การศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดว่านน้ำในการยับยั้งเชื้อรา ก่อโรคผลเน่าที่แยกได้จากผลลิ้นจี่

The study on efficiency of *Acorus calamus* L. extract against fruit rot fungi isolated from lychee

สุวรรณี แทนธานี[1*], จารวี สุขประเสริฐ[2], สายจิต ดาวสุโข[1], โสรญา รอดประเสริฐ[1]
Suwannee Thaenthanee[1*], Jaravee Sukprasert[2], Saijit Daosukho[1], Soraya Rodprasert[1]

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดว่านน้ำ (*Acorus calamus* L.) ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราก่อโรคผลเน่าจำนวน 21 สายพันธุ์ เป็นสายพันธุ์อ้างอิงจำนวน 6 สายพันธุ์ และสายพันธุ์ที่แยกได้จากผลลิ้นจี่ จำนวน 15 สายพันธุ์ (ไอโซเลท) โดยการคัดแยกเชื้อราบริสุทธิ์จากเปลือกผลลิ้นจี่โดยวิธี Tissue transplanting พิสูจน์การก่อโรคตามวิธีของ Koch (Koch's Postulation) และจำแนกสายพันธุ์เชื้อราด้วยวิธีทาง Molecular technique การทดสอบประสิทธิภาพสารสกัดว่านน้ำด้วยตัวทำละลายเอทานอลร้อยละ 95 เปรียบเทียบกับสารยับยั้งเชื้อราคาร์เบนดาซิมในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราก่อโรคผลเน่าได้ดำเนินการใน 2 รูปแบบ คือ การทดสอบบนจานเพาะเชื้อ และการทดสอบบนผลลิ้นจี่ การทดสอบในจานเพาะเชื้อด้วยวิธี Poisoned food technique โดยการผสมสารสกัดว่านน้ำในอาหาร Potato Dextrose Agar (PDA) ให้ได้ความเข้มข้น 10, 100, 1,000 , 10,000, 20,000, และ 30,000 ppm พบว่า สารสกัดว่านน้ำที่ระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 10,000 ppm ขึ้นไป แสดงร้อยละการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราเฉลี่ยสูงที่สุด (มากกว่า ร้อยละ 80) ในขณะที่สารยับยั้งเชื้อราคาร์เบนดาซิม ที่ความเข้มข้น 1,000 ppm แสดงร้อยละการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราเฉลี่ย 70.26 ส่วนการทดสอบบนผลลิ้นจี่ ได้เลือกสารสกัดว่านน้ำที่ระดับความเข้มข้น 10,000 และ 20,000 ppm มาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราก่อโรคผลเน่าบนผลลิ้นจี่ โดยนำผลลิ้นจี่ที่พ่นด้วยสารสกัดว่านน้ำ มาทำให้เกิดแผลและปลูกด้วยเชื้อราก่อโรคมาทดสอบนำไปบ่มในสภาวะที่เหมาะสมเป็นเวลา 7 วันและสังเกตการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อรา พบว่า สารสกัดว่านน้ำที่ระดับความเข้มข้น 10,000 และ 20,000 ppm สามารถชะลอการเจริญของเชื้อราจำนวน 15 สายพันธุ์ ในขณะที่สารยับยั้งเชื้อรา คาร์เบนดาซิมที่ระดับความเข้มข้น 1,000 ppm สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ทุกสายพันธุ์ จึงมีความเป็นไปได้ในการประยุกต์ใช้สารสกัดว่านน้ำในการควบคุมเชื้อราก่อโรคผลเน่าในลิ้นจี่

Abstract

This research was to study the effect of *Acorus calamus* L. (Sweet flag) extract on the mycelial growth inhibition of 21 strains of fruit rot fungi. Among these, 6 were reference strains and 15 were strains isolated from lychee fruit peels. The isolation of fungal strains was performed by using tissue transplanting technique, proved to cause fruit rot disease according to Koch's Postulation method. The fungal strains were classified using a molecular technique. The ability of *A.calamus* extract by 95% ethanol on the mycelial growth inhibition was compared with commercial fungicide, carbendazim. The experiment was performed in 2 ways, on Potato Dextrose Agar (PDA) plates and on lychee fruit. The test on PDA plates was performed

according to Poisoned food technique. Various concentrations (10, 100, 1,000, 10,000, 20,000, and 30,000 ppm) of the extract were determined for antifungal activity on PDA. The result indicated that all fungal strains were sensitive to *A. calamus* extract at the concentration of 10,000 ppm upward. The average mycelial growth inhibition of the extract at 10,000 ppm was more than 80% whereas that of carbendazim at 1,000 ppm was 70.26%. The extract at 10,000 and 20,000 ppm were tested for the mycelial growth inhibition on lychee friut. The lychee fruit were cleaned, sprayed with *A.calamus* extract, punched with the needle, and inoculated with the tested fungi. All inoculated fruit were incubated in an appropriate condition for 7 days. The growth of the tested fungal mycelium were then observed. The result showed that the extract delayed the mycelial growth of 15 strains on lychee fruit whereas carbendazim inhibited 21 strains. Therefore, the A.calamus extract has a potential to be used to control fruit rot fungi in lychee fruit.

คำสำคัญ : โรคผลเน่า, สารสกัดจากพืช, Litchi Chinensis
Keywords : Fruit rot, plant extract, Litchi Chinensis

[1]กรมวิทยาศาสตร์บริการ
*Corresponding author E-mail address : suwannee@dss.go.th

1. บทนำ (Introduction)

ลิ้นจี่ (*Litchi Chinensis Sonn.*) เป็นผลไม้เขตกึ่งร้อนชนิดหนึ่งที่คนนิยมรับประทาน เนื่องจากมีรสชาติดี หวาน หอม สีสวย ทำให้เป็นที่ต้องการทั้งภายในประเทศและต่างประเทศ ดังนั้นลิ้นจี่จึงเป็นผลไม้ที่มีความสำคัญต่อเศรษฐกิจของประเทศ อย่างไรก็ตาม ลิ้นจี่มักมีปัญหาที่สำคัญในช่วงของการเก็บรักษา คือ การเน่าเสีย ซึ่งมีสาเหตุจากการเข้าทำลายผลของเชื้อราก่อโรคผลเน่า เช่น เชื้อราในกลุ่ม *Lasiodiplodia theobromae, Colletotrichum gloeosporioides Penz., Pestalotia spp., Curvularia sp., Fusarium sp., Rhizopus sp., Mucor sp., Penicillium expansum, Aspergillus niger, Rhizopus nigricans, Aspergillus flavus, Aspergillus niger, และ Nigrospora sp.* เป็นต้น (1) การเข้าทำลายของโรคอาจเกิดการติดเชื้อตั้งแต่ผลิตผลอยู่ในแปลงปลูกแต่ยังไม่แสดงอาการของโรค จนกระทั่งหลังเก็บเกี่ยวจึงแสดงอาการออกมา เมื่อผลิตผลอ่อนแอหรือเข้าสู่ระยะการสุก ส่งผลให้ผิวเปลือกผลเป็นสีน้ำตาลดำ มีการเจริญของเส้นใยเชื้อราซึ่งมักจะเกิดขึ้นเพียงด้านใดด้านหนึ่งของผลก่อนแล้วจะลุกลามไปทั่วทั้งผล และมีของเหลวไหลออกจากเปลือกผล เมื่อปอกเปลือกผลดูเนื้อเยื่อภายในจะพบว่าเนื้อเยื่อของผลเปลี่ยนจากใสเป็นลักษณะขุ่นเหมือนกระจกฝ้าอ่อนนุ่ม ฉ่ำน้ำ มีกลิ่นเหม็นเปรี้ยว แพร่ระบาดลุกลามอย่างรวดเร็ว ซึ่งจะทำให้ผลอื่นๆ ที่อยู่ใกล้เคียงเป็นโรคมีลักษณะอาการดังกล่าวอีก นับว่าเป็นโรคที่รุนแรงและเกิดผลเสียหายมาก (1)

ปัจจุบันวิธีการลดการเน่าเสียและยืดอายุการเก็บรักษาลิ้นจี่เชิงพาณิชย์คือ การรมด้วยซัลเฟอร์ไดออกไซด์และการจุ่มในสารเคมีป้องกันเชื้อรา ปัญหาที่พบจากการรมด้วยซัลเฟอร์ไดออกไซด์ คือ การตกค้างของสารในเปลือกและผลซึ่งทำให้ผู้บริโภคเกิดอาการแพ้ (2) (3) สำหรับสารเคมีที่นิยมใช้เพื่อควบคุมโรค เป็นสารเคมีชนิดดูดซึม (systemic fungicides) เช่น สารเคมีในกลุ่มเบนซิมิดาโซล (Benzimidazoles) ได้แก่ ไธอาเบนดาโซล (Thiabendazole) และ คาร์เบนดาซิม (Carbendazim) สารเคมีชนิดนี้เมื่อฉีดพ่นลงบนพืชแล้วจะถูกดูดซึมเข้าไปภายในเนื้อเยื่อพืช และสามารถแพร่กระจายไปยังส่วนต่างๆ ได้ เป็นสารที่มีความคงตัวสูง สลายตัวยากในน้ำ ดินและผลผลิตทางการเกษตร ซึ่งการตกค้างของสารเคมีในผลลิ้นจี่จะเป็นปัญหาต่อสุขภาพผู้บริโภค คือ เป็นสารก่อมะเร็ง (4) ตลอดจนมีพิษตกค้างในสิ่งแวดล้อม และทำให้เชื้อราสร้างความต้านทานต่อสารเคมีได้ นอกจากนี้ในปัจจุบันผู้บริโภคไม่ว่าจะเป็นภายในประเทศและต่างประเทศได้เน้นความสำคัญในเรื่องของการบริโภคอาหารที่มีคุณภาพและความปลอดภัย ดังนั้น เพื่อเป็นแนวทางลดการใช้สารเคมีและเพื่อความปลอดภัยของผู้บริโภค จึงจำเป็นต้องมีการพัฒนาสิ่งที่ทดแทนการใช้สารเคมีทางเลือกหนึ่งที่น่าสนใจอย่างยิ่ง คือ การใช้สารสกัดจากพืชสมุนไพรหรือสารธรรมชาติมาใช้ในการป้องกันการเน่าเสีย เนื่องจากมีความปลอดภัยสูงกว่าการใช้สารเคมีสังเคราะห์และสลายตัวได้ง่าย จึงทำให้ไม่ค่อยมีพิษตกค้างในผลไม้

ว่านน้ำ (*Acorus calamus L.*) เป็นไม้ล้มลุกเนื้ออ่อน สูง 1-2 เมตร อยู่ในวงศ์ Araceae ว่านน้ำมีลำต้นเป็นเหง้าอยู่ใต้ดินลักษณะเป็นแท่งค่อนข้างแบน มีใบแข็งตั้งตรง รูปร่างแบนเรียวยาว ปลายใบแหลม แตกใบเรียงสลับซ้ายขวาเป็นแผง ใบค่อนข้างฉ่ำน้ำ ดอกมีสีเขียว มีขนาดเล็ก ออกเป็นช่อ มีจำนวนมากอัดกันแน่นเป็นแท่งรูปทรงกระบอก มีก้านช่อดอกลักษณะคล้ายใบทั้งใบ เหง้า และรากมีกลิ่นหอมฉุน ขอบขึ้นตามที่น้ำขังหรือที่ชื้นแฉะ เหง้าของว่านน้ำให้น้ำมันหอมระเหยได้ดีและมีปริมาณมาก สารออกฤทธิ์สำคัญที่พบในว่านน้ำคือ เบตา-อาซาโรน (β-asarone) มีผลในการออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียและเชื้อรา(5) ว่านน้ำเป็นสมุนไพรอีกชนิดหนึ่งที่มีรายงานวิจัยพบว่า มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อรา ที่เป็นสาเหตุของการเกิดโรคเน่าในพืชตระกูลกะหล่ำ กุหลาบ และเบญจมาศได้ (6) ดังนั้น การศึกษาวิจัยนี้จึงสนใจที่จะศึกษาผลของสารสกัดจากว่านน้ำด้วยตัวทำละลายเอทานอลร้อยละ 95 ในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุที่ทำให้ผลลิ้นจี่เน่าเสียในระยะหลังการเก็บเกี่ยว

2. วิธีการวิจัย (Experimental)

2.1 การเตรียมสารสกัดว่านน้ำ

ชั่งเหง้าว่านน้ำแห้งที่บดละเอียด เติมตัวทำละลายเอทานอลร้อยละ 95 ในอัตราส่วน 1 : 5 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ลงในภาชนะแก้วมีฝาปิด และทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 วัน จากนั้น กรองแยกสารสกัดออกจากสมุนไพร สกัดซ้ำด้วยวิธีเดิมอีก 2 ครั้ง แล้วนำสารสกัดที่ได้มารวมกัน ระเหยให้เข้มข้นด้วยเครื่องกลั่นระเหยสุญญากาศ (V-205, Buchi, Switzerland) ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส จนกระทั่งไม่มีตัวทำละลายออกมา จากนั้นชั่งน้ำหนักสารสกัดว่านน้ำ และคำนวณผลผลิตที่ได้โดยใช้สูตรคำนวณ

$$\text{ร้อยละผลผลิตที่ได้} = \frac{\text{น้ำหนักผลผลิตที่ได้(กรัม)} \times 100}{\text{น้ำหนักพืชก่อนสกัด(กรัม)}}$$

นำสารสกัดว่านน้ำเก็บใส่ขวดสีชาและเก็บไว้ในตู้เย็นเพื่อเตรียมสำหรับการทดลองต่อไป

2.2 การคัดแยกเชื้อราก่อโรคผลเน่าจากเปลือกผลลิ้นจี่และการพิสูจน์การก่อโรค

2.2.1 การคัดแยกเชื้อราบริสุทธิ์จากเปลือกผลลิ้นจี่คัดแยกเชื้อราบริสุทธิ์จากเปลือกผลลิ้นจี่ 2 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ค่อม และพันธุ์ฮงฮวย โดยวิธี Tissue transplanting โดยการนำเปลือกผลลิ้นจี่มาตัดให้เป็นรูปสี่เหลี่ยมจัตุรัสขนาด 0.5 x 0.5 เซนติเมตร นำไปแช่ในสารละลาย คลอร็อกซ์ (Chlorox) ความเข้มข้น ร้อยละ 10 โดยปริมาตร เป็นเวลา 3 นาที แช่ในน้ำกลั่นปลอดเชื้อเป็นเวลา 3 นาที จากนั้นซับด้วยกระดาษทิชชูที่ผ่านการฆ่าเชื้อ นำชิ้นตัวอย่างมาวางในจานอาหาร Potato Dextrose Agar (PDA) นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เมื่อพบการเจริญของเส้นใยเชื้อรา ใช้เข็มปลายงอตัดบริเวณปลายเส้นใยของเชื้อรา วางบริเวณตรงกลางจานอาหาร PDA บ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน บันทึกลักษณะโคโลนี สี ขนาด และจัดกลุ่ม หากมีลักษณะซ้ำกันเลือกเก็บไว้เพียง 1 สายพันธุ์ โดยการใช้เข็มปลายงอตัดปลายเส้นใยเชื้อราไปวางบนหลอดอาหารเอียง (PDA slant) เพื่อนำไปใช้ในการทดลองต่อไป

2.2.2 การพิสูจน์การก่อโรคของเชื้อราที่แยกได้จากเปลือกผลลิ้นจี่

พิสูจน์การก่อโรคตามวิธีของ Koch (Koch's Postulation) (7) โดยนำผลลิ้นจี่ที่สมบูรณ์ไม่มีรอยตำหนิมาแช่ในสารละลายคลอร็อกซ์ความเข้มข้นร้อยละ 10 โดยปริมาตร เป็นเวลา 3 นาที แช่ในน้ำกลั่นปลอดเชื้อ 2 ครั้ง ครั้งละ 3 นาที ซับให้แห้งด้วยกระดาษทิชชูที่ฆ่าเชื้อแล้วให้แห้ง ใช้เข็มเขี่ยเชื้อ เจาะทะลุเปลือกผลลิ้นจี่จำนวน 3 จุดเพื่อทำให้เกิดแผล ใช้ Cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร ที่ฆ่าเชื้อแล้วตัดเส้นใยเชื้อรามาวางบนเปลือกผลลิ้นจี่บริเวณที่ถูกทำแผล นำผลลิ้นจี่ที่ปลูกเชื้อใส่ในกล่องพลาสติกใส ที่มีสำลีชุบน้ำวางไว้ภายในกล่องเพื่อรักษาความชื้น ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน สังเกตการเจริญของเชื้อราทุกวัน หากพบการเจริญของเชื้อราเกินกว่าครึ่งผล มีการเปลี่ยนแปลงของสีเปลือกเป็นสีน้ำตาลดำ เกิดการยุบตัวของผลลิ้นจี่และมีน้ำไหลออกจากแผล จัดว่าเป็นเชื้อราก่อโรคผลเน่า

2.2.3 การจัดจำแนกสายพันธุ์เชื้อราก่อโรคผลเน่าที่แยกได้จากเปลือกผลลิ้นจี่

ส่งเชื้อราจำนวน 15 สายพันธุ์ ที่เป็นเชื้อราก่อโรคผลเน่าที่แยกได้จากเปลือกผลลิ้นจี่จากข้อ 2.2.2 เพื่อจัดจำแนกสายพันธุ์ ณ ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ (BIOTEC) ด้วยวิธี Molecular technique โดยการเพิ่มจำนวน 18s rDNA ด้วยเทคนิค PCR และอ่านลำดับนิวคลีโอไทด์ของ 18s rDNA ด้วยเครื่อง automated sequencer (8) และวิเคราะห์เปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์กับฐานข้อมูลใน GenBank เพื่อระบุสายพันธุ์เชื้อรา

2.3 การทดสอบประสิทธิภาพสารสกัดว่านน้ำในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราก่อโรคผลเน่าบนจานเพาะเชื้อ

2.3.1 การเตรียมเชื้อราก่อโรคสำหรับการทดสอบเพาะเลี้ยงเชื้อราก่อโรคผลเน่าสายพันธุ์อ้างอิง จำนวน 6 สายพันธุ์ ที่ได้จากกรมวิชาการเกษตร ได้แก่ *Colletotrichum sp., Curvularia sp., Fusarium solani, Lasiodiplodia sp., Pestalotiopsis sp., และ Phoma sp.* รวมทั้งเชื้อราก่อโรคผลเน่าที่แยกได้จากเปลือกผลลิ้นจี่ จำนวน 15 สายพันธุ์ บนอาหาร Potato Dextrose Agar (PDA) บ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน

2.3.2 การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดว่านน้ำในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราก่อโรคผลเน่าบนจานเพาะเชื้อด้วยวิธี Poisoned food technique

เตรียมสารสกัดว่านน้ำ (จากข้อ 2.1) โดยละลายในน้ำกลั่นปลอดเชื้อให้ได้ความเข้มข้น 50,000 ppm แล้วผสมกับอาหาร PDA ให้ได้ระดับความเข้มข้น 10, 100, 1,000, 10,000 ppm อาหารชุดควบคุมบวก (Positive control) ผสมสารยับยั้งเชื้อราคาร์เบนดาซิมที่ระดับความเข้มข้น 1,000 ppm ซึ่งมีรายงานว่าสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้อย่างมีประสิทธิภาพ (9) อาหารชุดควบคุมลบ (Negative control) จะไม่ผสมสารสกัด นำเชื้อราสายพันธุ์อ้างอิงที่เตรียมไว้ในข้อ 2.3.1 มาทดสอบด้วยวิธี Poisoned food technique โดยใช้ Cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร ที่ฆ่าเชื้อแล้ว ตัดปลายเส้นใยของเชื้อรา นำชิ้นวุ้นของเชื้อราที่ตัดแล้ววางบนอาหาร PDA โดยให้ด้านที่มีเชื้อราสัมผัสผิวหน้าอาหาร ทำการทดลอง 4 ซ้ำ นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส บันทึกการเจริญของเส้นใย เมื่อโคโลนีของเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อชุดควบคุมเจริญเต็มจานเพาะเชื้อ วัดเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีเชื้อรา เพื่อคำนวณร้อยละการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา โดยใช้สูตร

ร้อยละการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา =

$$((A - B) / A) \times 100$$

เมื่อ A คือค่าเฉลี่ยของเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีเชื้อราที่เจริญบนอาหารชุดควบคุมลบ

B คือค่าเฉลี่ยของเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีเชื้อราที่เจริญบนอาหารผสมสารสกัด หรือผสมสารกำจัดเชื้อรา

สำหรับเชื้อราก่อโรคผลเน่าที่แยกได้จากเปลือกผลลิ้นจี่ ทำการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 2.3.2 แต่ใช้สารสกัดว่านน้ำที่ระดับความเข้มข้น 10,000, 20,000, และ 30,000 ppm (**ชี้แจง: การทดสอบบนจานเพาะเชื้อทำทั้ง 3 ความเข้มข้น ผลดังตารางที่ 3 หน้า 12)

2.4 การทดสอบประสิทธิภาพสารสกัดว่านน้ำในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราก่อโรคผลเน่าบนผลลิ้นจี่

เพาะเลี้ยงเชื้อราก่อโรคผลเน่าบนผลลิ้นจี่ จำนวน 21 สายพันธุ์ ตามวิธีข้อ 2.3.1 ทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา ด้วยวิธีการที่ดัดแปลงมาจากวิธี Koch's Postulation (ข้อ 2.2.2) โดยเพิ่มขั้นตอนของการพ่นสารสกัดที่ระดับความเข้มข้น 10,000 และ 20,000 ppm ลงบนเปลือกผลลิ้นจี่ที่อยู่ภายในถุงปลอดเชื้อ จนชุ่มทั่วทั้งผล ทิ้งไว้เป็นเวลา 5 นาที นำออกจากถุง วางในจานเพาะเชื้อและผึ่งให้แห้งในตู้ปลอดเชื้อ จากนั้น ใช้เข็มเขี่ยเชื้อ เจาะทะลุเปลือกผลลิ้นจี่ จำนวน 3 จุดเพื่อทำให้เกิดแผล ใช้ Cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร ที่ฆ่าเชื้อแล้ว ตัดเส้นใยเชื้อรามาวางบนเปลือกผลลิ้นจี่บริเวณที่ถูกเจาะ นำผลลิ้นจี่ที่ปลูกเชื้อแล้วใส่ลงในกล่องพลาสติกใส ที่มีสำลีชุบน้ำวางไว้ภายในกล่องเพื่อรักษาความชื้น ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน เปรียบเทียบกับชุดควบคุมบวก ที่พ่นสารยับยั้งเชื้อราคาร์เบนดาซิม ที่ความเข้มข้น 1,000 ppm ทำการทดลอง 4 ซ้ำ วัดการเจริญของเส้นใยเชื้อราบนผลลิ้นจี่ โดยการสังเกตและนำมาเขียนเกณฑ์ให้คะแนนดังนี้ ใช้เครื่องหมาย — หากไม่พบการเจริญของเส้นใยเชื้อรา ใช้เครื่องหมาย + หากพบการเจริญของเส้นใยเชื้อราน้อยกว่าครึ่งผล ใช้เครื่องหมาย ++ หากพบการเจริญของเส้นใยเชื้อราเท่ากับครึ่งผล และใช้เครื่องหมาย +++ หากพบการเจริญของเส้นใยเชื้อราครอบคลุมทั่วทั้งผล

3. ผลและวิจารณ์ (Results and Discussion)

3.1 การเตรียมสารสกัดว่านน้ำ

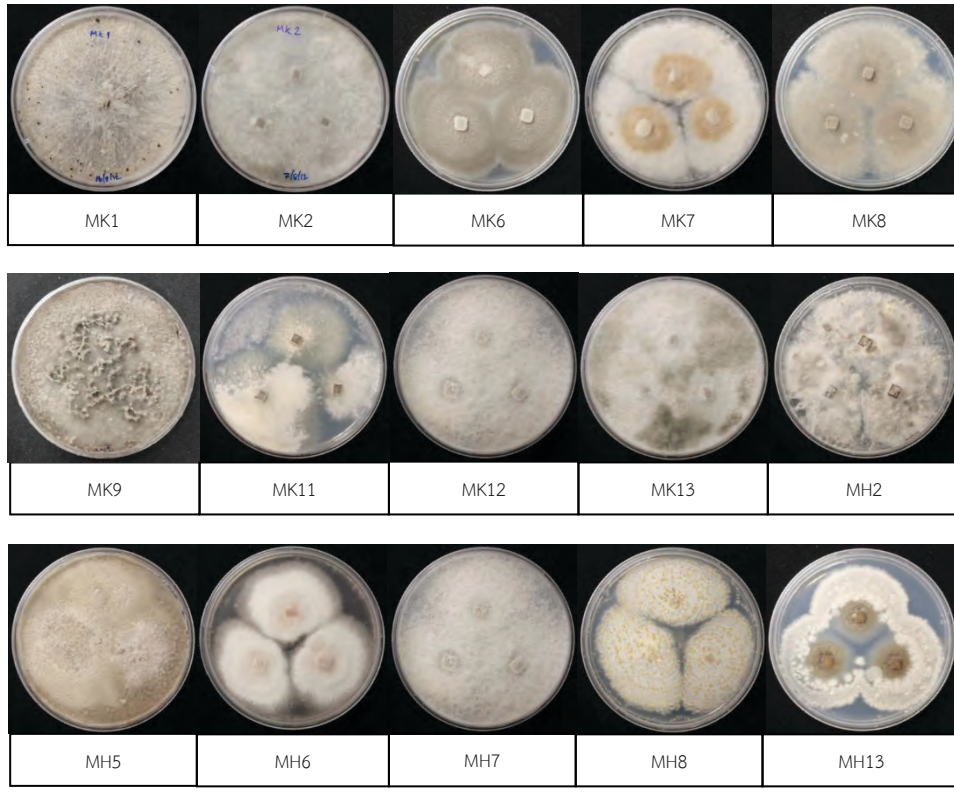
สารสกัดเอทานอลจากเหง้าว่านน้ำแห้งที่บดละเอียด 200 กรัม ได้น้ำหนักของสารสกัด 9.95 กรัม คิดเป็นร้อยละผลผลิตที่ได้ (% yield) 4.89 สารสกัดที่ได้มีลักษณะข้นหนืด สีน้ำตาลแก่

3.2 การคัดแยกเชื้อราก่อโรคผลเน่าจากเปลือกผลลิ้นจี่และการพิสูจน์การก่อโรค

3.2.1 การคัดแยกเชื้อราจากเปลือกผลลิ้นจี่ การคัดแยกเชื้อราบริสุทธิ์จากเปลือกผลลิ้นจี่ได้ทั้งสิ้นจำนวน 27 สายพันธุ์ คือจากเปลือกผลลิ้นจี่พันธุ์ค่อม (MK) 13 สายพันธุ์ และจากเปลือกผลลิ้นจี่พันธุ์ฮงฮวย (MH) 14 สายพันธุ์

3.2.2 การพิสูจน์การก่อโรคของเชื้อราที่แยกได้จากเปลือกผลลิ้นจี่

ผลการพิสูจน์การก่อโรคของเชื้อราบริสุทธิ์ที่คัดแยกได้จำนวน 27 สายพันธุ์ พบว่า 15 สายพันธุ์ มีความสามารถในการก่อโรค แบ่งเป็นเชื้อราที่แยกได้จากเปลือกผลลิ้นจี่พันธุ์ค่อม 9 สายพันธุ์ (MK1, MK2, MK6, MK7, MK8, MK9, MK11, MK12 และ MK13) และเป็นเชื้อราจากเปลือกผลลิ้นจี่พันธุ์ฮงฮวย 6 สายพันธุ์ (MH2, MH5, MH6, MH7, MH8 และ MH13) ดังภาพที่ 1



ภาพที่ 1 โคโลนีของเชื้อราก่อโรคผลเน่าที่แยกได้จากเปลือกผลลิ้นจี่

3.2.3 การจัดจำแนกสายพันธุ์เชื้อราก่อโรคผลเน่าที่แยกได้จากเปลือกผลลิ้นจี่

ผลการจัดจำแนกสายพันธุ์เชื้อราจำนวน 15 สายพันธุ์ พบว่า มี % similarity กับเชื้อราที่อยู่ในฐานข้อมูล Genbank มากกว่าร้อยละ 99 (ตารางที่ 1) และพบว่าเป็นเชื้อราที่มีรายงานว่าก่อโรคผลเน่าลิ้นจี่จำนวน 13 สายพันธุ์ (3) ได้แก่กลุ่ม *Lasiodiplodia pseudotheobromae, Cochliobolus geniculatus, Fusarium sp., Pestalotiopsis virgatula, Nigrospora sp., Colletotrichum gloeosporioides, Alternaria alternata, Fusarium solani, Aspergillus carbonarius* และ *Phoma sp.* โดยอยู่ในกลุ่มเดียวกับเชื้อราสายพันธุ์อ้างอิง จำนวน 9 สายพันธุ์

ตารางที่ 1 การจัดจำแนกสายพันธุ์เชื้อราก่อโรคผลเน่าที่แยกได้จากเปลือกผลลิ้นจี่ด้วยวิธี molecular technique

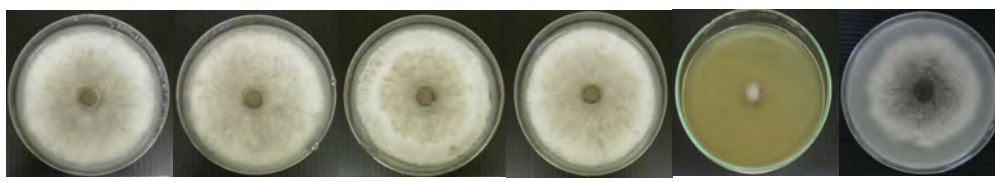
Code	สายพันธุ์	แยกได้จาก	เปรียบเทียบกับ Genbank Accession No.	% similarity	ก่อให้เกิดโรค	เอกสารอ้างอิง
MK1	*Diaporthe phaseolorum*	เปลือกผลลิ้นจี่ (พันธุ์ค่อม)	JQ514150.1	99%	เมล็ดเน่าในถั่วเหลือง	[10]
MK2	*Lasiodiplodia pseudotheobromae*	เปลือกผลลิ้นจี่ (พันธุ์ค่อม)	EF622077.1	99%	ผลเน่าในลิ้นจี่	[3]
MK6	*Cochliobolus geniculatus* (*Curvularia geniculata*)	เปลือกผลลิ้นจี่ (พันธุ์ค่อม)	JN943417.1	100%	ผลเน่าในลิ้นจี่	[3]
MK7	*Fusarium* sp.	เปลือกผลลิ้นจี่ (พันธุ์ค่อม)	GQ352485.1	100%	ผลเน่าในลิ้นจี่	[3]
MK8	*Setosphaeria rostrata*	เปลือกผลลิ้นจี่ (พันธุ์ค่อม)	HE664034.1	99%	เชื้อราเข้าทำลายบริเวณรากพืช	[11]
MK9	*Pestalotiopsis virgatula*	เปลือกผลลิ้นจี่ (พันธุ์ค่อม)	AY687880.1	100%	ผลเน่าในลิ้นจี่	[3]
MK11	*Lasiodiplodia pseudotheobromae*	เปลือกผลลิ้นจี่ (พันธุ์ค่อม)	EF622077.1	100%	ผลเน่าในลิ้นจี่	[3]
MK12	*Nigrospora oryzae*	เปลือกผลลิ้นจี่ (พันธุ์ค่อม)	HQ608152.1	99%	ผลเน่าในลิ้นจี่	[3]
MK13	*Lasiodiplodia pseudotheobromae*	เปลือกผลลิ้นจี่ (พันธุ์ค่อม)	EF622077.1	99%	ผลเน่าในลิ้นจี่	[3]
MH2	*Colletotrichum gloeosporioides*	เปลือกผลลิ้นจี่ (พันธุ์ฮงฮวย)	EU552111.1	99%	ผลเน่าในลิ้นจี่	[3]
MH5	*Alternaria alternata*	เปลือกผลลิ้นจี่ (พันธุ์ฮงฮวย)	HQ263343.1	99%	ผลเน่าในลิ้นจี่	[3]
MH6	*Fusarium solani*	เปลือกผลลิ้นจี่ (พันธุ์ฮงฮวย)	FJ345352.1	98%	ผลเน่าในลิ้นจี่	[3]
MH7	*Nigrospora* sp.	เปลือกผลลิ้นจี่ (พันธุ์ฮงฮวย)	JN207335.1	99%	ผลเน่าในลิ้นจี่	[3]
MH8	*Aspergillus carbonarius*	เปลือกผลลิ้นจี่ (พันธุ์ฮงฮวย)	AJ280012.1|	100%	ผลเน่าในลิ้นจี่	[3]
MH13	*Phoma* sp.	เปลือกผลลิ้นจี่ (พันธุ์ฮงฮวย)	GU045305.1	99%	ผลเน่าในลิ้นจี่	[3]

3.3 การทดสอบประสิทธิภาพสารสกัดว่านน้ำในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราก่อโรคผลเน่าบนจานเพาะเชื้อ

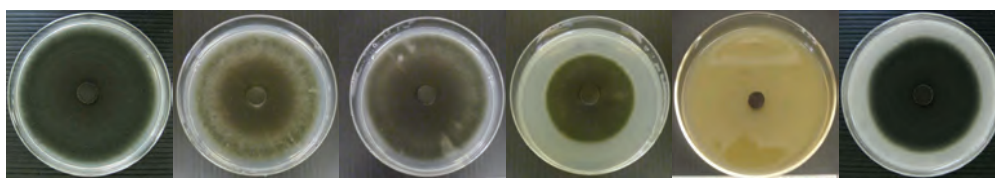
3.3.1 การหาค่าความเข้มข้นของสารสกัดว่านน้ำที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราด้วยวิธี Poisoned food technique

สารสกัดว่านน้ำ ที่ระดับความเข้มข้น 10, 100, 1,000 และ 10,000 ppm บนอาหาร PDA สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราสายพันธุ์อ้างอิงจำนวน 6 สายพันธุ์ มีร้อยละการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราเฉลี่ยเท่ากับ 2.26, 6.00 , 7.21 และ 81.18 ตามลำดับ (ภาพที่ 2) ในขณะที่สารยับยั้งเชื้อรา คาร์เบนดาซิม ที่ระดับความเข้มข้น 1,000 ppm แสดงร้อยละการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราเฉลี่ย 61.71 (ตารางที่ 2) จึงสรุปได้ว่าสารสกัดว่านน้ำที่ระดับ 10,000 ppm เป็นต้นไป สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ สอดคล้องกับงานวิจัยของ ผ่องเพ็ญ จิตอารีย์รัตน์ และคณะ (2542) ที่พบว่าสารสกัดเอทานอลของว่านน้ำมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* และ *Botryodiplodia theobromae* ได้ที่ความเข้มข้นระดับมากกว่า 5,000 ppm ขึ้นไป (12) นอกจากนี้ Phongpaichit, S. และคณะ (2005) พบว่าสารสำคัญในเหง้าว่านน้ำที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อรา ได้แก่ เบตา-อาซาโรน (β-asarone) ได้ทดสอบส่วนสกัดกึ่งบริสุทธิ์ที่ได้จากการแยกสารสกัดหยาบเมทานอลของเหง้าว่านน้ำ และมีเบตา-อาซาโรนเป็นส่วนประกอบหลัก พบว่าแสดงฤทธิ์ยับยั้งเชื้อรา *Trichophyton rubrum, Microsporum gypseum* และ *Penicillium marneffei* ในระดับสูง โดยสารสกัดทำให้เส้นใยเชื้อรามีความผิดปกติ (13) ดังนั้น ในการทดสอบประสิทธิภาพสารสกัดว่านน้ำในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราก่อโรคผลเน่าทั้ง 21 สายพันธุ์ ที่คัดแยกได้จากเปลือกของลิ้นจี่ จึงเลือกใช้ที่ระดับความเข้มข้น 10,000, 20,000 และ 30,000 ppm ในการทดสอบต่อไป

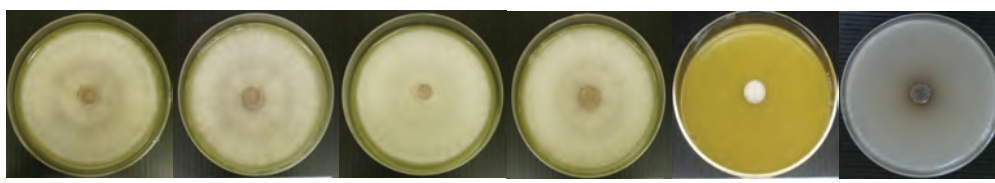
Colletotrichum sp.



Curvularia sp.

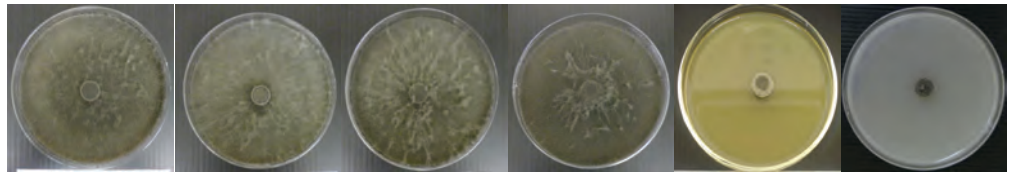


Fusarium solani

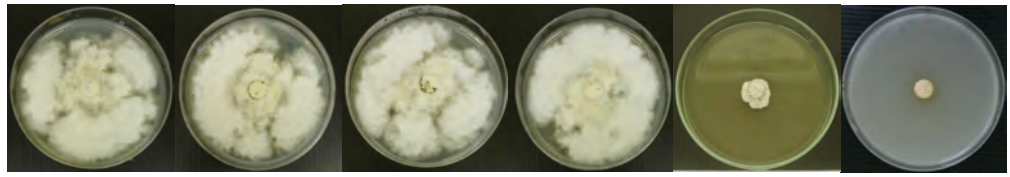


ภาพที่ 2 โคโลนีของเชื้อราก่อโรคผลเน่าสายพันธุ์อ้างอิงบนอาหาร PDA ผสมสารสกัดว่านน้ำที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ และสารยับยั้งเชื้อราคาร์เบนดาซิม

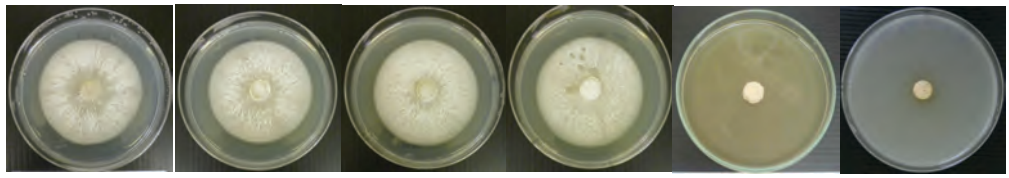
Lasiodiplodia sp.



Pestalotiopsis sp



Phoma sp.



PDA (Control)	*A.calamus* 10 ppm	*A.calamus* 100 ppm	*A.calamus* 1,000 ppm	*A.calamus* 10,000 ppm	Carbendazim 1,000 ppm

ภาพที่ 2 (ต่อ) โคโลนีของเชื้อราก่อโรคผลเน่าสายพันธุ์อ้างอิงบนอาหาร PDA ผสมสารสกัดว่านน้ำที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ และสารยับยั้งเชื้อราคาร์เบนดาซิม

ตารางที่ 2 ร้อยละการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสายพันธุ์อ้างอิงบนอาหาร PDA ผสมสารสกัดว่านน้ำที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ และสารยับยั้งเชื้อราคาร์เบนดาซิม

สายพันธุ์เชื้อราอ้างอิง	[1] ร้อยละการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน บนอาหาร PDA ที่ผสม				
	สารสกัดว่านน้ำที่ระดับความเข้มข้น				คาร์เบนดาซิม
	10 ppm	100 ppm	1,000 ppm	10,000 ppm	1,000 ppm
Colletotrichum sp.	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	72.95±2.34	7.71±4.07
Curvularia sp.	6.13±1.28	11.72±5.41	31.61±0.97	88.07±0.30	18.14±3.03
Fusarium solani	0.00±0.00	10.52±0.83	0.00±0.00	83.37±1.21	88.10±0.00
Lasiodiplodia sp.	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	85.42±0.78	88.89±0.00
Pestalotiopsis sp.	7.41±4.73	13.77±3.92	11.62±1.25	88.96±0.27	88.89±0.00
Phoma sp.	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	68.32±1.92	78.53±0.00
ร้อยละการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา	2.26±1.00	6.00±1.69	7.21±0.37	81.18±1.14	61.71±1.18

[1]ค่าเฉลี่ยของการทดลอง 4 ซ้ำในแต่ละความเข้มข้น

3.3.2 การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดว่านน้ำในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราก่อโรคผลเน่าบนจานเพาะเชื้อสารสกัดว่านน้ำ ที่ระดับความเข้มข้น 10,000, 20,000, และ 30,000 ppm บนอาหาร PDA สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราก่อโรคผลเน่าลิ้นจี่ที่แยกได้จากธรรมชาติได้ทุกสายพันธุ์ มีร้อยละการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราเฉลี่ย 82.83, 84.81 และ 85.49 ตามลำดับ มีช่วงการยับยั้งอยู่ระหว่างร้อยละ 65.32 — 89.40 ในขณะที่สารยับยั้งเชื้อราคาร์เบนดาซิมที่ระดับความเข้มข้น 1,000 ppm มีร้อยละการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราเฉลี่ย 70.26 มีช่วงการยับยั้งอยู่ระหว่างร้อยละ 5.50 — 89.15 (ตารางที่ 3) เชื้อราที่ทนต่อคาร์เบนดาซิมในระดับสูง ได้แก่ *Alternaria alternata (MH 5), Colletotrichum sp.* (สายพันธุ์อ้างอิง), *Setosphaeria rostrata (MK 8)* และ *Curvularia sp.* (สายพันธุ์อ้างอิง) มีร้อยละการยับยั้งต่ำเพียง 5.50, 7.71, 15.34 และ 18.14 ตามลำดับ สอดคล้องกับรายงานของ พรประพา คงตระกูล และคณะ (2553) และ ณัฐพงษ์ นวลดี และคณะ (2553) ที่พบเชื้อราก่อโรคพืชต้านทานคาร์เบนดาซิมในระดับสูง (≥ 500 ppm) คาร์เบนดาซิมเป็นสารในกลุ่มเบนซิมิดาโซล ที่มีอิทธิพลต่อการสร้างโปรตีน Tubulin ภายในนิวเคลียสของเชื้อรา ซึ่งเมื่อเกิดการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรม ในตำแหน่งของยีน Beta-tubulin จะมีผลให้ลำดับกรดอะมิโนของโปรตีนเปลี่ยนแปลงไป เชื้อจึงเกิดการต้านทานต่อสารป้องกันกำจัดเชื้อราดังกล่าว (14) และ (15)

ผลการทดสอบบนจานเพาะเชื้อแสดงให้เห็นว่าสารสกัดว่านน้ำมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา ที่ระดับความเข้มข้น 10,000 ppm เป็นต้นไป ดังนั้น เพื่อศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารสกัดในการนำไปใช้งาน จึงเลือกใช้สารสกัดว่านน้ำที่ระดับความเข้มข้น 2 ระดับ ได้แก่ 10,000 และ 20,000 ppm เปรียบเทียบกับสารยับยั้งเชื้อราคาร์เบนดาซิม ในการทดสอบการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราก่อโรคผลเน่าบนผลลิ้นจี่

ตารางที่ 3 ร้อยละการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราบนอาหาร PDA ผสมสารสกัดว่านน้ำที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ และสารยับยั้งเชื้อราคาร์เบนดาซิม

สายพันธุ์เชื้อรา	[1] ร้อยละการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน บนอาหาร PDA ที่ผสม			
	สารสกัดว่านน้ำที่ระดับความเข้มข้น			คาร์เบนดาซิม
	10,000 ppm	20,000 ppm	30,000 ppm	1,000 ppm
Colletotrichum sp.	72.95±2.34	87.50±0.29	86.78±0.48	7.71±4.07
Curvularia sp.	88.07±0.30	88.48±0.16	87.94±0.08	18.14±3.03
Fusarium solani	83.37±1.21	86.28±0.92	88.00±0.34	88.10±0.00
Lasiodiplodia sp.	85.42±0.78	88.81±0.45	89.19±0.16	88.89±0.00
Pestalotiopsis sp.	88.96±0.27	88.96±0.32	88.54±0.32	88.89±0.00
Phoma sp.	68.32±1.92	78.49±0.25	78.77±0.70	78.53±0.00
MK1 (*Diaporthe phaseolorum*)	88.87±0.08	89.25±0.08	89.30±0.14	88.90±0.19
MK 2 (*Lasiodiplodia pseudotheobromae*)	85.93±0.23	87.47±0.61	89.01±0.23	88.73±0.09

ตารางที่ 3 (ต่อ) ร้อยละการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราบนอาหาร PDA ผสมสารสกัดว่านน้ำที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ และสารยับยั้งเชื้อราคาร์เบนดาซิม

สายพันธุ์เชื้อรา	[1] ร้อยละการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน บนอาหาร PDA ที่ผสม			
	สารสกัดว่านน้ำที่ระดับความเข้มข้น			คาร์เบนดาซิม
	10,000 ppm	20,000 ppm	30,000 ppm	1,000 ppm
MK 6 (*Cochliobolus geniculatus*) (*Curvularia geniculata*)	84.54±0.13	83.95±0.60	85.67±0.12	47.34±6.30
MK 7 (*Fusarium* sp.)	73.36±0.59	75.84±0.32	75.84±0.56	77.00±0.40
MK 8 (*Setosphaeria rostrata*)	85.18±0.05	86.32±0.16	86.67±0.24	15.34±1.37
MK 9 (*Pestalotiopsis virgatula*)	87.26±0.34	87.25±0.08	87.42±0.39	88.52±0.06
MK 11 (*Lasiodiplodia pseudotheobromae*)	85.74±0.27	88.02±0.58	88.96±0.32	89.15±0.10
MK 12 (*Nigrospora oryzae*)	89.31±0.04	89.02±0.04	89.07±0.32	89.04±0.27
MK 13 (*Lasiodiplodia pseudotheobromae*)	86.20±0.56	87.89±0.33	88.93±0.22	89.15±0.15
MH 2 (*Colletotrichum gloeosporioides*)	88.10±0.22	88.24±0.25	88.69±0.18	86.67±0.61
MH 5 (*Alternaria alternata*)	65.32±2.15	67.31±0.44	69.39±0.37	5.50±3.04
MH 6 (*Fusarium solani*)	71.97±0.36	71.08±1.01	75.82±0.61	77.84±0.33
MH 7 (*Nigrospora* sp.)	89.40±0.09	89.15±0.17	89.36±0.04	88.88±0.06
MH 8 (*Aspergillus carbonarius*)	87.15±0.27	87.31±0.28	87.82±0.13	88.72±0.23
MH 13 (*Phoma* sp.)	83.96±0.57	84.35±0.22	84.01±0.16	84.35±0.16
ร้อยละการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา	82.83±0.61	84.81±0.36	85.49±0.29	70.26±0.97

[1]ค่าเฉลี่ยของการทดลอง 4 ซ้ำในแต่ละความเข้มข้น

4. การทดสอบประสิทธิภาพสารสกัดว่านน้ำในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราก่อโรคผลเน่าบนผลลิ้นจี่

สารสกัดว่านน้ำ ที่ระดับความเข้มข้น 10,000, และ 20,000 ppm สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราบนผลลิ้นจี่ได้จำนวน 15 สายพันธุ์ เป็นเชื้อราสายพันธุ์อ้างอิงจำนวน 5 สายพันธุ์ และเชื้อราที่แยกได้จากเปลือกผลลิ้นจี่จำนวน 10 สายพันธุ์ ทั้งนี้ สารสกัดว่านน้ำที่ระดับความเข้มข้น 10,000 และ 20,000 ppm สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ในระดับใกล้เคียงกัน ในขณะที่คาร์เบนดาซิมที่ระดับความเข้มข้น 1,000 ppm มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราทุกสายพันธุ์ โดยพบการเจริญของเส้นใยเชื้อราน้อยกว่าหรือเท่ากับครึ่งผล (ตารางที่ 4) สาเหตุที่สารสกัดยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราบนอาหาร PDA ได้ดีกว่าการยับยั้งการเจริญของเชื้อราบนผลลิ้นจี่ อาจเกิดจากสารสกัดมีการออกฤทธิ์แบบสัมผัส จึงยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราบริเวณที่สัมผัสโดยตรง การทดสอบในจานเพาะเชื้อจึงได้ผลดี ในขณะที่การทดสอบบนผลลิ้นจี่ มีปัจจัยที่ไม่สามารถควบคุมได้ กล่าวคือ ผลลิ้นจี่ที่นำมาทดลองเก็บเกี่ยวช่วงปลายฤดู ซึ่งพบการเข้าทำลายของหนอน

บริเวณขั้วผลทำให้เกิดการปนเปื้อนของเชื้อราแฝงในผลลิ้นจี่ เมื่อสภาวะเหมาะสมทำให้เชื้อราเจริญได้ สารสกัดที่พ่นเคลือบเฉพาะบริเวณเปลือกผิว จึงไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราที่อยู่ในผลได้ ส่วนสารยับยั้งเชื้อราคาร์เบนดาซิม ซึ่งเป็นสารป้องกันกำจัดเชื้อราชนิดดูดซึม (systemic fungicide) จึงถูกดูดซึมเข้าไปในเนื้อเยื่อพืช และสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราก่อโรคผลเน่าได้ (16) ในขณะที่สารสกัดว่านน้ำออกฤทธิ์แบบสัมผัส การใช้สารสกัดว่านน้ำจะช่วยลดการเกิดโรคที่เกิดจากเชื้อราบางชนิดได้ แม้ว่าไม่สามารถลดการเกิดโรคได้ทั้งหมด จากงานวิจัยของ Rattanakreetakul และคณะ (2003) ได้ทดสอบประสิทธิภาพสารสกัดเอทานอลของว่านน้ำที่ระดับความเข้มข้น 2,500 ppm ในการควบคุมเชื้อราโรคแอนแทรคโนสมะม่วง โดยการจุ่มเคลือบผิว พบว่าเมื่อทดสอบกับผลมะม่วงที่ออกผลในฤดูกาลที่การระบาดของโรคไม่รุนแรงมาก สารสกัดจากว่านน้ำสามารถใช้ควบคุมการระบาดของโรคผลเน่าได้ แต่เมื่อทดสอบกับผลมะม่วงที่ออกผลนอกฤดูกาล สารสกัดจะไม่สามารถควบคุมการเกิดโรคได้ เมื่อเทียบกับการใช้สารเคมี (17)

ตารางที่ 4 การยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราก่อโรคผลเน่าที่ปลูกบนผลลิ้นจี่ที่พ่นด้วยสารสกัดว่านน้ำที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ และสารยับยั้งเชื้อราคาร์เบนดาซิม

สายพันธุ์เชื้อรา	[2]การเจริญของเส้นใยเชื้อราบนผลลิ้นจี่ที่พ่นด้วย		
	สารสกัดว่านน้ำที่ระดับความเข้มข้น		คาร์เบนดาซิม
	10,000 ppm	20,000 ppm	1,000 ppm
Colletotrichum sp.	++	+	+
Curvularia sp.	+	++	+
Fusarium solani	+	++	+
Lasiodiplodia sp.	+++	++	-
Pestalotiopsis sp.	++	+	+
Phoma sp.	++	++	+
MK1 (*Diaporthe phaseolorum*)	++	+	+
MK 2 (*Lasiodiplodia pseudotheobromae*)	+++	+++	-
MK 6 (*Cochliobolus geniculatus*) (*Curvularia geniculata*)	+	+	+
MK 7 (*Fusarium* sp.)	++	+	+
MK 8 (*Setosphaeria rostrata*)	+++	+++	++
MK 9 (*Pestalotiopsis virgatula*)	+	++	+
MK 11 (*Lasiodiplodia pseudotheobromae*)	+++	+++	+
MK 12 (*Nigrospora oryzae*)	+	+	-
MK 13 (*Lasiodiplodia pseudotheobromae*)	+++	+++	++

ตารางที่ 4 (ต่อ) การยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราก่อโรคผลเน่าที่ปลูกบนผลลิ้นจี่ที่พ่นด้วยสารสกัดว่านน้ำที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ และสารยับยั้งเชื้อราคาร์เบนดาซิม

สายพันธุ์เชื้อรา	[2]การเจริญของเส้นใยเชื้อราบนผลลิ้นจี่ที่พ่นด้วย		
	สารสกัดว่านน้ำที่ระดับความเข้มข้น		คาร์เบนดาซิม
	10,000 ppm	20,000 ppm	1,000 ppm
MH 2 (*Colletotrichum gloeosporioides*)	++	++	+
MH 5 (*Alternaria alternata*)	++	++	++
MH 6 (*Fusarium solani*)	++	++	++
MH 7 (*Nigrospora* sp.)	++	++	++
MH 8 (*Aspergillus carbonarius*)	+++	+++	++
MH 13 (*Phoma* sp.)	++	++	++

[2] - ไม่พบการเจริญของเชื้อรา, + พบการเจริญของเส้นใยเชื้อราน้อยกว่าครึ่งผล, ++ พบการเจริญของเส้นใยเชื้อราเท่ากับครึ่งผล, +++ พบการเจริญของเส้นใยเชื้อราครอบคลุมทั่วทั้งผล

4. สรุป (Conclusion)

การใช้สารสกัดจากพืชสมุนไพรในการควบคุมโรคผลไม้หลังการเก็บเกี่ยว เป็นทางเลือกหนึ่งที่น่าสนใจ เนื่องจากเป็นวิธีการที่ปลอดภัยต่อสุขภาพ มากกว่าการใช้สารเคมี ในงานวิจัยนี้ ได้ศึกษาประสิทธิภาพสารสกัดว่านน้ำในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราก่อโรคผลเน่าในลิ้นจี่จำนวน 21 สายพันธุ์ เป็นเชื้อราสายพันธุ์อ้างอิงจำนวน 6 สายพันธุ์ และคัดแยกจากเปลือกผลลิ้นจี่จำนวน 15 สายพันธุ์ การทดสอบได้ดำเนินการใน 2 รูปแบบ ได้แก่ การทดสอบบนจานเพาะเชื้อ และการทดสอบบนผลลิ้นจี่ ผลการทดสอบในจานเพาะเชื้อโดยผสมสารสกัดในอาหาร PDA พบว่าสารสกัดที่ระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 10,000 ppm เป็นต้นไป สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ทั้ง 21 สายพันธุ์ ส่วนในการทดสอบบนผลลิ้นจี่ พบว่าสารสกัดว่านน้ำความเข้มข้น 20,000 — 30,000 ppm สามารถชะลอการเจริญของเชื้อราได้ 15 สายพันธุ์ ดังนั้น จึงมีความเป็นได้ในการประยุกต์ใช้สารสกัดว่านน้ำร่วมกับวิธีการอื่นๆ เช่น การจุ่มในน้ำร้อน หรือการเคลือบผิว เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการป้องกันการเน่าเสียและยืดอายุการเก็บรักษาได้ดียิ่งขึ้นและมีความปลอดภัยสูงกว่าการใช้สารเคมีสังเคราะห์ อย่างไรก็ตาม ควรมีความระมัดระวังในการใช้ เนื่องจากมีรายงานว่าสารเบตา-อาซาโรน ในว่านน้ำเป็นสารก่อมะเร็งและมีพิษต่อตับได้ (5)

5. กิตติกรรมประกาศ (Acknowledgement)

ขอบคุณกรมวิทยาศาสตร์บริการ ที่ให้การสนับสนุนงบประมาณในการดำเนินการวิจัย ขอบคุณสำนักเทคโนโลยีชุมชนที่เอื้อเฟื้อสถานที่ ขอบคุณ นางสุบงกช ทรัพย์แตง ที่ให้ความร่วมมือในการตรวจความถูกต้องของเอกสาร

6. เอกสารอ้างอิง (References)

(1) นิพนธ์ วิสารทานนท์. โรคไม้ผลเขตกึ่งร้อน โรคทับทิม น้อยหน่า ลำไย ลิ้นจี่ ส้ม องุ่น และอะโวกาโด. กรุงเทพมหานคร: ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2542.

(2) รัมม์พัน โกศลานันท์, บุญญวดี จิระวุฒิ และอารีรัตน์ การุณสถิตชัย. การใช้สารธรรมชาติเพื่อควบคุมโรคและยืดอายุการเก็บรักษาลิ้นจี่. กรุงเทพมหานคร: สำนักวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร, 2549.

(3) JIANG, Y., et al. Postharvest biology and technology of litchi fruit. Food, Agriculture and Environment, 2003, 1(2), 76-81.

(4) SIGMA-ALDRICH. Carbendazim. Material Safety Data Sheet (Onlinel). 2013. (viewed 16 April 2014). Available from: http://www.rayfull.com/UploadFiles/PDF/2013681451543.pdf

(5) สำนักงานข้อมูลยาสมุนไพร คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี. ว่านน้ำ (ออนไลน์). 2553. เข้าถึงจาก: http://www.thaicrudedrug.com/main.php?action=viewpage&pid=124

(6) MUNGKORNASAWAKUL, P., et al. Inhibitory effect of Acorus calamus L. extract on some plant pathogenic molds. International Conference on Medicinal and Aromatic Plants Possibilities and Limitations of Medicinal and Aromatic Plant Production in the 21st century. Budapest: International Society for Horticultural Science, 2002, pp. 341-345.

(7) AGRIOS, G.N. Plant pathology. 4th Ed. San Diego : Academic press, 1997.

(8) WHITE, T. J., et al. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. PCR protocols. USA : Academic Press, 1990, pp 315-322.

(9) TASKEEN, Un-Nisa., et al. "In vitro inhibitory effect of fungicides and botanicals on mycelial growth and spore germination of Fusarium oxysporum." Journal of Biopesticides, 2011, 4(1), 53-56.

(10) KMETZ, K. T., A. F. SCHMITTHENNER., and C. W. ELLETT. Soybean seed decay: Prevalence of infection and symptom expression caused by Phomopsis sp., Diaporthe phaseolorum var. sojae, and D. phaseolorum var. caulivora." Phytopathology, 1978, 68(6), 836-840.

(11) EHTESHAMUL-HAQUE, S., and A. GHAFFAR. New records of root infecting fungi from Pakistan. Pakistan Journal of Phytopathology,1994, 6(1), 50-57.

(12) ผ่องเพ็ญ จิตอารีย์รัตน์, เฉลิมชัย วงษ์อารี และ ธิติมา วงษ์ชีรี. ประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืชบางชนิดร่วมกับสารเคลือบผิวที่มีต่อโรคแอนแทรคโนสและขั้วผลเน่าของมะม่วงระหว่างการเก็บรักษา. วารสารวิจัยและพัฒนา มจธ., 2542, 22(3), 77-92.

(13) PHONGPAICHIT, S., et al. Antimicrobial activities of the crude methanol extract of Acorus calamus Linn. Songklanakarin Journal of Science and Technology, 2005, 27(2), 517-523.

(14) พรประพา คงตระกูล และ สรัญยา ณ ลำปาง. ลักษณะของเชื้อรา Colletotrichum gloeosporioides ที่ต้านทานสารคาร์เบนดาซิม. วารสารเกษตร, 2553, 26(3), 203-212.

(15) ณัฐพงษ์ นวลดี และคนอื่นๆ. ลักษณะของเชื้อรา Cercospora ที่ต้านทานสารคาร์เบนดาซิม สาเหตุโรคใบจุดของผักกาดหอมในจังหวัดเชียงใหม่. วารสารวิจัย มข. , 255 3, 15(11), 1053-1060.

(16) SARIAH, M. Detection of benomyl resistance in the anthracnose pathogen, Colletotrichum capsici. Islamic Academy of Sciences, 1989, 2(3),168-171.

(17) RATTANAKREETAKUL, C., et al. Efficacy test on dipping substances to control anthracnose disease on mango cv: Chok-Anan. Proceedings of 41st Kasetsart University Annual Conference. 2003. 3-7 February; Bangkok : Kasetsart University. pp. 371-378.