนินการ

สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตร เขตที่ 8

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. ศึกษาชนิดและการแพร่กระจายของเชื้อสาเหตุโรคแอนแทรคโนสพริก

จากการสำรวจ และเก็บตัวอย่างพริกที่เป็นโรคในพื้นที่ภาคใต้ตอนล่าง คือ จ.สงขลา พัทลุง ตรัง สตูล นครศรีธรรมราช ยะลา และนราธิวาส มาศึกษาในห้องปฏิบัติการพบการกระจายตัวของเชื้อ Colletotrichum capsici ในพื้นที่ 7 จังหวัด ซึ่งมากกว่าการกระจายตัวของเชื้อ Colletotrichum gloeosporioides ซึ่งพบใน 6 จังหวัด โดยจังหวัดที่มีการกระจายตัวของเชื้อทั้ง 2 ชนิด มี 6 จังหวัด คือ จ.สงขลา พัทลุง ตรัง สตูล นราธิวาส และนครศรีธรรมราช

2. การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืช

2.1 การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดที่มีผลต่อการเจริญของเส้นใย

การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืช 5 ชนิด คือขมิ้นชัน ว่านน้ำ ข่า กระเทียม พริกไทย เปรียบเทียบกับสารแมนโคแซบ และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ ที่ระดับความเข้มข้น 1000, 3000, 5000 และ 10000 ppm พบว่า เมื่อความเข้มข้นของสารสกัดสูงขึ้น เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเส้นใยจะสูงขึ้น (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 เปอร์เซนต์การยับยั้งการเจริญของเส้นใย C. capsici บนอาหารที่ผสมสารสกัดด้วยแอลกอฮอล์ของขมิ้นชัน ว่านน้ำ ข่า กระเทียม พริกไทย และแมนโคแซบ

สารสกัด	เปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญของเส้นใยที่ระดับความเข้มข้น					
	0 ppm.	1000 ppm.	3000 ppm.	5000 ppm.	10000 ppm.	เฉลี่ย
ขมิ้นชัน	0q	10.96m	14.91l	24.56i	34.21f	16.93D
ว่านน้ำ	0q	7.89n	15.79kl	42.98e	87.72b	30.88C
ข่า	0q	0.44q	4.39o	16.67k	29.82h	10.26F
กระเทียม	0q	2.63p	7.89n	21.05j	31.58g	12.63E
พริกไทย	0q	24.56i	31.58g	45.18d	59.21c	32.11B
แมนโคแซบ	0q	11.84m	21.93j	35.09f	100a	33.77A
เฉลี่ย	0E	9.72D	16.08C	30.92B	57.08A	

CV (%) = 4.92

ตัวเลขที่ตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี DMRT

ซึ่งการทดลองครั้งนี้สอดคล้องกับ ธารทิพย (2540) ได้รายงานการใช้สารสกัดว่านน้ำยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา Colletotrichum gloeosporioides สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของมะม่วงและ วิชัย (2546) รายงานว่าสารสกัดด้วยแอลกอฮอล์ของว่านน้ำให้ผลต่อการยับยั้งเส้นใยเชื้อ C. gloeosporioides และรายงานของ Morris (1978) ที่กล่าวว่าน้ำมันหอมระเหยที่มีอยู่ในพืชนั้นเป็นส่วนสำคัญในการยับยั้งจุลินทรีย์ ซึ่งในว่านน้ำมีสารหลายชนิดเช่น acoraneae, isocalemendiol,calamonic acid, asarone, และ isocolamone และสุมาลี (2539) ได้กล่าวว่าสารพิเพอรีนจากเมล็ดพริกไทยดำต้านรา C. gloeosporioides สาเหตุโรคแอนแทรคโนสพริก และ Alternaria brassicicola สาเหตุโรคใบจุดคะน้า และการที่พืชสมุนไพรมีผลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา ขึ้นอยู่กับชนิดพืช พืชสมุนไพรที่ต่างชนิดกัน จะยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ต่างกัน นอกจากนี้ยังขึ้นอยู่กับระดับความเข้มข้นที่ใช้ วิธีการสกัด และสารสกัดที่มีระดับความเข้มข้นสูง มีแนวโน้มที่จะสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ดีกว่าสารที่ระดับความเข้มข้นต่ำ และสุพจน์ (2548) รายงานว่า ระยะเวลาในการแช่พืชในตัวทำละลายมีผลทำให้ได้สารออกฤทธิ์ที่สามารถยับยั้งเชื้อได้แตกต่างกัน เช่น สารสกัดหยาบจากใบชาหลังการแช่ใน 95 % เอทิลแอลกอฮอล์เพียง 24 ชั่วโมง ก็สามารถให้ผลในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ ในขณะที่สารสกัดหยาบจากมะขามป้อมต้องใช้เวลาแช่นาน 7-14 วัน จึงจะได้สารที่มีผลยับยั้งการเจริญของเชื้อได้

2.2 การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดที่มีผลต่อการงอกของสปอร์

การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืช 5 ชนิด คือขมิ้นชัน ว่านน้ำ ข่า กระเทียม พริกไทย เปรียบเทียบกับสารแมนโคแซบ และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ ในการยับยั้งการงอกของสปอร์ที่ระดับความเข้มข้น 1000 3000 5000 และ 10000 ppm พบว่า เมื่อความเข้มข้นของสารสกัดสูงขึ้น เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการงอกของสปอร์จะสูงขึ้น และที่ระดับความเข้มข้น 10000 ppm. สารสกัดจากขมิ้นชัน ว่านน้ำ ข่า กระเทียม และสารแมนโคแซบ สามารถยับยั้งการเจริญของสปอร์ได้ 100 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 เปอร์เซนต์การยับยั้งการงอกของสปอร์ C. capsici บนอาหารที่ผสมสาร
สกัดด้วยแอลกอฮอล์ของขมิ้นชัน ว่านน้ำ ข่า กระเทียม พริกไทย และแมนโคแซบ

สารสกัด	เปอร์เซ็นต์ยับยั้งการงอกของสปอร์ที่ระดับความเข้มข้น					
	0 ppm.	1000 ppm.	3000 ppm.	5000 ppm.	10000 ppm.	เฉลี่ย
ขมิ้นชัน	0l	59.50f	94.75b	100a	100a	70.85B
ว่านน้ำ	0l	31.50g	86.00c	100a	100a	63.50C
ข่า	0l	13.50i	62.25e	84.75c	100a	52.20D
กระเทียม	0l	100a	100a	100a	100a	80.00A
พริกไทย	0l	7k	10.75j	17.00h	80.75d	23.10E
แมนโคแซบ	0l	100a	100a	100a	100a	80.00A
เฉลี่ย	0E	51.92D	75.71C	83.62B	96.79A	

CV (%) = 3.00
ตัวเลขที่ตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี DMRT

จากผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดที่มีผลต่อการเจริญของเส้นใยและการงอกของสปอร์พบว่า เมื่อความเข้มข้นของสารสกัดสูงขึ้นเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเส้นใย และเปอร์เซ็นต์การยับยั้งงอกของสปอร์จะสูงขึ้น โดยประสิทธิภาพของของสารสกัดที่มีผลต่อการเจริญเชื้อรา C. capsici จะแตกต่างกันไปตามชนิดของพืช นอกจากนี้พืชชนิดเดียวกันเมื่อนำมาทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของเชื้อราในระยะต่างกัน คือระยะเส้นใย และสปอร์ให้ผลที่แตกต่างกัน ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากพืชแต่ละชนิดมีสารประกอบที่เป็นสารสำคัญภายในพืชแตกต่างกัน การซึมผ่านผนังเซลล์ของสปอร์หรือผนังเซลล์ของเส้นใยก็อาจเกิดขึ้นแตกต่างกัน (ธารทิพย์, 2540)

2.3 การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดในการควบคุมโรคที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ และเปอร์เซ็นต์การงอก

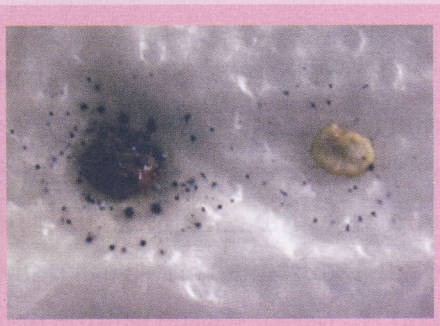
จากการตรวจสอบเชื้อราที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์หลังการแช่ในสารสกัดขมิ้นชัน ว่านน้ำ ข่า กระเทียม พริกไทย ที่ระดับความเข้มข้น 5000 และ 10000 ppm เปรียบเทียบกับสารแมนโคแซบ และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ พบว่าเปอร์เซ็นต์เชื้อราที่ติดมากับเมล็ดลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ) โดยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ พบว่าเมล็ดพันธุ์พริกที่ผ่านการแช่สารสกัดที่ระดับความเข้มข้น 5000 ppm มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค 38, 38, 36, 40.5 และ 40 ตามลำดับ และที่ระดับความเข้มข้น 10000 ppm มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค 36.5, 35, 35.5, 38 และ 38 ตามลำดับ ส่วนการแช่ในสารแมนโคแซบ 2500, 5000, 10000 และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค 40, 39, 37 และ 64 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และเมื่อทดสอบการงอกของเมล็ดพันธุ์หลังการแช่ในสารสกัดที่ระดับความเข้มข้น 5000 และ 10000 ppm พบพบการงอกของเมล็ดพันธุ์ 3 ลักษณะ คือ เมล็ดงอกเป็นต้นปกติ เมล็ดที่งอกและถูกเชื้อราเข้าทำลาย และเมล็ดที่ไม่สามารถงอกได้ และพบว่าเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดพันธุ์เพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม โดยสารแมนโคแซบที่ระดับความเข้มข้น 2500, 5000 ppm ข่า และ ว่านน้ำ ที่ระดับความเข้มข้น 5000 ppm มีเปอร์เซนต์การงอกสูงสุดโดยให้ผลไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยมีเปอร์เซ็นต์การงอก 49.5, 45.5, 43.50 และ 42.25 ตามลำดับ และพบว่าเมล็ดพันธุ์ที่ผ่านการแช่ในสารสกัดจะมีเปอร์เซ็นต์ของเมล็ดที่งอกและถูกเชื้อราเข้าทำลายน้อยมากเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมและให้ผลแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยพบว่าชุดควบคุมมีเปอร์เซ็นต์มีเปอร์เซ็นต์ของเมล็ดที่งอกและ

ถูกเชื้อราเข้าทำลายสูงถึง 15.25 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่เมล็ดที่ผ่านการแช่ในสารสกัดมีเปอร์เซ็นต์ของเมล็ดที่งอกและถูกเชื้อราเข้าทำลายไม่เกิน 0.5 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ยังพบว่าเมื่อใช้สารสกัดที่ระดับความเข้มข้นที่สูงเกินไป คือ 10000 ppm เปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดพันธุ์ลดลง (ตารางที่ 3)

การที่เมล็ดพันธุ์ที่ผ่านการแช่ในสารสกัดมีเปอร์เซ็นต์ของเมล็ดที่งอกและถูกเชื้อราเข้าทำลายน้อย อาจเนื่องมาจากสารสกัดช่วยยับยั้งการเจริญของเชื้อราที่อยู่บริเวณปากเปิดของเมล็ด และที่ผิวของ endosperm ทำให้มีอัตราการรอดชีวิตสูง ซึ่ง Hadden (1984 อ้างโดยบุญญวดี 2540) ได้รายงานไว้ว่า เชื้อรา C. capsici อยู่บริเวณเปลือกของเมล็ด (seed coat) และปะปนอยู่บนผิวของเมล็ด และสมศิริ (2540) ได้ศึกษาการเข้าทำลายเมล็ดของเชื้อรา C. capsici พบว่าเมื่อเชื้อราเข้าทำลายเมล็ดจะอยู่บริเวณปากเปิดของเมล็ดและที่ผิวของ endosperm โดยไม่ทำลายลึกลงไป ซึ่งอาจเป็นเพราะผิวของ endosperm มี cutin ทำให้เชื้อราผ่านไปได้ยาก แต่ก็มีพบว่าเชื้อราสามารถผ่านเข้าไปใน endosperm และ embryo ได้ อาจเนื่องมาจากในขณะที่เชื้อเข้าทำลายนั้นส่วนของผิว endosperm ยังไม่เจริญเต็มที่ ทำให้เชื้อราเข้าทำลายได้

ภาพที่ 1 เมล็ดพริกที่งอกปกติ

เมล็ดพริกที่งอกแล้วถูกทำลาย



เมล็ดที่ไม่สามารถงอกได้

ตารางที่ 3 แสดงเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค และการงอกของเมล็ดพันธุ์หลังการแช่ในสารสกัด

สารสกัด	ความเข้มข้น	% การเกิดโรค	% การงอก		
			งอก	งอก/เน่า	ไม่งอก
Cont (น้ำกลั่นนึ่ง)		64a	36.50cdef	15.25a	48.25h
ขมิ้นชัน	5000	38b	37.25cde	0.25b	62.50bcdef
	10000	36.5b	30.75efg	0b	69.25abc
ว่านน้ำ	5000	38b	42.25abc	0.25b	57.50efg
	10000	35b	29.25fg	0b	70.75ab
ข่า	5000	36b	43.50abc	0.50b	56.00efgh
	10000	35.5b	33.50def	0.50b	66.00bcd
กระเทียม	5000	40.5b	36.25cdef	0.50b	63.25bcde
	10000	38b	30.25efg	0b	69.75abc
พริกไทย	5000	40b	41.00bcd	0.50b	58.50def
	10000	38b	37.25cde	0.25b	62.50cdef
แมนโคแซบ	2500	40b	49.5a	0.25b	50.25gh
	5000	39b	45.5ab	0b	52fgh
	10000	37b	25.25g	0b	74.75a
CV (%)		15.11	13.05	80.06	8.29

ตัวเลขในคอลัมน์เดียวกันที่ตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี DMRT

2.4 การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดต่อการยับยั้งการเกิดโรคของผลพริก

2.4.1 การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดต่อการยับยั้งการเกิดโรคของของผลพริกใน

ห้องปฏิบัติการ

จากการปลูกเชื้อลงบนผลพริกที่ฉีดพ่นสารสกัดต่างๆกัน พบว่า ผลพริกที่ฉีดพ่นด้วยสารสกัดมีขนาดความยาวของแผลน้อยกว่าชุดควบคุม โดยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยพบว่าสารสกัด1 และ 3 มีความยาวของแผล 9.5 และ 8 มิลลิเมตร และให้ผลไม่แตกต่างกันทางสถิติกับสารสกัด 2 และ 4 ซึ่งมีขนาดของแผล 5.5 และ 6.75 มิลลิเมตร ตามลำดับ ส่วนสารแมนโคแซบมีขนาดของแผลน้อยที่สุดคือ 2.5 มิลลิเมตร โดยให้ผลไม่แตกต่างกันทางสถิติกับสารสกัด 2 และ 4

2.4.2 การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดต่อการยับยั้งการเกิดโรคบนต้นพริก

จากการปลูกเชื้อ C. capsici พบว่าการฉีดพ่นสารสกัดมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคน้อยกว่าชุดควบคุม แต่ไม่มีประสิทธิภาพเทียบเท่ากับการใช้สารแมนโคแซบ โดยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และพบว่าการใช้สารสกัดฉีดพ่นมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค 72.07 - 74.99 เปอร์เซ็นต์ ชุดควบคุมมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค 76.66 - 79.16 เปอร์เซ็นต์ ส่วนการใช้สารแมนโคแซบฉีดพ่นมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค 52.49 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 4 เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคบนผลพริกหลังฉีดพ่นเชื้อ C. capsici

สารสกัด	เปอร์เซนต์การเกิดโรค
Cont	79.16a
เหล้าขาว	76.66a
สารแมนโคแซบ	52.49b
สารสกัด 1 (ว่านน้ำ + ขมิ้นชัน)	74.58a
สารสกัด 2 (ว่านน้ำ + ขมิ้นชัน + ข่า)	72.49a
สารสกัด 3 (ว่านน้ำ + ขมิ้นชัน + กระเทียม)	74.99a
สารสกัด 4 (ว่านน้ำ + ขมิ้นชัน + กระเทียม + ข่า)	72.07a

CV (%) = 10.38

ตัวเลขที่ตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี DMRT

จากการทดลองครั้งนี้จะเห็นว่าการใช้สารสกัดฉีดพ่นให้ผลไม่แตกต่างกันทางสถิติกับชุดควบคุม ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากในช่วงที่ทำการทดลอง มีสภาพแวดล้อมที่เหมาะกับการแพร่กระจายของเชื้อ นอกจากนี้สารสกัดจากพืชบางชนิดอาจคงฤทธิ์ได้ไม่นาน สอดคล้องกับรายงานของอุไรวรรณ (2544) ที่กล่าวว่าสารสกัดหยาบจากพืชบางชนิดออกฤทธิ์ได้ไม่นานนัก เช่น สารสกัดหยาบจากใบทองพันชั่ง คงฤทธิ์อยู่ได้ไม่เกิน 3 วัน ในขณะที่สารสกัดหยาบจากเปลือกผลทับทิมสามารถคงฤทธิ์อยู่ได้นาน 3 เดือน และสารสกัดจากพืชที่เก็บต่างฤดูกาลมีผลต่อประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อต่างกัน

สรุปผลการทดลอง

จากการสำรวจการกระจายตัวเชื้อสาเหตุโรคแอนแทรคโนสพริกใน 7 จังหวัดภาคใต้ตอนล่าง พบการกระจายตัวของเชื้อ Colletotrichum capsici ในพื้นที่ 7 จังหวัด ซึ่งมากกว่าการกระจายตัวของเชื้อ Colletotrichum gloeosporioides ซึ่งพบใน 6 จังหวัด โดยจังหวัดที่มีการกระจายตัวของเชื้อทั้ง 2 ชนิด มี 6 จังหวัด คือ จ.สงขลา พัทลุง ตรัง สตูล นราธิวาส และนครศรีธรรมราช

การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัด 5 ชนิด คือ ขมิ้นชัน ว่านน้ำ ข่า กระเทียม และพริกไทย ที่ระดับความเข้มข้น 1000, 3000, 5000 และ 10000 ppm ที่มีผลต่อการเจริญของเส้นใย พบว่าเมื่อความเข้มข้นของสารสกัดสูงขึ้นเปอร์เซนต์การยับยั้งการเจริญของเส้นใยจะสูงขึ้นโดยสารสกัดจากว่านน้ำ 10000 ppm มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเส้นใยสูงที่สุด คือ 87.72 เปอร์เซ็นต์ ส่วนเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการงอกของสปอร์พบว่า เมื่อความเข้มข้นของสารสกัดสูงขึ้นเปอร์เซนต์การยับยั้งการงอกของสปอร์จะสูงขึ้น และที่ระดับความเข้มข้น 10000 ppm สารสกัดจากขมิ้นชัน ว่านน้ำ ข่า กรเทียม และสารแมนโคแซบ สามารถยับยั้งการเจริญของสปอร์ได้ 100 เปอร์เซ็นต์ และทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดในการควบคุมโรคที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์และเปอร์เซ็นต์การงอก พบว่าการแช่เมล็ดพันธุ์ในสารสกัดมีเปอร์เซ็นต์เชื้อราที่ติดมากับเมล็ดลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ) การทดสอบเปอร์เซนต์การงอกของเมล็ดพันธุ์หลังการแช่ในสารสกัดที่ระดับความเข้มข้น 5000 และ 10000 ppm พบว่าเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดพันธุ์เพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม และพบว่าเมล็ดพันธุ์ที่ผ่านการแช่ในสารสกัดจะมีเปอร์เซ็นต์ของเมล็ดงอกและถูกเชื้อราเข้าทำลายน้อยมากเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม โดยชุดควบคุมมีเปอร์เซ็นต์มีเปอร์เซ็นต์ของเมล็ดที่งอกและถูกเชื้อราเข้า

ทำลายสูงถึง 15.25 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่เมล็ดที่ผ่านการแช่ในสารสกัดมีเปอร์เซ็นต์ของเมล็ดที่งอกและถูกเชื้อราเข้าทำลายไม่เกิน 0.5 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้การใช้สารสกัดที่ระดับความเข้มข้นที่สูงเกินไป คือ 10000 ppm เปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดพันธุ์ลดลง

การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดต่อการยับยั้งการเกิดโรคของผลพริกในห้องปฏิบัติการมีแนวโน้มช่วยลดความสูญเสียจากการเข้าทำลายของเชื้อราได้ แต่เมื่อนำสารสกัดมาฉีดพ่นบนต้นพริกพบว่าเปอร์เซ็นต์การโรคแม้ว่าจะต่ำกว่าชุดควบคุม แต่ก็ให้ผลไม่แตกต่างกันทางสถิติ ดังนั้นจากการทดลองครั้งนี้การใช้สารสกัดฉีดพ่นบนต้นพริกไม่สามารถควบคุมโรคแอนแทรคโนสของพริกได้

การนำไปใช้ประโยชน์

ได้ข้อมูลชนิดและความเข้มข้นของสารสกัดที่ยับยั้งการเจริญของเส้นใย และสปอร์ของเชื้อ C. capsici และการนำชนิดของสารสกัดและความเข้มข้นที่เหมาะสมมาใช้แช่ในเมล็ดพันธุ์เพื่อลดความสูญเสียจากการเข้าทำลายของโรค

การวิจัยและทดสอบเทคโนโลยี การใช้สารสกัดในการควบคุมเชื้อรา Colletotrichum capsici สาเหตุโรคแอนแทรคในพริก

เอกสารอ้างอิง

กัญจนา พุทธสมัย. 2538. โรคเมล็ดพันธุ์และเชื้อราในโรงเก็บ. กลุ่มงานวิจัยโรคพืชผลิตผลเกษตร กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร. 46 หน้า

ภัทรลดา เปี่ยมจิต. 2535. การทดสอบผลของสารเคมีป้องกันกำจัดโรคพืช และสารสกัดจากพืชบางชนิดที่มีต่อการเจริญของเชื้อรา Colletotrichum gloeosporioides (Penz.) Sacc. สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของมะม่วง. ปัญหาพิเศษปริญญาตรี ภาควิชาโรคพืชมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ 65 หน้า

บุญญวดี จิระวุฒิ. 2540. การทำให้เกิดโรคของเชื้อรา Colletotrichum capsici บนผลพริกและการถ่ายทอดเชื้อจากผลที่เป็นโรคสู่เมล็ดและต้นกล้า. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ. 66 หน้า.

รัตตา อเนกธนโชติ. 2542. ปฏิกิริยาที่มีต่อกันระหว่างเชื้อรา Colletotrichum capsici ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคแอนแทรคโนสกับผลพริก. วิทยานิพนธ์ ปริญญาโท มหาวิทยาลัย เกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ. 102 หน้า.

วิชัย ก่อประดิษฐ์สกุล และชัยณรงค์ รัตนกรีฑากุล. 2546. การศึกษาเบื้องต้นในระบบการจัดการ แบบเกษตรอินทรีย์เพื่อการควบคุมโรคพริก.วารสารข่าวศูนย์การวิจัยและเรือนปลูกพืช ทดลอง 17 (1,2) 16

สุมาลี เลี่ยมทอง. 2539. ฤทธิ์ต้านราก่อโรคพืชของน้ำมันหอมระเหย พิเพอรีน และซาโปนินส์. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

สุพจน์ ศุภนันธร. 2548. การสกัดและการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดสมุนไพรในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ Ralstonia solanacearum สาเหตุโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ. วิทยานิพนธ์ ปริญญาโท มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ

อรพรรณ วิเศษสังข์ และจุมพล สาระนาค. 2547. การบริหารโรคกุ้งแห้งของพริก. รายงานผลงานวิจัยเรื่องเต็ม 2547 สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร.

อรพรรณ วิเศษสังข์ และจุมพล สาระนาค. 2547. ความสามารถในการทำให้เกิดโรคของเชื้อ Colletotrichum spp. Isolate ต่างๆ บนผลพริก และปฏิกิริยาของพริกบาง isolate ต่อโรคกุ้งแห้ง.รายงานผลงานวิจัยเรื่องเต็ม 2547 สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร.

อุไรวรรณ ตวงสิน. 2544. การศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืชบางชนิดในการควบคุมโรคเหี่ยวจากแบคทีเรียของมะเขือเทศ. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Morris, J.A. 1978. Antimicrobial activity of aroma chemicals and essential oils. J. Aer. Oil Chem. Soc. 56 : 596-608