มูลนิธิโครงการหลวง

รายงานฉบับสมบูรณ์ตามโครงการวิจัยรหัสที่ 3060-0068

งบประมาณ ปี 2543-2544

การใช้สารสกัดพืชสมุนไพรในการควบคุมโรคใบจุดใบไหม้ของสตรอเบอรี่

Using Crude Extract of Medicinal Plants for Control of Leaf Spot and Leaf Blight of Strawberry

หัวหน้าโครงการวิจัย

ร.ศ. ดร. นุชนารถ จงเลขา

ผู้ร่วมโครงการวิจัย

นางสาวสุคนธ์ทิพย์ สมบัติ

นางสาวรัติกาล ธัญหล้า

ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

มีนาคม 2546

บทคัดย่อ

การนำใบสตรอเบอรี่ที่แสดงอาการของโรคใบจุดตานกและอาการใบไหม้จากแปลงปลูกของเกษตรกรในเขตจังหวัดเชียงใหม่ มาแยกเชื้อราสาเหตุ พบว่าโรคใบจุดตานกเกิดจากเชื้อรา *Ramularia tulasnei* ซึ่งมีการเจริญเติบโตช้ามากและไม่สร้างสปอร์บนอาหาร PDA ที่เลี้ยงในสภาพอุณหภูมิห้อง เชื้อรามีการสร้างสปอร์จำนวนมาก เมื่อนำไปเลี้ยงในสภาพมืดที่อุณหภูมิ 18 ± 2 ^{0}C เป็นเวลา 1 สัปดาห์ โดยวิธี Spread Plate ส่วนอาการใบไหม้โฟมอพซิสเกิดจากเชื้อรา *Phomopsis obscurans* พบว่าเจริญได้ดีบนอาหาร PDA และสร้างโครงสร้าง pycnidia จำนวนมาก เมื่ออายุ 14 วัน

การทดสอบประสิทธิภาพเบื้องต้นของสารสกัดด้วยน้ำจากพืชสมุนไพร 5 ชนิดได้แก่ สาบหมา เทียนบ้าน ช้าพลู ทองพันชั่ง และพลูคาวในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคใบไหม้โฟมอพซิส โดยวิธี Culture Disc พบว่าสารสกัดเทียนบ้านและสาบหมาที่ความเข้มข้น 30% ยับยั้งได้ 100% และสารสกัดด้วยเมธานอลจากสาบหมาและทองพันชั่งที่ความเข้มข้น 10,000 ppm ให้ผลยับยั้งการเจริญได้ 83.30 และ 81.57% ตามลำดับ เมื่อทดสอบเชื้อรา *R. tulasnei* พบว่าสารสกัดช้าพลูและทองพันชั่งได้ 100% เมื่อทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากสาบหมาที่ความเข้มข้น 10,000 ppm เทียบสารกำจัดราเบนเลท และแอนทราโคล ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *P. obscurans* พบว่าแอนทราโคลให้ผลยับยั้งการเจริญดีที่สุด (99.60%) และสารสกัดผสมกับสารกำจัดราทั้ง 2 ชนิด ให้ผลยับยั้งการเจริญดีกว่าใช้สารสกัดเพียงอย่างเดียว สารสกัดสาบหมาด้วยอะซิโตน เฮกเซน และเมธานอล ที่ความเข้มข้น 3 ระดับให้ผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *P. obscurans* ได้ 100% แต่สารสกัดด้วยเมธานอลที่ความเข้มข้น 1,000 ppm ยับยั้งได้ เพียง 75.5%

การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดด้วยน้ำจากพืช 4 ชนิด(ความเข้มข้น 30%) และสารกำจัดราแอนทราโคลในการควบคุมโรคใบไหม้โฟมอพซิสโดยวิธี Detached Leaf Technique พบว่าทองพันชั่งให้ผลดีที่สุด โดยมีพื้นที่ใบที่เป็นโรคต่อต้น 6.67% รองลงมาคือสารสกัดเทียนบ้านด้วยน้ำ และสารสกัดด้วยเมธานอลจากสาบหมาและทองพันชั่ง(10,000 ppm) มีพื้นที่ใบที่เป็นโรคต่อต้น10% อย่างไรก็ดีไม่ปรากฏอาการของโรคกับสตรอเบอรี่ที่ฉีดพ่นด้วยแอนทราโคล ส่วนสารสกัดด้วยน้ำจากสาบหมา, ช้าพลู และสารสกัดเมธานอลจากช้าพลูไม่มีผลในการควบคุมโรคใบไหม้โฟมอพซิสของสตรอเบอรี่ เมื่อนำสารสกัดเมธานอลจากสาบหมาผสมกับเบนเลทและแอนทราโคล มาเปรียบเทียบกับเบนเลท, แอนทราโคล และสารสกัดอย่างใดอย่างหนึ่งในการควบคุมโรคใบไหม้โฟมอพซิส โดยวิธีที่กล่าวมาแล้ว การพ่นด้วยสารสกัดสาบหมาเพียงอย่างเดียวและที่ผสมกับสารกำจัดราเบนเลทให้ผลยับยั้งโรคดีกว่าการพ่นเบนเลทและแอนทราโคลเพียงอย่างเดียว เมื่อเทียบกับชุดควบคุม

การเปรียบเทียบประสิทธิภาพของการใช้สารสกัดด้วยอะซิโตนจากสาบหมา(EUP I) ผสมเบนเลทและที่ผสมกับแอนทราโคล เปรียบเทียบกับการใช้เบนเลท, แอนทราโคลและสารสกัดอย่างใดอย่างหนึ่ง สำหรับควบคุมโรคใบจุดตานกและโรคใบไหม้โฟมอพซิสในแปลงปลูกสตรอเบอรี่ (เกิดโรคตามธรรมชาติ) ผลปรากฏว่าการพ่น EUP I ผสมกับเบนเลทให้ผลดีในการควบคุมโรคทั้งสองได้ใกล้เคียงกับการใช้เบนเลทพ่นสลับกับแอนทราโคล ซึ่งแตกต่างทางสถิติจากชุดควบคุม การใช้สารสกัดสาบหมาผสมกับสารกำจัดรา (เบนเลทหรือแอนทราโคล) ให้ประสิทธิภาพดีกว่าใช้สารสกัดเพียงอย่างเดียว

โครงการหลวง

Abstract

Strawberry leaves with bird-eye spot and blight symptoms were brought from the farmers' fields located in Chiang Mai province. The leaves were isolated for causal organism. The bird-eye spot is caused by the fungus *Ramularia tulasnei*. This fungus grew very slowly and no spore was produced on PDA at room temperature. When the culture (using Spread Plate Technique) was placed under dark condition at 18± 2 ^{0}C for 1 week numerous spore production was found. The leaves with blight symptom caused by *Phomopsis obscurans* grew well on PDA and produced plenty of pycnidia at 14 days of age.

Preliminary efficacy test of 5 medicinal plants i.e. Saap Maa, Tian Ban, Chaplu, Tongpanchang and Plu Kau on growth inhibition of Phomopsis, causing leaf blight, using Culture Disc Technique, showed that Tian Ban and Saap Maa extracts at 30% concentration gave 100% inhibition. Methanol extracts of Saap Maa and Tongpanchang at 10,000 ppm gave best inhibition at 83.30% and 81.57% respectively. When testing on *R. tulasnei*, the extracts from Cha Plu and Tongpanchang gave 100% inhibition. Crude extract of Saap Maa at 10,000 ppm, Benlate, and Antracol, were tested on inhibiting growth of *P. obscurans*. It was found that Antracol gave best result at 99.60% and the mixture of the Saap Maa extract with Benlate or with Antracol gave better results than using the extract alone. Saap Maa extracted with acetone, hexane and methanol at 3 concentrations showed 100% inhibition to growth of *P. obscurans* but methanol extract at 1,000 ppm could give only 75.5% inhibition.

A test on efficacy of water extract from the four plants for control of Phomopsis leaf blight using Detached Leaf Technique. It was found that water extract of Tongpanchang showed best result, giving only 6.67% of infected leaf area/plant compared to other extracts followed by water extracts of Tian Ban, methanol extracts of Saap Maa and Tongpanchang which equally shown 10% of infected leaf area/plant. However, no symptom was found on the strawberry leaves sprayed with the fungicide Antracol. Water extract of Saap Maa, Cha Plu and methanol extract of Cha Plu showed no effect on Phomopsis leaf blight of strawberry. With the method mentioned, the treatment on using Saap Maa extract alone and that mixed with Benlate showed better inhibition than spraying with Benlate or Antracol alone when compared with the control treatment.

The acetone extract of Saap Maa (EUP I) mixed with Benlate and that mixed with Antracol was compared on efficacy with Benlate, Antracol or the extract alone for control of the

bird-eye spot and Phomopsis leaf blight diseases in the strawberry planting area (natural infection). It was found that spraying EUP I mixed with Benlate could control both diseases as well as spraying Benlate in alternate with Antracol, statistically different from the control treatment. Using the extract mixed with the fungicide (Benlate or Antracol) gave better control than using the extract alone.

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ค
สารบัญ	จ
สารบัญตาราง	ฉ
สารบัญภาพ	ช
บทนำ	1
ตรวจเอกสาร	3
อุปกรณ์และวิธีการทดลอง	7
ผลการทดลอง	15
สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง	29
เอกสารอ้างอิง	32
ภาคผนวก	34

โครงการหลวง

สารบัญตาราง

ตาราง		หน้า
1	ประสิทธิภาพของสารสกัดด้วยน้ำจากพืชสมุนไพร 5 ชนิด ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคใบไหม้โฟมอพซิส	17
2	ประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากพืชสมุนไพร 4 ชนิดที่ความเข้มข้น 10,000 ppm ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุใบไหม้โฟมอพซิสของสตรอเบอรี่	18
3	ประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากพืชสมุนไพร 4 ชนิดที่ความเข้มข้น 10,000 ppm ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุใบจุดตานกของสตรอเบอรี่	19
4	เปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารสกัดจากสาบหมาและสารกำจัดราใน การยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Phomopsis obscurans* ที่ระยะเวลา 7 วัน	20
5	เปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารสกัดจากสาบหมาด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด ในการยับยั้งการเจริญ ของเชื้อรา *Phomopsis obscurans* ที่ระยะเวลา 7 วัน	22
6	ประสิทธิภาพของสารสกัดด้วยน้ำและเมธานอลจากพืช 4 ชนิดในการควบคุม โรคใบไหม้โฟมอพซิสของสตรอเบอรี่หลังจากปลูกเชื้อ 7 วัน	24
7	ประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากสาบหมา และสารกำจัดราในการควบคุม โรคใบไหม้โฟมอพซิสของสตรอเบอรี่หลังจากปลูกเชื้อ 7 วัน	25
8	เปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารสกัด และสารเคมีในการควบคุมโรค ใบจุดตานกและใบไหม้โฟมอพซิสที่เกิดขึ้นโดยธรรมชาติ วัดผลเป็นเปอร์เซ็นต์ ใบที่เป็นโรคต่อต้น	26
9	เปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารสกัด และสารเคมีในการควบคุมโรค ใบจุดตานก และใบไหม้โฟมอพซิสที่เกิดขึ้นโดยธรรมชาติ วัดผลเป็นเปอร์เซ็นต์ดัชนีการทำลาย	27

Cercospora apii (โรคใบจุดเซเลอรี่), *Alterrnaria solani* (โรคใบไหม้ของมะเขือเทศ), *A. porri* (โรคใบจุดสีม่วงของหอมญี่ปุ่น), *A. brassicicola* (โรคใบจุดของกะหล่ำปลี)และ *Colletotrichum capsici* (โรคแอนแทรคโนสของพริก) และปีต่อมานุชนารถและคณะ (2543) ได้รายงานผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืชสมุนไพรกับเชื้อราสาเหตุโรคไม้ตัดดอกบางชนิด ไว้ว่าสารสกัดสาบหมา ทองพันชั่ง ช้าพลู และเทียนบ้าน ให้ผลดีในการยับยั้งเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides*(โรคแอนแทรคโนสของสแตติส), *Botrytis cineria* (โรคราสีเทาของกุหลาบ), *Corynespora cassiicola* และ *Alternaria tenuissima, Cercospora sp. Glomerella cingulata* (โรคใบจุดของเบญจมาศ) เช่นกัน

จากผลงานวิจัยที่ผ่านมาทำให้ทราบว่าสารสกัดจากพืชหลายชนิดมีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคพืช ดังนั้นการศึกษาครั้งนี้จึงมุ่งที่จะนำเอาสารสกัดของพืชสมุนไพรมาใช้ในการควบคุมโรคทางใบของสตรอเบอรี่ โดยเน้นการใช้พืชสมุนไพร ตลอดจนวัชพืชที่มีในท้องถิ่น และ/หรือที่ปลูกได้ง่าย ขยายพันธุ์เร็ว นำมาสกัดด้วยน้ำ ด้วยวิธีง่ายๆ สามารถทำได้เอง และการใช้แอลกอออล์สกัดเพื่อให้ได้สารในปริมาณที่มากขึ้นและอาจจะได้ชนิดที่ต่างกันออกไป ทั้งนี้เพื่อต้องการนำผลวิจัยที่ได้ไปใช้เผยแพร่ให้เกษตรกรใช้ต่อไป

โครงการหลวง

ตรวจเอกสาร

สตรอเบอรี่ เป็นพืชที่อยู่ใน Order Rosales Family Rosaceae มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Fragaria fragariae* จัดเป็นพืชที่เจริญเติบโตได้ดีในสภาพอากาศที่หนาวเย็น ในอดีตสตรอเบอรี่ถูกนำมาส่งเสริมให้กับชาวเขาปลูกเพื่อทดแทนการปลูกฝิ่น และแก้ปัญหาการทำไร่เลื่อนลอยบนที่สูง ปัจจุบันมีการปลูกมากในภาคเหนือ และภาคตะวันออกเฉียงเหนือบางส่วน โดยมีแหล่งผลิตที่สำคัญอยู่ในจังหวัดเชียงใหม่ และเชียงราย สามารถทำรายให้กับเกษตรกรผู้ปลูกอย่างดียิ่ง ในพื้นที่ 1 ไร่จะให้ผลตอบแทนประมาณ 2,500-3,000 กิโลกรัม โดยทั่วไปเกษตรกรจะปลูกต้นไหลตั้งแต่ต้นเดือนกันยายนถึงปลายตุลาคม และสามารถเก็บผลผลิตได้ตั้งแต่กลางเดือนพฤศจิกายนถึงเดือนเมษายน ซึ่งผลิตผลร้อยละ 80 ถูกนำไปแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ต่างๆ ได้แก่น้ำสตรอเบอรี่เข้มข้น น้ำสตรอเบอรี่พร้อมดื่ม สตรอเบอรี่อบแห้ง สตรอเบอรี่แช่แข็ง แยม หรือไวน์สตรอเบอรี่ นอกจากนี้ยังนำมาสกัดเอาสีและกลิ่นเพื่อใช้ประโยชน์ในการปรุงแต่งรสชาติ กลิ่น และสีของอาหาร และใช้ในอุตสาหกรรมเครื่องสำอางค์เป็นที่นิยมกันแพร่หลายในรูปของสบู่ ครีมบำรุงผิว และยาสีฟัน เป็นต้น ส่วนอีกร้อยละ 20 เป็นการผลิตเพื่อป้อนตลาดสำหรับบริโภคสด เนื่องจากเป็นพืชที่อุดมไปด้วยวิตามินซีและธาตุเหล็ก ผลมีสีแดงเข้ม รสเปรี้ยวอมหวาน และมีกลิ่นหอม (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2541)

การปลูกสตรอเบอรี่มักประสบปัญหาเรื่องโรคและแมลงศัตรูพืชหลายชนิด โดยเฉพาะโรคที่เกิดจากเชื้อรา ซึ่งสามารถทำลายได้ทุกส่วนตั้งแต่ ลำต้น ใบ ดอก ผล และราก โรคทางราก เช่นโรครากเน่าโคนเน่า ที่เกิดจากเชื้อรา *Rhizoctonia* spp. โรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium* sp. โรคแอนแทรคโนสที่เกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum* spp. ส่วนโรคทางใบที่ที่มีการแพร่ระบาดเป็นประจำในพื้นที่ปลูกสตรอเบอรี่ได้แก่ โรคใบจุดตานก โรคใบไหม้โฟมอพซิส เป็นต้น

โรคใบจุดตานก (Bird's eye leaf spot)

โรคใบจุดตานก เกิดจากเชื้อรา *Ramularia tulasnei* Sacc. (telemorph : *Mycosphaerella fragariae* (Tul.) Lindaee มีรายงานว่าเป็นโรคที่สำคัญมากโรคหนึ่งในถิ่นต่างๆ ทั่วโลก ซึ่งเกิดกับสตรอเบอรี่ทั้งพันธุ์ป่าและ พันธุ์ปลูก (Maas, 1998)

ลักษณะอาการของโรคใบจุดตานก อาการที่ปรากฏบนใบในระยะแรกมีลักษณะเป็นจุดกลมขนาดเล็ก สีม่วง ต่อมาแผลขยายใหญ่ขึ้น บริเวณกลางแผลมีสีน้ำตาล ต่อมาจะเปลี่ยนเป็นสีเทา ขอบแผลมีสีม่วงแดง หรือน้ำตาลเข้ม ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของแผล 3-6 มิลลิเมตร หากอาการรุนแรงเกิดจุดจำนวนมากและแผลรวมกัน ทำให้เกิดอาการใบไหม้ และแห้งตายในที่สุด (Maas, 1998) โดยส่วน

ใหญ่การแพร่ระบาดของโรคนี้เกิดขึ้นเมื่ออากาศในช่วงกลางวันอบอุ่น และกลางคืนหนาว หรืออากาศอบอุ่นตลอดทั้งวัน และช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเจริญของเชื้อ คือ 65-75 ^{0}F (Nemec, 1972)

ลักษณะเชื้อราสาเหตุ *Ramularia tulasnei* Sacc. ราชนิดนี้มักพบสปอร์ที่อยู่ในระยะไม่ผสมพันธุ์ (imperfect stage) โดยสร้างสปอร์ขยายพันธุ์ (asexual spore) เรียกว่า conidium (pl. conidia) รูปไข่หรือทรงกระบอก ไม่มีสี มีผนังกั้น 1-4 อัน มีขนาด 20-40 x 3-5 ไมครอน ซึ่งเกิดบนก้านที่เรียกว่า conidiophore ไม่มีสี ลักษณะโค้งงอและมีรอยที่เกิดจากการหลุดร่วงของสปอร์ (scar) ส่วนระยะที่ผสมพันธุ์ (perfect stage) มีชื่อว่า *Mycosphaerella fragariae* (Tul.) Lindau ซึ่งมีโครงสร้างสืบพันธุ์ที่เรียกว่า perithecium ซึ่งมีรูปร่างคล้ายคณโฑ ลักษณะกลมสีดำ มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง โดยเฉลี่ย 100-150 ไมครอน perithecium มีการสร้าง ascus(pl. asci) ซึ่งภายในมี ascospore จำนวน 8 อัน ขนาดประมาณ 12-15 x 3-4 ไมครอน ไม่มีสี มี 2 เซลล์ (Maas, 1998) ส่วนการสร้างสปอร์ของเชื้อราชนิดนี้บนอาหารเลี้ยงเชื้อ (Czapek Dox Agar) พบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมอยู่ในช่วง 18-24 ^{0}C และมีอัตราการงอกของสปอร์สูงขึ้นในช่วงอุณหภูมิ 5-20 ^{0}C และลดลงถึงศูนย์เมื่ออุณหภูมิเข้าใกล้ 35 ^{0}C บนอาหาร Water Agar (Elliott, 1985)

โรคใบไหม้โฟมอพซีส (Phomopsis Leaf Blight)

โรคใบไหม้โฟมอพซีส เกิดจากเชื้อรา *Phomopsis obscurans* (Ellis & Everh) มีรายงานครั้งแรกในปี 1984 เชื้อราสาเหตุสามารถเข้าทำลายส่วนกลีบเลี้ยง (petioles) ผล(fruit trusses) และไหล (stolon) ทำความเสียหายต่อผลผลิตและเป็นอุปสรรคที่สำคัญในการปลูก สตรอเบอรี่ทางเขตตอนเหนือของรัฐ Carolina เนื่องจากเชื้อนี้สามารถมีชีวิตอยู่ข้ามฤดูปลูก

ลักษณะอาการของโรคใบไหม้โฟมอพซีส เริ่มจากแผลเป็นจุดกลมสีแดงจนถึงสีม่วง ต่อมาแผลพัฒนาขยายใหญ่ขึ้นกลายเป็นแผลรูปตัววี (V-shaped) ขอบแผลมีสีม่วงหรือสีเหลือง บริเวณกลางแผลมีสีน้ำตาล และพบโครงสร้างที่เรียกว่า pycnidium (pl. pycnidia) เป็นจุดสีดำจำนวนมากบริเวณกลางแผล หากเกิดอาการรุนแรงเชื้อสามารถเข้าทำลายได้ทุกส่วนตั้งแต่เส้นกลางใบ ก้านใบ กลีบเลี้ยง ไหล และผลได้ ซึ่งอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเกิดโรคอยู่ในช่วง 26-32 ^{0}C เมื่อศึกษาทำการปลูกเชื้อด้วยสปอร์แขวนลอย (spore suspension) พบว่าที่ความเข้มข้น 10^7 conidia / ml ทำให้พืชแสดงอาการเป็นโรคสูงสุด โดยจะเริ่มปรากฏอาการให้เห็นภายหลังปลูกเชื้อแล้วเป็นเวลา 72 ชั่วโมง (Eshenaur และคณะ, 1989)

ลักษณะเชื้อราสาเหตุ *Phomopsis obscurans* เชื้อรานี้สร้าง conidia จำนวนมากอยู่ใน pycnidia โดยฝังอยู่ในเนื้อเยื่อบริเวณผิวใบพืช รูปร่างกลม สีดำขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 140 – 210 ไมครอน มี

ช่องเปิด (ostiole) สั้นๆ โผล่พ้นผิวพืชออกมา conidiophore ใส มีความยาวได้ถึง 85 ไมครอน conidia เซลล์เดียวลักษณะบางใส รูปร่างทรงกระบอกสั้นหัวท้ายมน ขนาด 5.5-7.5x1.5-2 ไมครอน ภายใต้สภาพความชื้นที่เหมาะสม conidia จำนวนมากจะถูกปลดปล่อยออกมาจาก pycnidia เป็นสายคล้ายๆ วุ้นใส หรือเป็นกลุ่มของ conidia จำนวนมาก(mass of conidia) เป็นก้อนกลมๆ ส่วนลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ บนอาหาร PDA จะมีเส้นใยสีขาว บาง แผ่ขยายไปบนผิวหน้าอาหาร มี pycnidia กระจายอยู่บนโคโลนี โดยจะพบมากที่สุดบริเวณใกล้ๆ กับจุดที่ปลูกเชื้อ pycnidium มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 300 ไมครอน ซึ่งมีขนาดใหญ่กว่า pycnidium ที่เกิดขึ้นบนแผลธรรมชาติ

การป้องกันกำจัดโรคใบจุดใบไหม้ของสตรอเบอรี่ มีหลายวิธีได้แก่ การใช้พันธุ์ปลอดโรค และต้านทานโรค ใช้ต้นไหลที่แข็งแรงจากต้นพันธุ์ที่ปลอดโรคและต้านทานโรค การทำลายซากพืชทันทีหลังเก็บเกี่ยว และการใช้สารกำจัดศัตรูพืชในแปลงปลูก วรรณวิภา (2532) ได้ศึกษาถึงประสิทธิภาพของสารเคมีในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Ramularia tulasnei* บนอาหาร Strawberry Leaf Dextrose Agar ผสมสารเคมีแต่ละชนิด พบว่าสารกำจัดราประเภทสัมผัสได้แก่ Antracol Captan 50 WP และDithane M-45 เมื่อนำมาผสมกับสารประเภทดูดซึม ได้แก่ Derosal 60 และ Benlate 75 C ในอัตราส่วน 1: 1 ของอัตราที่ฉลากระบุ สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้อย่างสมบูรณ์ ส่วนการทดสอบสารเคมีในการควบคุมโรคในแปลงปลูก พบว่าสารกำจัดรา Benlate ผสมกับ Antracol ให้ผลดีที่สุด โดยสามารถลดความเสียจากโรคได้ดีเมื่อเทียบกับชุดควบคุม แต่การใช้สารเคมีอย่างต่อเนื่องก่อให้เกิดปัญหามากมาก ได้แก่ ปัญหาทางเศรษฐกิจทำให้ต้นทุนการผลิตสูง การต้านทานของเชื้อโรคต่อสารเคมี ปัญหาสุขภาพอนามัยของเกษตรกรผู้ใช้ รวมถึงปัญหาสารพิษตกค้างที่ปนเปื้อนไปกับผลผลิตทางการเกษตร ส่งผลกระทบต่อผู้บริโภค และปัญหาสารพิษตกค้างในสภาพแวดล้อม ซึ่งมีหลายประเทศในแถบยุโรป รวมทั้งประเทศไทย ได้เริ่มกำหนดนโยบายการลดปริมาณการใช้สารเคมี และพยายามหาวิธีการควบคุมโรคโดยไม่ใช้สารเคมี อาทิเช่นการใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคพืชทางชีวภาพ (Biological control) การใช้สารสกัดจากพืชสมุนไพรในการควบคุมโรค เป็นต้น

การใช้สารสกัดจากพืชสมุนไพรในการควบคุมโรคพืช

จากรายงานการวิจัยที่ผ่านมาจนถึงปัจจุบัน จะเห็นได้ว่ามีการทดลองนำพืชสมุนไพร พืชเครื่องเทศ พืชหอม และพืชอื่นๆ มาใช้ในการควบคุมโรคพืชและได้รับความสำเร็จในห้องปฏิบัติการ แต่การทดสอบสภาพไร่นามีรายงานค่อนข้างน้อย การทดสอบในห้องปฏิบัติการโดยใช้พืชในรูปแบบต่างๆ เช่น วิราภรณ์ (2535) ทดลองนำพืชสมุนไพร 10 ชนิด คือ กระเพรา จันทร์เทศ พลู เทียนขาว เทียน

ข้าวเปลือก เทียนแดง เทียนตาตั๊กแตน มะรุม สาระเหน่ และ โหระพา มาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อรา *Cuvularia lunata* สาเหตุโรคใบจุดของข้าวโพด โดยผสมผงพืชสมุนไพรในอาหาร PDA ในอัตราความเข้มข้นต่างๆ กัน พบว่าเทียนขาว และเทียนตาตั๊กแตนสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราชนิดนี้ได้ดีที่สุด ทุกระดับความเข้มข้น ในปี 2537 Samerchai และคณะ (1994) ได้ทดลองนำสารสกัดหยาบจากต้นกระดูกไก่ผสมสารป้องกันกำจัดโรคพืช Benlate และ Dithane M-45 เปรียบเทียบกับการใช้สารกำจัดราและสารสกัดจากต้นกระดูกไก่อย่างใดอย่างหนึ่งต่อเชื้อรา *Colletotrichum capsici* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของพริกในสภาพไร่นาพบว่า Benlate ให้ผลยับยั้งโรคได้ดีที่สุด ส่วนสารสกัดผสมกับสารป้องกำจัดโรคพืช ทั้ง 2 ชนิด ให้ประสิทธิภาพดีกว่าใช้สารสกัดเพียงอย่างเดียว ต่อมา รังษีและคณะ(2538) รายงานว่าสารสกัดจากเปลือกรากของหม่อน สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Macrophomina corchori* ได้ดีกว่าสารสกัดจากเปลือกลำต้น และสารสกัดจากเปลือกหม่อน 3 พันธุ์คือ พันธุ์น้อย คุณไพ และไผ่ สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Phytophthora palmivora* ได้ 100% ที่ความเข้มข้น 5,000 ppm ขจรศักดิ์ (2539) พบว่ากานพลู และว่านน้ำที่ระดับความเข้มข้น 10,000 ppm มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราสาเหตุโรคพืชคือ *Fusarium* sp., *Colletotrichum* sp., *Alternaria* sp., และ *Aspergillus* sp. รองลงมาได้แก่ โป๊ยกั๊ก ดีปลี สารภี หนอนตายหยาก ดองดึง และบัวบก ตามลำดับ นิตยาและคณะ (2540) ได้รายงานว่าน้ำคั้นจากกระเทียมอัตรา 175 กรัมต่อน้ำ 1 ลิตร ให้ผลในการควบคุมโรคหอมเลื้อยของหอมหัวใหญ่ในสภาพไร่ได้ดีที่สุด โดยเป็นโรค 7.64% และให้ผลผลิตสูงถึง 2,974.2 กิโลกรัมต่อไร่ นุชนารถและคณะ (2542) รายงานผลการใช้สารสกัดจากเทียนบ้านด้วยน้ำ ที่ความเข้มข้น 30% ให้ผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria brassicicola* ได้ 100% และจากทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดสาบหมาและพลูคาวทั้งสดและแห้ง พบว่าสารสกัดสาบหมาที่สกัดด้วย 50% methanol และสารสกัดพลูคาวด้วยเหล้าขาว 35 ดีกรี ที่ความเข้มข้น 20,000 ppm ให้ผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *A. brassicicola* ได้100% เช่นกัน (สุคนธ์ทิพย์, 2543) นอกจากนี้ยังมีผู้ทดลองนำน้ำมันหอมระเหยจากไพล กระชาย และตะไคร้ที่ได้จากการกลั่นด้วยน้ำร้อน ไปทดสอบการยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อรา *Alternaria porri* สาเหตุโรคใบจุดสีม่วงของหอมบนอาหาร PDA ที่ผสมน้ำมันหอมระเหย ในระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 0.05% ได้ผลดีที่สุดรองลงมาได้แก่ กระชาย และไพล ตามลำดับ

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การตรวจเชื้อและแยกเชื้อราสาเหตุ

นำใบสตรอเบอรี่ที่แสดงอาการใบจุดตานก และใบไหม้โฟมอพซิสจากแปลงปลูกของสถานีเกษตรหลวงอ่างขาง อ. ฝาง จังหวัดเชียงใหม่ มาศึกษาและบันทึกลักษณะอาการของโรค ทำการตรวจหาเชื้อสาเหตุด้วยวิธี Free Hand Section โดยการใช้ใบมีดที่คมและสะอาดตัดบริเวณแผลตามขวาง แล้วทำการ mount slide ด้วย lactophenol จากนั้นปิดด้วย cover glass แล้วนำไปตรวจหาเชื้อสาเหตุ และบันทึกภาพภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิด compound microscope ที่กำลังขยาย 400 เท่า จากนั้นทำการแยกเชื้อ (isolation) โดยตัดเนื้อเยื่อของใบบริเวณที่เป็นโรคต่อกับเนื้อเยื่อปกติ ให้มีขนาดประมาณ 5 x 5 มิลลิเมตร นำไปฆ่าเชื้อด้วย 10% Clorox (sodium hypochlorite) นาน 3 นาที แล้วนำไปวางบนอาหาร PDA (Potato Dextrose Agar) เลี้ยงเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้อง (เฉลี่ยกลางวัน 30 ^{0}C กลางคืน 25 ^{0}C) หลังจากเส้นใยของเชื้อราเจริญออกมาจากชิ้นพืชแล้ว ทำการแยกเชื้อราบบริสุทธิ์และทำการตรวจรูปร่างโคโลนีและสปอร์ของเชื้อราทั้ง 2 ชนิด และนำสปอร์ที่ได้มาทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรค (pathogenicity test) เก็บเชื้อราบนอาหาร PDA slant เพื่อเป็น stock culture ไว้ใช้สำหรับการศึกษาต่อไป

2. การทดสอบประสิทธิภาพเบื้องต้น

รวบรวมพืชที่มีคุณสมบัติเป็นสมุนไพร 5 ชนิด ซึ่งพบขึ้นอยู่ทั่วไปในเขตจังหวัดเชียงใหม่ ดังนี้

สาบหมา (*Eupatorium adenophorum* Spreng.) ส่วนเหนือดิน

ช้าพลู (*Piper samentosum* Roxb.) ส่วนเหนือดิน

เทียนบ้าน (*Impatiens balsamina* Linn.) ทั้งต้น

ทองพันชั่ง (*Rhinacanthus nasutus* Kurz.) ใบ

พลูคาว (*Houttuynia cordata* Thunb.) ใบ

การสกัดสารจากพืชสมุนไพร

นำสมุนไพรทั้ง 5 ชนิดมาสกัดด้วยน้ำจากพืชสด โดยนำพืชมาหั่นเป็นชิ้นเล็กๆ ชั่งน้ำหนักให้ได้ 60 กรัมปั่นรวมกับน้ำ 100 มิลลิลิตร ให้ละเอียดด้วยเครื่องปั่นยี่ห้อ National แล้วนำมากรองผ้าขาวบาง 2 ชั้น และนำพืชสมุนไพร 4 ชนิด (ยกเว้นพลูคาว)มาสกัดด้วยเมธานอล โดยการปั่นพืชให้เป็นชิ้นเล็กๆ ชั่งน้ำหนักให้ได้ 150 กรัม แช่ในเมธานอล 250 มิลลิลิตร หมักทิ้งไว้ 1 คืนแล้วจึงนำมากรองด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 ส่วนกากที่ได้มาสกัดซ้ำอีกครั้ง จากนั้นนำสารสกัดหยาบเมธานอลที่กรองได้

ไประเหยออกด้วยเครื่อง Rotary evaporator ที่อุณหภูมิ 50 ^{0}C ชั่งน้ำหนักแห้งของสารสกัดที่ได้แล้วเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 ^{0}C เพื่อใช้ทดสอบต่อไป

การเตรียมอาหาร PDA ผสมกับสารสกัดจากพืชสมุนไพร

สารสกัดด้วยน้ำ : เตรียม PDA ซึ่งลดปริมาตรน้ำลงเท่ากับปริมาตรของสารสกัดจากพืชสมุนไพรที่นำมาผสมให้ได้อาหารผสมสารสกัดความเข้มข้น 30% (น้ำหนักพืชสดต่อ ปริมาตรของน้ำผสมอาหาร) โดยนำสารสกัดด้วยน้ำจากพืชแต่ละชนิด (5 ชนิด) และอาหาร PDA ที่เตรียมไว้อย่างละ 50 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน บรรจุลงในขวดขนาดจุ 250 มิลลิลิตร สำหรับชุดควบคุมใช้น้ำกรองสะอาดแทนสารสกัดจากพืช นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วย autoclave ที่อุณหภูมิ 121 ^{0}C ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลานาน 20 นาที

สารสกัดด้วยเมธานอล : นำสารสกัดหยาบของพืชแต่ละชนิดหนัก 1 กรัม มาละลายด้วยเมธานอล 2 มิลลิลิตร แล้วเติมน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 8 มิลลิลิตร ผสมกับ PDA จำนวน 90 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิประมาณ 60 ^{0}C ได้ความเข้มข้น 10,000 ppm

การทดสอบประสิทธิภาพเบื้องต้น

เทอาหาร PDA ผสมสารสกัดแต่ละชนิด ลงบนจานเลี้ยงเชื้อขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 9 เซนติเมตรในการเลี้ยงเชื้อ *Phomopsis obscurans* และขนาด 7 เซนติเมตร สำหรับเลี้ยงเชื้อรา *Ramularia tulasnei* เมื่ออาหารเย็นลงและแข็งตัวดีแล้ว จึงทำการปลูกเชื้อราสาเหตุทั้งสองชนิด ลงตรงจุดกึ่งกลางจานอาหารเลี้ยงเชื้อด้วยวิธี Culture Disc Technique โดยใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร ที่ฆ่าเชื้อแล้วเจาะบริเวณขอบของโคโลนีเชื้อรา *P. obscurans* ที่อายุ 4 วัน และขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 3 มิลลิเมตร สำหรับเจาะเชื้อรา *R. tulasnei* อายุ 14 วัน จากนั้นบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง (เฉลี่ยกลางวันประมาณ 27 ^{0}C กลางคืน 20 ^{0}C)

บันทึกผล โดยวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของโคโลนีทั้งแกนตั้งและแกนนอน แล้วหาค่าเฉลี่ยจนกว่าเชื้อราในชุดควบคุมเจริญเกือบเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ นำผลที่ได้มาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา (ดูวิธีการคำนวณในภาคผนวก)

3. เปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารสกัดจากสาบหมา กับสารกำจัดราในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคใบไหม้ของสตรอเบอรี่

นำสารสกัดด้วยเมธานอลจากสาบหมา (Eup.I) ความเข้มข้น 5,000 ppm ผสมกับสารกำจัดรา Benlate (อัตรา 3 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร) และ Benlate (อัตรา 3 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร) ผสมกับ Antracol (อัตรา 17.5 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร) ซึ่งเป็นอัตราที่ลดลงครึ่งหนึ่งของอัตราที่แนะนำ มาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *P. obscurans* สาเหตุโรคใบไหม้ของสตรอเบอรี่ เปรียบเทียบกับสารสกัด (ความเข้มข้น 10,000 ppm) และสารกำจัดรา Benlate (อัตรา 6 กรัมต่อน้ำ 20) และ Antracol (อัตรา 35 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร)อย่างใดอย่างหนึ่งในอัตราที่ฉลากระบุ วางแผนการทดลองแบบ CRD (Completely Randomized Design) จำนวน 6 กรรมวิธี ๆ ละ 6 ซ้ำ รายละเอียดของการทดลองดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 สารสกัดสาบหมา 5,000 ppm ผสมกับ Benlate (อัตรา 3 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร)

กรรมวิธีที่ 2 สารสกัดสาบหมา 5,000 ppm ผสมกับ Antracol (อัตรา 17.5 กรัมต่อน้ำ 20 ลิต)

กรรมวิธีที่ 3 Benlate (อัตรา 3 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร) ผสมกับ Antracol (17.5 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร)

กรรมวิธีที่ 4 Benlate อัตราแนะนำ (6 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร)

กรรมวิธีที่ 5 สารกำจัดรา Antracol อัตราแนะนำ (35 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร)

กรรมวิธีที่ 6 สารสกัดสาบหมา 10,000 ppm

4. เปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากสาบหมาด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิดในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคใบไหม้ *Phomopsis obscurans*

นำสารสกัดหยาบสาบหมาซึ่งสกัดด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิดได้แก่ เมธานอล(methanol) อะซิโตน(acetone) และเฮกเซน(hexane) มาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *P. obscurans* บนอาหาร PDA ที่ผสมสารสกัดในตัวทำละลายแต่ละชนิดที่ความเข้มข้น 3 ระดับคือ 10,000 5,000 และ 1,000 ppm เปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ใช้ PDA ผสมน้ำสะอาดนึ่งฆ่าเชื้อ ผสมเมธานอล ผสมอะซิโตน และผสมเอกเซน ความเข้มข้น 2%(ปริมาตรที่ใช้ละลายสารสกัดจากพืช) โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD มี 7 กรรมวิธีๆ ละ 6 ซ้ำ และกรรมวิธีในการทดลองมีดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 สารสกัดสาบหมาด้วยเมธานอล ความเข้มข้น 10,000 5,000 และ 1,000 ppm

กรรมวิธีที 2 สารสกัดสาบหมาด้วยอะซิโตน ความเข้มข้น 10,000 5,000 และ 1,000 ppm

กรรมวิธีที่ 3 สารสกัดสาบหมาด้วยเฮกเซน ความเข้มข้น 10,000 5,000 และ 1,000 ppm

กรรมวิธีที่ 4 ชุดควบคุม (เมธานอล 2%)

กรรมวิธีที่ 5 ชุดควบคุม (อะซิโตน 2%)

กรรมวิธีที่ 6 ชุดควบคุม (เฮกเซน 2%)

กรรมวิธีที่ 7 ชุดควบคุม (น้ำสะอาดนึ่งฆ่าเชื้อ)

5. ประสิทธิภาพของสารสกัด และสารกำจัดราในการควบคุมโรคใบไหม้โฟมอพซิสของสตรอเบอรี่ โดยวิธี Detached Leaf Technique

นำใบสตรอเบอรี่ที่ไม่เป็นโรค ล้างผ่านน้ำไหลจากนั้นซับน้ำให้แห้ง แล้ววางบนกล่องพลาสติกที่สะอาด ซึ่งมีกระดาษชื้นรองอยู่ด้านล่างกล่องเพื่อรักษาความชื้น มาใช้ทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดด้วยน้ำและสารสกัดด้วยเมธานอลจากพืชสมุนไพร 4 ชนิด เทียบกับสารป้องกันกำจัดราที่มีชื่อการค้า Antracol และ Benlate ในการควบคุมโรคใบไหม้โฟมอพซิสของสตรอเบอรี่ ซึ่งเกิดจากเชื้อรา *Phomopsis obscurans*

การเตรียม inoculum ของเชื้อราสาเหตุ

ทำการเลี้ยงเชื้อราบนอาหาร PDA ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 14 วัน แล้วใช้ไสด์แก้วปลอดเชื้อขูดผิวหน้าอาหารที่มีเส้นใยของเชื้อราและ pycnidia อยู่ นำมาบดด้วยโกร่ง เพื่อให้ pycnidia แตกออก และ conidia ทะลักออกมา จากนั้นกรองผ่านผ้าขาวบ้าง 2 ชั้นจะได้สปอร์แขวนลอย (spore suspension) จึงนำไปนับจำนวนสปอร์และปรับความเข้มข้นของ inoculum ด้วย Haemacytometer ให้ได้ประมาณ 10^6 สปอร์/มิลลิลิตร

การเตรียมสารสกัด และสารกำจัดรา

นำสารสกัดด้วยน้ำจากพืชสมุนไพร 4 ชนิดได้แก่ สาบหมา เทียนบ้าน ช้าพลู และทองพันชั่ง ซึ่งเตรียมไว้ จำนวน 500 มิลลิลิตร ดังอธิบายแล้วในการทดลองที่ 2 โดยใช้ความเข้มข้น 30% ส่วนสารสกัดด้วยเมธานอลจากพืชดังกล่าว ใช้ความเข้มข้น 10,000 ppm สำหรับสารกำจัดราที่ใช้มีชื่อการค้า Antracol (propineb) จากบริษัท ไบเออร์ ประเทศไทย (จำกัด) และ Benlate (benomyl) จากบริษัท ดูปองท์ (ประเทศไทย) จำกัด นำมาเตรียมสารแขวนลอย จำนวน 500 มิลลิลิตร โดย Antracol ใช้อัตรากลางที่ระบุไว้บนฉลาก ซึ่งอัตราที่บริษัทแนะนำคือ 30-40 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร อัตราที่ใช้คือ 35 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร เมื่อนำมาผสมกับสารสกัดใช้ในอัตราครึ่งหนึ่งของอัตรากลางที่ระบุไว้บนฉลาก คือ 17.5 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร และ Benlate ใช้อัตราที่แนะนำคือ 6 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร เมื่อนำมาผสมกับสารสกัดใช้อัตราครึ่งหนึ่ง คือ 3 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร และสารสกัดใช้ความเข้มข้น 5,000 ppm

การพ่นสารสกัดและสารป้องกันกำจัดรา

นำสารสกัด และสารกำจัดราที่เตรียมไว้บรรจุลงในเครื่องพ่นขนาดเล็กยี่ห้อ Foggy ขนาดจุ 1 ลิตร เติมสารจับใบชื่อ Apsa 80 (ของบริษัทแอมแวย์ ประเทศไทย จำกัด) ในอัตราความเข้มข้น 0.2 มิลลิลิตรต่อน้ำ 1 ลิตร เขย่าให้เข้ากัน จากนั้นพ่นลงบนใบสตรอเบอรี่ด้วยน้ำหนักกดที่สม่ำเสมอ เพื่อให้สารสกัดและสารกำจัดราตกลงบนผิวพืชมีปริมาณที่เท่ากัน

การปลูกเชื้อราสาเหตุ

หลังจากพ่นสารสกัดและสารกำจัดรา 1 ชั่วโมงจึงนำ inoculum ที่เตรียมไว้บรรจุลงในเครื่องพ่น Foggy เติมสารจับใบ Apsa 80 ลงไปในอัตราเดียวกัน ปลูกเชื้อลงบนใบสตรอเบอรี่ โดยฉีดพ่นสารทั้งทางด้านบนและด้านล่างของใบด้วยน้ำหนักกดที่สม่ำเสมอ จากนั้นนำมาวางไว้ในห้องปฏิบัติการเชื้อรา ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่อุณหภูมิห้อง (กลางวันเฉลี่ย 27 ^{0}C และกลางคืนเฉลี่ย 20 ^{0}C) และพยายามรักษาความชื้นให้พอเหมาะ โดยการพ่นน้ำเช้าเย็น

วางแผนการทดลองแบบ RCBD (Randomized Complete Block Design) ซึ่งแบ่งออกเป็น 2 การทดลองดังนี้

5.1 เปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารสกัดด้วยน้ำและเมธานอลในการควบคุมโรคใบไหม้โฟมอพซิสของสตรอเบอรี่ โดยกำหนดให้มี 10 กรรมวิธีๆละ 3 ซ้ำ

กรรมวิธีที่ 1 พ่นด้วยน้ำสะอาด
กรรมวิธีที่ 2 พ่นสารสกัดด้วยน้ำจากสาบหมา
กรรมวิธีที่ 3 พ่นสารสกัดด้วยน้ำจากเทียนบ้าน
กรรมวิธีที่ 4 พ่นสารสกัดด้วยน้ำจากช้าพลู
กรรมวิธีที่ 5 พ่นสารสกัดด้วยน้ำจากทองพันชั่ง
กรรมวิธีที่ 6 พ่นสารสกัดด้วยเมธานอลจากสาบหมา
กรรมวิธีที่ 7 พ่นสารสกัดด้วยเมธานอลจากเทียนบ้าน
กรรมวิธีที่ 8 พ่นสารสกัดด้วยเมธานอลจากช้าพลู
กรรมวิธีที่ 9 พ่นสารสกัดด้วยเมธานอลจากทองพันชั่ง
กรรมวิธีที่ 10 พ่นสารกำจัดรา Antracol

5. 2 เปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารสกัดเมธานอลจากสาบหมา และสารกำจัดราในการควบคุมโรคใบไหม้ของสตรอเบอรี่ โดยกำหนดให้มี 6 กรรมวิธีๆละ 4 ซ้ำ

กรรมวิธีที่ 1 พ่นด้วยน้ำสะอาด

กรรมวิธีที่ 2 พ่นสารสกัดสาบหมา

กรรมวิธีที่ 3 พ่นสารกำจัดรา Antracol

กรรมวิธีที่ 4 พ่นสารกำจัดรา Benlate

กรรมวิธีที่ 5 พ่นสารสกัดสาบหมาผสมกับ Antracol

กรรมวิธีที่ 6 พ่นสารสกัดสาบหมาผสมกับ Benlate

6. ประสิทธิภาพของสารสกัดจากสาบหมา และสารกำจัดราในการควบคุมโรคใบจุดตานกและใบไหม้โฟมอพซิสของสตรอเบอรี่ในแปลงปลูก

การเตรียมแปลงปลูกสตรอเบอรี่

ใช้ต้นสตรอเบอรี่พันธุ์พระราชทาน 72 ในแปลงทดลองของสถานีเกษตรหลวงอ่างขาง อำเภอฝาง จังหวัดเชียงใหม่ อายุประมาณ 1 เดือน เริ่มในวันที่ 18 กันยายน 2545 แล้วทำการทดลองวันที่ 25 กันยายน ถึง 27 พฤศจิกายน 2545 แปลงทดลองแบ่งเป็นแปลงย่อยขนาด กว้าง x ยาว x สูง 0.6x4x0.3 เมตร จำนวน 15 แปลง มีระยะห่างระหว่างแปลง 50 เซนติเมตร (ภาพที่ 1)

ภาพที่ 1 แปลงปลูกสตรอเบอรี่ บริเวณสถานีเกษตรหลวงอ่างขาง อ. ฝาง จ. เชียงใหม่

การเตรียมสารสกัด และสารผสมระหว่างสารสกัดกับสารกำจัดรา

นำสารสกัดสาบหมาด้วยอะซิโตนซึ่งอยู่ในรูปเข้มข้น ให้ชื่อว่า " EUP I " มาเตรียมสารแขวนลอยโดยใช้อัตราสารสกัด 5 ซีซีต่อน้ำ 1 ลิตร ส่วนสารผสมระหว่างสารสกัดกับสารกำจัดรา Antracol และ Benlateใช้สารแต่ละชนิดในอัตราครึ่งหนึ่งที่ฉลากระบุนำมาผสมกัน กล่าวคือ EUP I อัตราที่แนะนำคือ 5 ซีซี/น้ำ 1 ลิตร อัตราที่ใช้ คือ 2.5 ซีซีต่อน้ำ 1 ลิตร สารกำจัดรา Antracol อัตราที่แนะนำ คือ 30-40 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร อัตราที่ใช้ 17.5 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร และ Benlate อัตราที่แนะนำคือ 6 กรัม อัตราที่ใช้คือ 3 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร สำหรับการใช้สารกำจัดราอย่างเดียว ใช้อัตราแนะนำ คือ Antracol 35 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร และ Benlate 6 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ผสมสารจับใบ (Apsa 80) ในอัตราความเข้มข้น 0.2 มิลลิลิตรต่อน้ำ 1 ลิตร

การฉีดพ่นสารสกัดและสารกำจัดราในแปลงปลูก

ทำการฉีดพ่นสารสกัดและสารกำจัดราทุกสัปดาห์ จำนวน 9 ครั้งในแปลงปลูกซึ่งมีโรคใบจุดตานกและใบไหม้โฟมอพซิสระบาดตามธรรมชาติ โดยวางแผนการทดลองแบบ RCBD (Randomized Complete Block Design) จำนวน 3 ซ้ำๆละ 10 ต้น และกรรมวิธีในการทดลองมีดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ชุดควบคุม (Control) พ่นด้วยน้ำสะอาด
กรรมวิธีที่ 2 พ่นสารสกัดสาบหมา
กรรมวิธีที่ 3 พ่นสารสกัดสาบหมาผสม Antracol
กรรมวิธีที่ 4 พ่นสารสกัดสาบหมาผสม Benlate
กรรมวิธีที่ 5 พ่นสารกำจัดรา Belate สลับกับ Antracol

การบันทึกผลการทดลอง

บันทึกลักษณะอาการของโรคที่เกิดขึ้น และการประเมินความเสียหายที่เกิดจากโรค โดยแบ่งออกเป็น

การหาปริมาณของโรค (disease intensity) โดยการนับจำนวนใบที่เป็นโรคต่อต้นแล้วนำมาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค จากจำนวนทั้งหมดในแต่ละกรรมวิธี

การประเมินผล

ประเมินพื้นที่ใบที่เป็นโรคต่อต้น ในแต่ละการทดลอง โดยแบ่งปริมาณของโรคเป็น 11 ระดับ คือ 0-10 โดยที่ 0= ใบไม่มีอาการของโรค และ 10 = พื้นที่ใบเป็นโรค 100% รวมถึงอาการใบร่วงที่เกิดจากโรคด้วย นำค่าที่ได้จากการประเมินความรุนแรงของโรคมาแปลงเป็นค่าความเสียหายของพืช

(crop loss) การประเมินความเสียหายกระทำ โดยการนำผลที่ได้จากการหาปริมาณของโรคมาคำนวณเปอร์เซ็นต์การถูกทำลาย หรือดัชนีการเข้าทำลายดังสูตร (สืบศักดิ์, 2540)

$$\% \text{ ดัชนีการเข้าทำลาย} = \frac{\text{ผลรวมของการเป็นโรคแต่ละระดับ}}{\text{จำนวนต้นพืชที่สุ่มวัด}} \times \frac{100}{\text{ระดับสูงสุดของระดับความรุนแรง}}$$

โครงการหลวง

ผลการทดลอง

1. การตรวจเชื้อและแยกเชื้อราสาเหตุ

ลักษณะอาการของโรคใบไหม้โฟมอพซิส (Phomopsis leaf blight)

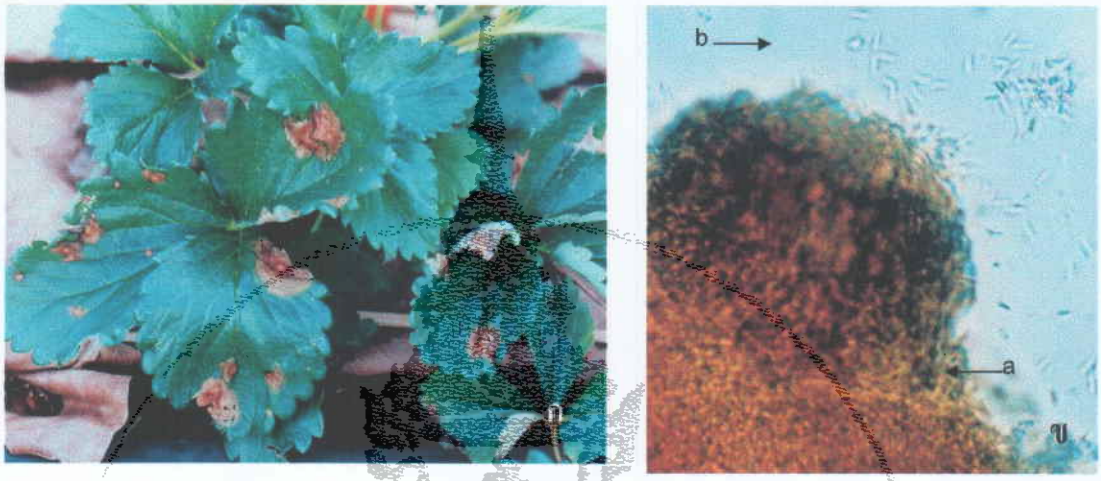
จากการเก็บตัวอย่างใบสตรอเบอรี่ที่แสดงอาการของโรคใบไหม้โฟมอพสิส จากแปลงปลูกของสถานีเกษตรหลวงอ่างขาง อ. ฝาง จังหวัดเชียงใหม่ มาศึกษาและบันทึกอาการของโรค พบอาการในระยะแรกลักษณะเป็นจุดค่อนข้างกลมสีน้ำตาลปนแดง เมื่อแผลใหญ่ขึ้น กลางแผลมีสีน้ำตาลอ่อนและพบโครงสร้างรูปคณโฑ คือพิคนิเดีย (pycnidia) เป็นจำนวนมาก เมื่อตรวจหาเชื้อสาเหตุโดยวิธี Free Hand Section พบพิคนิเดียฝังอยู่ในเนื้อเยื่อบริเวณผิวใบพืชรูปร่างกลม มีช่องเปิดด้านบน (ostiole) โผล่พ้นผิวพืชออกมา (ภาพที่ 2 ก) เชื้อราดังกล่าวคือ *Phomopsis obscurans* ตามที่ Mass (1998) ได้รายงานไว้

เมื่อทำการแยกเชื้อราสาเหตุของโรคดังกล่าวบนอาหาร PDA พบว่าเส้นใยสีขาวเจริญออกมาจากชิ้นพืชภายใน 4-5 วัน ลักษณะโคโลนีกลมเจริญออกมาในแนวรัศมี ในระยะแรกๆ มีสีขาวต่อมาเปลี่ยนเป็นสีครีม เมื่ออายุ 14 วัน จะเริ่มสร้างโครงสร้าง pycnidia ปรากฏบนอาหาร รูปร่างและขนาดไม่แน่นอน (ภาพที่ 2 ข)

ลักษณะอาการของโรคใบจุดตานก (Bird-eye leaf spot)

จากการเก็บตัวอย่างใบสตรอเบอรี่ที่แสดงอาการของโรคใบจุดตานกจากแปลงปลูกของสถานีเกษตรหลวงอ่างขาง อ. ฝาง จังหวัดเชียงใหม่ มาศึกษาและบันทึกอาการของโรค พบอาการเป็นจุดกลมบริเวณกลางแผลมีสีน้ำตาล หรือสีเทาขอบแผลมีสีม่วงแดง ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของแผล 4-6 มม. (ภาพที่ 3ก) และเมื่อตรวจหาเชื้อสาเหตุโดยวิธี Free Hand Section แล้วนำส่องดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่าลักษณะของ conidia รูปทรงกระบอกไม่มีสี มี septate 0-3 อัน conidia เจริญอยู่บน conidiophore ขนาดสั้น ไม่มีสี ไม่แตกกิ่งก้าน และพบรอยที่เกิดจากการหลุดร่วงของสปอร์ (scar) ชัดเจน เชื้อราดังกล่าวคือ *Ramularia tulasnei* ตามที่ Maas (1998) ได้รายงานไว้

เมื่อทำการแยกเชื้อราดังกล่าวบนอาหาร PDA พบว่าเส้นใยเจริญออกมาจากชิ้นพืชช้ามาก ใช้เวลา 20 วัน ขนาดโคโลนี 1 เซนติเมตร โคโลนีลักษณะกลมเจริญแผ่ออกมาแนวรัศมี สร้าง pigment สีแดง และไม่มีการสร้างสปอร์ ในสภาพอุณหภูมิห้องแต่เมื่อนำไปเลี้ยงโดยวิธี Spread Plate ในสภาพมืดและมีอุณหภูมิ $18 \pm 2\ ^{0}c$ พบว่าเชื้อราสามารถสร้างสปอร์จำนวนมากเมื่ออายุ 7 วัน (ภาพที่ 3ข)



ภาพที่ 2 ก) ลักษณะอาการใบไหม้โฟมอพซิส (Phomopsis leaf blight)

ข) ลักษณะ pycnidium (a) และ conidia (b) ของเชื้อราสาเหตุ ที่เกิดจากเชื้อรา *Phomopsis obscurans*

ภาพที่ 3 ก) ลักษณะอาการใบจุดตานก (Bird-eye-leaf spot)

ข) ลักษณะ conidiophore (a) และ conidia (b) ของเชื้อราสาเหตุที่เกิดจากเชื้อรา *Ramularia tulasnei*

2. **การทดสอบประสิทธิภาพเบื้องต้น**

สารสกัดด้วยน้ำ : จากการทดสอบประสิทธิภาพเบื้องต้นของพืชสมุนไพร 5 ชนิด ได้แก่ เทียนบ้าน สาบหมา ช้าพลู ทองพันชั่งและพลูคาว ที่ความเข้มข้น 30% ในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคใบไหม้โฟมอพซิส ซึ่งเกิดจากเชื้อรา *Phomopsis obscurans* พบว่าสารสกัดเทียนบ้านและสาบหมาให้ผลยับยั้งได้ดีที่สุด คือ 100% รองลงมาได้แก่ ช้าพลู ทองพันชั่ง และคาวตองตามลำดับ (ตารางที่ 1)

สารสกัดด้วยเมธานอล : จากการทดสอบประสิทธิภาพเบื้องต้นของสารสกัดหยาบด้วยเมธานอลจากพืช 4 ชนิด ได้แก่สาบหมา เทียนบ้าน ทองพันชั่ง และช้าพลู ที่ความเข้มข้น 10,000 ppm ในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคใบไหม้โฟมอพซิสพบว่าสารสกัดสาบหมาให้ผลยับยั้งสูงสุดคือ 83.30 % รองลงมาได้แก่สารสกัดทองพันชั่ง (81.57%) สารสกัดช้าพลู (73.38%) และสารสกัดเทียนบ้าน (56.37%) ตามลำดับ (ตารางที่ 2 และภาพที่ 4) ส่วนสารสกัดด้วยเมธานอลในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคใบจุดตานกซึ่งเกิดจากเชื้อรา *Ramularia tulasnei* พบว่าสารสกัดช้าพลู และทองพันชั่งให้ผลยับยั้งสูงสุดคือ 100% แตกต่างจากสารสกัดชนิดอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ รองลงมาได้แก่สารสกัดเทียนบ้าน (57.78%) และสารสกัดสาบหมา (37.45 %) ตามลำดับ (ตารางที่ 3 และภาพที่ 5)

ตารางที่ 1 ประสิทธิภาพของสารสกัดด้วยน้ำจากพืชสมุนไพร 5 ชนิดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคใบไหม้โฟมอพซิส บนอาหาร PDA ที่ผสมสารสกัด ความเข้มข้น 30%

สมุนไพร	ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของโคโลนี (ซ.ม.)[1]				% ยับยั้งการ
	2 วัน	4 วัน	6 วัน	8 วัน	เจริญที่ 6 วัน
เทียนบ้าน	0	0	0	0	100.0 a
สาบหมา	0	0	0	0	100.0 a
ช้าพลู	0	0.52	1.24	2.11	85.1 b
ทองพันชั่ง	0	0.96	1.27	2.87	84.8 b
คาวตอง	0	1.32	2.10	3.35	74.7c
ชุดควบคุม	1.36	5.48	8.33	9	0.0 d
% CV					5.27

[1] ค่าเฉลี่ยจาก 6 ซ้ำต่อกรรมวิธี

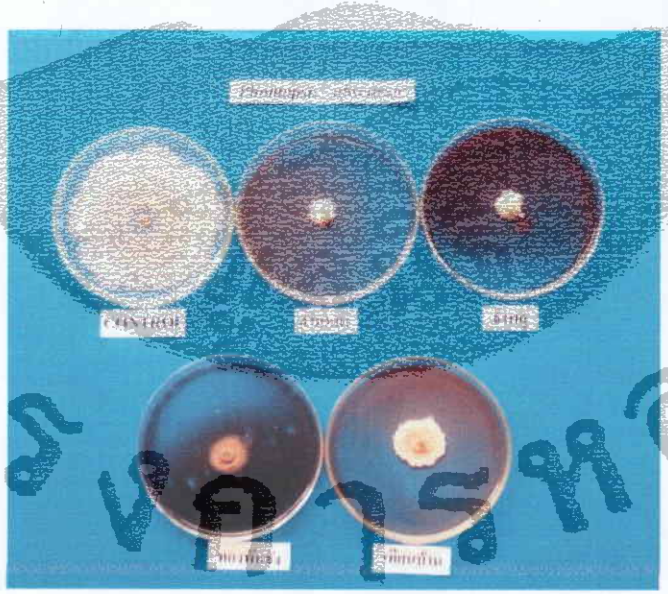
[2] ตัวอักษรเหมือนกันใน column เดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

ตารางที่ 2 ประสิทธิภาพของสารสกัดเมธานอลจากพืชสมุนไพร 4 ชนิดที่ความเข้มข้น 10,000 ppm ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราสาเหตุใบไหม้โฟมอพซิสของสตรอเบอรี่ที่อายุ 7 วัน

สารสกัด	ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของโคโลนี (ซ.ม.)[1]	% ยับยั้งการเจริญ
ช้าพลู	1.41	73.38 b
สาบหมา	0.88	83.30 a
เทียนบ้าน	2.31	56.37 c
ทองพันชั่ง	0.98	81.57 a
ชุดควบคุม (Control)	5.29	0.00 d
% CV		2.12

[1] ค่าเฉลี่ยจาก 6 ซ้ำต่อกรรมวิธี

[2] ตัวอักษรเหมือนกันใน column เดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%



ภาพที่ 4 ประสิทธิภาพของสารสกัดเมธานอลจากพืชสมุนไพร 4 ชนิด ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Phomopsis obscurans* ที่อายุ 7 วัน

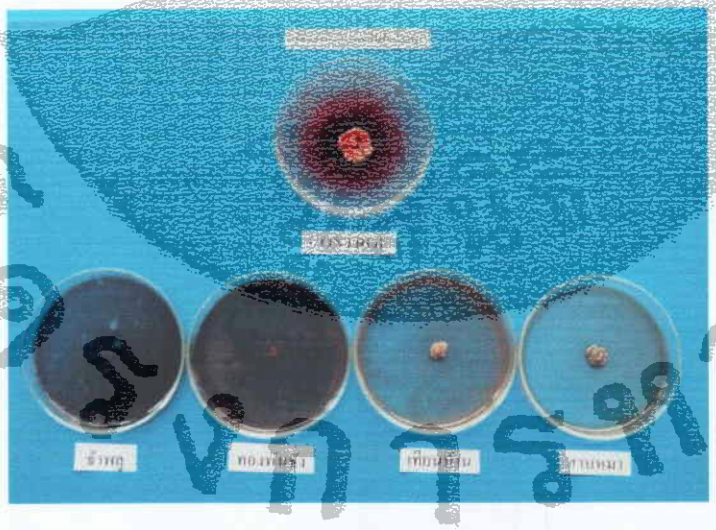
แถวบน : ชุดควบคุม สาบหมา และช้าพลู แถวล่าง : ทองพันชั่ง และเทียนบ้าน

ตารางที่ 3 ประสิทธิภาพของสารสกัดเมธานอลจากพืชสมุนไพร 4 ชนิดที่ความเข้มข้น 10,000 ppm ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราสาเหตุใบจุดตานกของสตรอเบอรี่ ที่อายุ 20 วัน

สารสกัด	ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของโคโลนี (ซ.ม.)[1]	% ยับยั้งการเจริญ
ช้าพลู	0.00	100 a[2]
สาบหมา	0.94	39.45 c
เทียนบ้าน	0.67	57.78 b
ทองพันชั่ง	0.00	100 a
ชุดควบคุม (Control)	1.50	0.00 d
% CV		6.16

[1] ค่าเฉลี่ยจาก 6 ซ้ำต่อกรรมวิธี

[2] ตัวอักษรเหมือนกันใน column เดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%



ภาพที่ 5 ประสิทธิภาพของสารสกัดเมธานอลจากพืชสมุนไพร 4 ชนิด ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Ramularia tulasnei* ที่อายุ 20 วัน

แถวบน : ชุดควบคุม (Control) แถวล่าง : ช้าพลู ทองพันชั่ง เทียนบ้าน และสาบหมา

3. ประสิทธิภาพของสารสกัดเมธานอลจากสาบหมา และสารกำจัดราในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคใบไหม้โฟมอพซิสของสตรอเบอรี่

จากการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดเมธานอลจากสาบหมาที่ความเข้มข้น 10,000 ppm เปรียบเทียบกับสารกำจัดรา Benlate และ Antracol ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Phomopsis obscurans* โดยใช้ Antracol ในอัตรา 35 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร และ Benlate ในอัตรา 6 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร เมื่อนำมาผสมกับสารสกัดใช้ในอัตราครึ่งหนึ่งที่ฉลากระบุ คือ Antracol ใช้อัตรา 3 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร และ Benlate ใช้อัตรา 17.5 กรัมต่อน้ำ20 ลิตร และสารสกัดใช้ความเข้มข้น 5,000 ppm ผลปรากฏว่าสารสกัดสาบหมาผสมกับเบนเลท มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญ 99.56 % ซึ่งใกล้เคียงกับแอนทราโคลให้ผลยับยั้งการเจริญ 99.60% รองลงมาได้แก่สารสกัดสาบหมาผสมกับ Antracol (92.48%), สารสกัดสาบหมา (89.67%) และ Benlate (64.56%) ตามลำดับ (ตารางที่ 4 และ ภาพที่ 6)

ตารางที่ 4 เปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารสกัดเมธานอลจากสาบหมาและสารกำจัดราในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Phomopsis obscurans* ที่ระยะเวลา 7 วัน

กรรมวิธี (Treatment)	เปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญ[1]
สารสกัดสาบหมา	89.67 b[2]
สาบหมา ผสมกับ Benlate	92.48 b
Benlate ผสมกับ Antracol	99.56 a
สารกำจัดรา Antracol	99.60 a
สารกำจัดรา Benlate	64.56 c
ชุดควบคุม (Control)	0.00
$LSD_{0.01}$	10.93
%CV	3.68

[1] ค่าเฉลี่ยจาก 7 ซ้ำต่อกรรมวิธี

[2] ตัวอักษรเหมือนกันใน column เดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

ภาพที่ 6 ประสิทธิภาพของสารสกัดเมธานอลจากสาบหมา และสารกำจัดราในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคใบไหม้โฟมอพซิสของสตรอเบอรี่ ที่อายุ 7 วัน

แถวบน : ชุดควบคุม (Control), Benlate และ Benlate + สาบหมา

แถวล่าง : Benlate+Antracol, Antracol และ สาบหมา

4. ประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากสาบหมาด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิดในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคใบไหม้โฟมอพซิสของสตรอเบอรี่

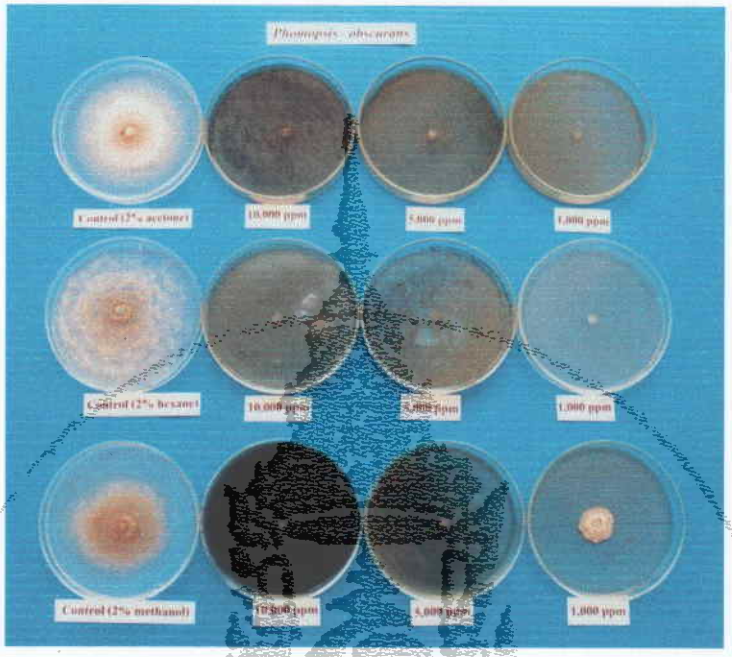
จากการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากสาบหมาด้วยอะซิโตน เฮกเซน และเมธานอล ที่ความเข้มข้น 3 ระดับคือ 1,000 5,000 และ10,000 ppm ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Phomopsis obscurans* พบว่าสารสกัดสาบหมาด้วยตัวทำละลายทั้ง 3 ชนิดสามารถยับยั้งการเจริญได้ดีทุกระดับความเข้ม ซึ่งมีความแตกต่างทางสถิติจากชุดควบคุมที่ระดับความเชื่อมั่น 99% โดยสารสกัดสาบหมาด้วยอะซิโตนและเฮกเซนทุกความเข้มข้นสามารถยับยั้งการเจริญได้ 100% ส่วนสารสกัดสาบหมาด้วยเมธานอลที่ระดับความเข้มข้น 5,000 ppm และ 10,000 ppm ให้ผลยับยั้งการเจริญ 100% แต่ที่ระดับความเข้มข้น 1,000 ppm สามารถยับยั้งได้ 75.53 % (ตารางที่ 5 และภาพที่ 7)

ตารางที่ 5 เปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารสกัดจากสาบหมาด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิดในการยับยั้งการเจริญ ของเชื้อรา *Phomopsis obscurans* ที่ระยะเวลา 7 วัน

กรรมวิธี (Treatment)	ตัวทำละลาย	ความเข้มข้น	ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของโคโลนี (ซ.ม.)[1]	% ยับยั้งการเจริญ
ชุดควบคุม (Control)	water	-	7.21	0.00 f[2]
ชุดควบคุม (Control)	acetone	2%	5.31	26.39 d
ชุดควบคุม (Control)	hexane	2%	6.45	10.54 e
ชุดควบคุม (Control)	methanol	2%	5.00	30.99 c
สาบหมา	acetone	1,000 ppm	0.0	100 a
		5,000 ppm	0.0	100 a
		10,000 ppm	0.0	100 a
สาบหมา	hexane	1,000 ppm	0.0	100 a
		5,000 ppm	0.0	100 a
		10,000 ppm	0.0	100 a
สาบหมา	methanol	1,000 ppm	1.62	75.53 b
		5,000 ppm	0.0	100 a
		10,000 ppm	0.0	100 a
%CV				3.64

[1] ค่าเฉลี่ยจาก 6 ซ้ำต่อกรรมวิธี

[2] ตัวอักษรเหมือนกันใน column เดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 99%



ภาพที่ 7 ประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากสาบหมาด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิดในการยับยั้งเชื้อรา สาเหตุโรคใบไหม้โฟมอพซิสของสตรอเบอรี่ ที่อายุ 7 วัน (ภาพจากซ้ายไปขวา)

แถวบน : Control (acetone), สาบหมา 1,000 ppm, 5,000 ppm และ 10,000 ppm

แถวกลาง : Control (hexane), สาบหมา 1,000 ppm, 5,000 ppm และ 10,000 ppm

แถวล่าง : Control (methanol), สาบหมา 1,000 ppm, 5,000 ppm และ 10,000 ppm

5. ประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืช 4 ชนิด และสารกำจัดราในการควบคุมโรคใบไหม้โฟมอพซิสของสตรอเบอรี่ โดยวิธี Detached Leaf Technique

5.1 เปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารสกัดด้วยน้ำและเมธานอลจากพืช 4 ชนิด ในการควบคุมโรคใบไหม้โฟมอพซิสของสตรอเบอรี่

จากการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดด้วยน้ำ และสารสกัดด้วยเมธานอลจากสาบหมา เทียนบ้าน ทองพันชั่ง และช้าพลู เทียบกับสารกำจัดรา Antracol โดยฉีดพ่นสารสกัดก่อนการปลูกเชื้อราสาเหตุ 1 วัน และวัดผลเปอร์เซ็นต์พื้นที่ใบที่เป็นโรคหลังจากปลูกเชื้อสาเหตุ 7 วัน พบว่าสารสกัดด้วยน้ำจากทองพันชั่งให้ผลยับยั้งโรคได้ดีที่สุดมีพื้นที่ใบที่เป็นโรค 6.67% รองลงมาคือสารสกัดด้วยน้ำจากเทียนบ้าน และสารสกัดสาบหมาด้วยเมธานอลจากสาบหมาและทองพันชั่งมีพื้นที่ใบที่เป็นโรค 10% ในขณะที่แอนทราโคลไม่ปรากฏอาการของโรคใบไหม้โฟมอพซิส ส่วนสารสกัดด้วยน้ำจากสาบหมาและช้าพลู และสารสกัดเมธานอลจากช้าพลู ไม่สามารถยับยั้งการเกิดโรคได้ (ตารางที่ 6)

5.2 เปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารสกัดเมธานอลจากสาบหมา และสารกำจัดราในการควบคุมโรคใบไหม้ของสตรอเบอรี่

จากการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดสาบหมาผสมกับสารกำจัด Benlate และที่ผสมกับ Antracol เปรียบเทียบกับ Benlate, Antracol และสารสกัดจากสาบหมาอย่างใดอย่างหนึ่ง ต่อเชื้อรา *Phomopsis obscurans* โดยฉีดพ่นสารดังกล่าวก่อนการปลูกเชื้อราสาเหตุ 1 วันและวัดผลเปอร์เซ็นต์พื้นที่ใบที่เป็นโรค หลังจากปลูกเชื้อราสาเหตุ 7 วัน ผลปรากฏว่าสารสกัดจากสาบหมาเพียงอย่างเดียวและสาบหมาผสมกับ Benlate ให้ผลดีในการยับยั้งโรคได้ดีที่สุด(ไม่ปรากฏอาการของโรค) รองลงมาได้แก่ Antracol และ Benlate และสารสกัดสาบหมาผสมกับ Antracol สามารถลดเปอร์เซ็นต์พื้นที่ใบที่เป็นโรคได้ 27.5 % และ22.5 % ตามลำดับ (ตารางที่ 7 และภาพที่ 8)

ตารางที่ 6 ประสิทธิภาพของสารสกัดด้วยน้ำและเมธานอลจากพืช 4 ชนิดในการควบคุมโรคใบไหม้โฟมอพซิสของสตรอเบอรี่หลังจากปลูกเชื้อ 7 วัน โดยวิธี Detached Leaf Technique

สารสกัด	ความเข้มข้น	เปอร์เซ็นต์พื้นที่ใบที่เป็นโรค[1]
สาบหมา (น้ำ)	30%	23.33 a[2]
เทียนบ้าน (น้ำ)	30%	10.0 bc
ช้าพลู (น้ำ)	30%	23.33 a
ทองพันชั่ง(น้ำ)	30%	6.67 cd
สาบหมา (เมธานอล)	10,000 ppm	10.0 bc
เทียนบ้าน(เมธานอล)	10,000 ppm	16.67 ab
ช้าพลู(เมธานอล)	10,000 ppm	23.33 a
ทองพันชั่ง(เมธานอล)	10,000 ppm	10.0 bc
Antracol	35 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร	0.0 d
ปลูกเชื้อ (inoculate)		20.0 a
%CV		23.84

[1] ค่าเฉลี่ยจาก 3 ซ้ำต่อกรรมวิธี

[2] ตัวอักษรเหมือนกันใน column เดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

ตารางที่ 7 ประสิทธิภาพของสารสกัดเมธานอลจากสาบหมา และสารกำจัดราในการควบคุมโรคใบไหม้โฟมอพซิสของสตรอเบอรี่หลังจากปลูกเชื้อ 7 วัน โดยวิธี Detached Leaf Technique

สารสกัด	ความเข้มข้น	เปอร์เซ็นต์พื้นที่ใบที่เป็นโรค[1]
สาบหมา	10,000 ppm	0.0 d[2]
สาบหมา+ Antracol	5,000 ppm + 17.5 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร	10.0 b
สาบหมา + Benlate	5,000 ppm + 3 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร	0.0 d
Antracol	อัตรา 35 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร	5.0 c
Benlate	อัตรา 6 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร	10.0 b
ปลูกเชื้อ (inoculate)		32.5 a
%CV		21.3

[1] ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำต่อกรรมวิธี

[2] ตัวอักษรเหมือนกันใน column เดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

ภาพที่ 8 ประสิทธิภาพของสารสกัดเมธานอลจากสาบหมาและสารกำจัดราในการควบคุมโรคใบไหม้โฟมอพซิสของสตรอเบอรี่หลังจากปลูกเชื้อเป็นเวลา 7 วัน โดยวิธี Detached Leaf Technique แถวบน: ซ้าย ปลูกเชื้อ(inoc) และขวา สาบหมา แถวกลาง: ซ้าย Benlate และขวา Antracol แถวล่าง: ซ้าย สาบหมา+ Benlate และขวา สาบหมา+ Antracol

6. ประสิทธิภาพของสารสกัดสาบหมา และสารกำจัดราในการควบคุมโรคใบจุดตานกและใบไหม้โฟมอพซิสของสตรอเบอรี่ในแปลงปลูก

จากการฉีดพ่นสารสกัดสาบหมา (EUP I) สารผสมระหว่างสาบหมากับสารเคมี Antracol และ Benlate อย่างใดอย่างหนึ่ง และพ่น Benlate สลับกับ Antracol ทุกสัปดาห์ จำนวน 9 ครั้ง ในแปลงทดลองซึ่งไม่ได้ทำการปลูกเชื้อราสาเหตุ พบว่าการฉีดพ่นสารสกัดสาบหมาผสมกับ Benlate และ Antracol พ่นสลับกับ Antacol สามารถลดเปอร์เซ็นต์การเกิดได้ดีที่สุดคือ 22.84 % และ 24.0 % ซึ่งมีความแตกต่างทางสถิติจากชุดควบคุมที่พ่นด้วยน้ำสะอาด ที่ระดับความเชื่อมั่น 99% ส่วนการฉีดพ่นด้วยสารสกัดสาบหมา และสารสกัดสาบหมาผสมกับ Antracol ให้ผลลดเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเพียงเล็กน้อยไม่แตกต่างทางสถิติจากชุดควบคุม (ตารางที่ 8) เมื่อพิจารณาถึงเปอร์เซ็นต์ดัชนีการทำลาย พบว่าให้ผลในทำนองเดียวกัน คือ การฉีดพ่นสารสกัดสาบหมาผสมกับ Benlate และ Antracol สลับกับ Benlate มีเปอร์เซ็นต์ดัชนีการทำลายต่ำสุดคือ 7.36% และ 7.56% ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่พ่นด้วยน้ำสะอาด ส่วนสารสกัดสาบหมา และสาบหมาผสมกับ Antracol มีเปอร์เซ็นต์ดัชนีการทำลาย เท่ากับ 11.09% และ 12.54% ตามลำดับ (ตารางที่ 9 และภาพที่ 9)

ตารางที่ 8 เปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารสกัด EUP I และสารเคมีในการควบคุมโรคใบจุดตานกและใบไหม้โฟมอพซิสที่เกิดขึ้นโดยธรรมชาติ วัดผลเป็นเปอร์เซ็นต์ใบที่เป็นโรคต่อต้น หลังการฉีดพ่น 3 5 7 และ 9 สัปดาห์ เรียงลำดับจากกรรมวิธีที่ควบคุมได้ดีที่สุด

กรรมวิธี	เปอร์เซ็นต์ใบที่เป็นโรค/ต้น[1]			
	3 สัปดาห์	5 สัปดาห์	7 สัปดาห์	9 สัปดาห์
Antracol สลับกับ Benlate	55.71 b[2]	60.85 b	52.99 b	44.55 b
สาบหมา ผสมกับ Benlate	61.32 b	62.01 b	54.89 b	50.49 b
สาบหมา ผสมกับ Antracol	72.69 a	83.54 a	74.36 a	62.25 a
สาบหมา (EUP I)	73.50 a	80.63 a	74.76 a	61.38 a
ชุดควบคุม (Control)	75.81 a	84.85 a	76.36 a	65.22 a
%CV	27.03	19.97	24.97	28.12

[1] ค่าเฉลี่ยจาก 3 ซ้ำๆละ 10 ต้นในแต่ละกรรมวิธี

[2] ตัวอักษรเหมือนกันใน column เดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

ตารางที่ 9 เปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารสกัด EUP I และสารเคมีในการควบคุมโรคใบจุดตานก และใบไหม้โฟมอพซิสที่เกิดขึ้นโดยธรรมชาติ วัดผลเป็นเปอร์เซ็นต์ดัชนีการทำลาย หลังการฉีดพ่น 3 5 7 และ 9 สัปดาห์ เรียงลำดับจากกรรมวิธีที่ควบคุมได้ดีที่สุด

กรรมวิธี	เปอร์เซ็นต์ดัชนีการทำลาย[1]			
	3 สัปดาห์	5 สัปดาห์	7 สัปดาห์	9 สัปดาห์
Antracol สลับกับ Benlate	6.75 NS	5.90 c[2]	7.35 c	7.60 b
สาบหมา ผสมกับ Benlate	6.29	5.15 bc	6.41 bc	7.36 b
สาบหมา ผสมกับ Antracol	8.83	7.84 abc	10.12 abc	9.07 ab
สาบหมา (EUP I)	9.79	8.93 ab	11.06 ab	11.09 ab
ชุดควบคุม (Control)	11.08	10.44 a	13.03 a	12.64 a
%CV	84.18	68.86	53.95	77.94

[1] ค่าเฉลี่ยจาก 3 ซ้ำๆละ 10 ต้นในแต่ละกรรมวิธี

[2] ตัวอักษรเหมือนกันใน column เดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

ภาพที่ 9 ประสิทธิภาพของสารสกัดสาบหมา(EUP I) และสารกำจัดเชื้อราในการควบคุมโรคใบจุดตานก และใบไหม้โฟมอพซิสของสตรอเบอรี่ในสภาพแปลงปลูก ซึ่งไม่ได้ทำการปลูกเชื้อ

1) Control 2) EUP I 3) EUP I + Antracol 4) EUP I + Benlate 5) Antracol สลับ Benlate

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการนำใบสตรอเบอรี่ที่แสดงอาการใบจุด ซึ่งเก็บรวบรวมมาจากแปลงปลูกที่สถานีเกษตรหลวงอ่างขาง อ. ฝาง จ.เชียงใหม่ มาตรวจหาเชื้อสาเหตุโดยวิธี Free Hand Section พบว่าใบจุดมีลักษณะกลม สีม่วงแดงคล้ายตานก กลางแผลมีสีน้ำตาลหรือสีเทา เมื่อตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์พบโคนิเดียมีรูปไข่ หรือรูปทรงกระบอก ไม่มีสี มีผนังกั้น 0-3 อัน โคนิเดียเจริญบนก้านโคนิดิโอฟอร์ซึ่งมีขนาดสั้น ไม่มีสี ไม่แตกกิ่งก้าน และพบรอยบนก้านซึ่งเกิดจากการหลุดของโคนิเดีย (scar) ชัดเจน ลักษณะดังกล่าวตรงกับเชื้อรา *Ramularia tulasnei* และเมื่อทำการแยกเชื้อราจากบริเวณแผลไปเลี้ยงบนอาหาร PDA พบว่าเชื้อราเจริญช้ามากใช้เวลา 20 วัน จึงมีขนาดโคโลนี 1 เซนติเมตร สร้างเม็ดสี (pigment) ทำให้ PDA เป็นสีแดงและไม่พบการสร้างสปอร์ แต่เมื่อนำไปเลี้ยงโดยวิธี Spread Plate ในสภาพมืดที่อุณหภูมิ 18 ± 2 ^{0}C พบว่าเชื้อราสร้างสปอร์จำนวนมากเมื่ออายุ 1 สัปดาห์ ทั้งนี้อาจเป็นเพราะว่าที่อุณหภูมินี้เหมาะสมต่อการเจริญและสร้างสปอร์ เป็นไปตามที่ Elliott (1985) ได้รายงานว่าที่อุณหภูมิระหว่าง 18-24 ^{0}C เหมาะสมต่อการสร้างสปอร์ของรานี้ ส่วนใบสตรอเบอรี่ที่แสดงอาการใบไหม้ อาการระยะแรกมีสีน้ำตาลอ่อน พบจุดสีดำๆ บริเวณแผลจำนวนมาก เมื่อตัดชิ้นส่วนของใบพืชตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบโครงสร้างพิคนิเดีย รูปร่างกลมสีดำ ฝังอยู่ในเนื้อเยื่อใต้ผิวพืช มีช่องเปิดโผล่พ้นผิวของพืชออกมา โคนิเดียมีเซลล์เดียว ไม่มีสี เมื่อแยกเชื้อราสาเหตุบริเวณแผลที่ใบ มาเลี้ยงบนอาหาร PDA พบว่าโคโลนีระยะแรกมีสีขาว ลักษณะกลมต่อมาเปลี่ยนเป็นสีครีมประมาณ 2 สัปดาห์ พบการสร้างพิคนิเดียบนอาหาร PDA ซึ่งตรงกับเชื้อรา *Phomopsis obscurans* ตามที่ Maas (1998) ได้รายงานไว้

จากการทดสอบประสิทธิภาพเบื้องต้นของสารสกัดด้วยน้ำจากพืชสมุนไพร 5 ชนิดในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคใบไหม้โฟมอพซิส โดยวิธี Culture Disc พบว่าสารสกัดเทียนบ้านและสาบหมาที่ความเข้มข้น 30% ให้ผลยับยั้งดีที่สุด(100%) ซึ่งแตกต่างทางสถิติจากสารสกัดชนิดอื่นๆ ที่ระดับความเชื่อมั่น 99% ส่วนสารสกัดด้วยเมธานอลจากพืชสมุนไพร 4 ชนิดที่ความเข้มข้น 10,000 ppm ในการยับยั้งเชื้อรา *P. obscurans* โดยวิธีที่กล่าวมาแล้ว พบว่าสารสกัดสาบหมายับยั้งการเจริญได้ดีที่สุดคือ 83.30% ซึ่งใกล้เคียงกับสารสกัดทองพันชั่ง (81.57%) และแตกต่างทางสถิติจากสารสกัดชนิดอื่นๆ ส่วนการทดสอบกับเชื้อรา *R. tulasnei* สาเหตุโรคใบจุดตานก พบว่าสารสกัดช้าพลูและทองพันชั่งที่ความเข้มข้น 10,000 ppm สามารถยับยั้งการเจริญได้ 100% และมีประสิทธิภาพในการยับยั้งได้ดีกว่าโรคใบไหม้โฟมอพซิส เมื่อทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดสาบหมาด้วยเมธานอลผสมกับสารกำจัดราเบนเลทและที่ผสมกับแอนทราโคล เปรียบเทียบกับเบนเลท, แอนทราโคล และสารสกัดอย่างใดอย่างหนึ่ง

พบว่าสารสกัดเพียงอย่างเดียวสามารถยับยั้งได้ 89.67% เมื่อนำมาผสมกับเบนเลทให้ผลยับยั้งสูงขึ้นคือ 92.48% ในขณะที่เบนเลทเพียงอย่างเดียวยับยั้งได้เพียง 64.56% โดยเฉพาะสารสกัดสาบหมาผสมกับเบนเลทให้ผลดีกว่าการใช้เบนเลทเพียงอย่างเดียว จากผลที่ได้อาจเป็นเพราะว่าสารออกฤทธิ์ที่อยู่ในพืชซึ่งปกติมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ดีอยู่แล้ว เมื่อนำมาผสมกับสารกำจัดราทำให้มีผลส่งเสริมกันมากขึ้น และมีประสิทธิภาพสูงขึ้น และการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดสาบหมาด้วยอะซิโตน เฮกเซน และเมธานอล ที่ความเข้มข้น 3 ระดับในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *P. obscurans* ผลปรากฏว่าสารสกัดด้วยตัวทำละลายทั้ง 3 ชนิดให้ผลยับยั้งการเจริญ 100% ในทุกระดับความเข้มข้น แต่สารสกัดเมธานอล ที่ความเข้มข้น 1,000 ppm สามารถยับยั้งได้ 75.53%

จากการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืช 4 ชนิดในการควบคุมโรคใบไหม้โฟมอพซิสโดยใช้ Detached Leaf Technique ผลปรากฏว่าสารสกัดด้วยน้ำจากทองพันชั่งให้ผลยับยั้งโรคได้ดีที่สุดมีเปอร์เซ็นต์พื้นที่ใบที่เป็นโรค 6.67% เมื่อเทียบกับชุดควบคุม ในขณะที่แอนทราโคลไม่ปรากฏอาการของโรคใบไหม้โฟมอพซิส ส่วนสารสกัดด้วยน้ำจากสาบหมาและช้าพลูและสารสกัดด้วยเมธานอลจากช้าพลูไม่สามารถยับยั้งการเกิดโรคได้เมื่อเทียบกับชุดควบคุม จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าประสิทธิภาพในการควบคุมโรคมีความแตกต่างในพืชแต่ละชนิดและตัวทำละลาย โดยเฉพาะสารสกัดด้วยน้ำจากสาบหมาไม่สามารถยับยั้งการเกิดโรคได้ แต่เมื่อนำมาสกัดด้วยเมธานอลพบว่าให้ผลยับยั้งโรคสูงขึ้น จึงได้นำสารสกัดด้วยเมธานอลจากสาบหมามาศึกษาต่อ โดยเปรียบเทียบสารสกัดสาบหมากับสารกำจัดราเบนเลท และแอนทราโคลในการควบคุมโรคใบไหม้โฟมอพซิส โดยวิธีการดังกล่าวแล้ว ผลปรากฏว่าสารสกัดสาบหมาเพียงอย่างเดียวและที่ผสมกับเบนเลทให้ผลควบคุมโรคดีที่สุดไม่ปรากฏอาการของโรคใบไหม้โฟมอพซิส ซึ่งแตกต่างจากชุดควบคุม ในขณะที่พ่นด้วยเบนเลท และแอนทราโคลเพียงอย่างเดียวมีเปอร์เซ็นต์พื้นที่ใบที่เป็นโรค 10% และ 5% ตามลำดับ

จากการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดด้วยอะซิโตนจากสาบหมา (EUP I) ผสมกับสารกำจัดราเบนเลทและที่ผสมแอนทราโคลในอัตราครึ่งหนึ่งของอัตราที่แนะนำ เปรียบเทียบกับเบนเลท, แอนทราโคลและสารสกัดอย่างใดอย่างหนึ่ง ในการควบคุมโรคใบจุดใบไหม้ของสตรอเบอรี่ในสภาพแปลงปลูก(เกิดโรคตามธรรมชาติ) โดยทำการฉีดพ่นทุกสัปดาห์ จำนวน 9 ครั้ง ผลปรากฏว่าการใช้สารสกัดสาบหมาเพียงอย่างเดียวไม่สามารถควบคุมโรคได้ แต่เมื่อนำสารสกัดสาบหมาผสมเบนเลทสามารถลดเปอร์เซ็นต์ใบที่เป็นโรคได้ 14.73% ซึ่งใกล้เคียงกับการใช้เบนเลท พ่นสลับกับแอนทราโคลซึ่งลดเปอร์เซ็นต์พื้นที่ใบที่เป็นโรคได้ 20.67% เมื่อเทียบกับชุดควบคุม จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากพืชสมุนไพรส่วนใหญ่ จะมีประสิทธิภาพในการป้องกันมากกว่าการรักษา สารสกัดเพียงอย่างเดียวไม่มีคุณสมบัติในการแทรกซึมเข้าไปฆ่าสปอร์และเส้นใยของเชื้อราในเนื้อเยื่อพืชได้

ประกอบกับสารสกัดสมุนไพรจะสลายตัวและเสื่อมประสิทธิภาพได้ง่ายเมื่อได้รับแสงแดด แต่เมื่อนำสารสกัดมาผสมกับเบนเลทซึ่งเป็นสารประเภทดูดซึมพบว่าทำให้มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคสูงขึ้น และมีประสิทธิภาพดีกว่าที่ผสมด้วยแอนทราโคลซึ่งเป็นสารประเภทสัมผัส ประกอบกับขณะที่ทำการทดลองนั้นเป็นช่วงที่อยู่ในฤดูฝนทำให้สารประเภทดูดซึมมีประสิทธิภาพดีกว่าสารประเภทสัมผัส นอกจากนี้สารสกัดจากสาบหมานั้นสามารถใช้วิธีการสกัดแบบง่ายๆ ซึ่งเกษตรกรสามารถนำไปใช้ได้โดยการโขลกพืชให้ละเอียด แล้วนำไปต้มให้เดือด กรองเอาแต่น้ำไปฉีดพ่น หรือนำไปผสมกับสารกำจัดราในอัตราครึ่งหนึ่ง ซึ่งจะช่วยลดการใช้สารเคมี และลดปัญหาต่างๆ ที่เกิดจากการใช้สารเคมี

โครงการหลวง

เอกสารอ้างอิง

กรมส่งเสริมการเกษตร. 2541. สตรอเบอรี่. เอกสารแนะนำที่ 106. ฝ่ายเอกสารแนะนำ กองเกษตรสัมพันธ์ กรมส่งเสริมเกษตร. กรุงเทพฯ. 36 หน้า

ขจรศักดิ์ ตระกูลพัว. 2539. ผลของสารสกัดจากพืชสมุนไพรแปดชนิดต่อการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืชและโรคผิวหนังที่คัดเลือก. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาชีววิทยา มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 217 หน้า.

นิตยา กันหลง, พัน อินทร์จันทร์, สมชาย กันหลง, พัฒนา สนธิรัตน์ และประเทืองศรี สินชัยศรี. 2540. การควบคุมโรคหอมเลื้อยโดยใช้สารสกัดจากพืช. วารสารโรคพืช 12: 143-153.

นุชนารถ จงเลขา, สุคนธ์ทิพย์ สมบัติ และสมภพ ก๊วยศรีพงษ์. 2542. การใช้สารสกัดจากพืชสมุนไพรในการควบคุมโรคของพืชผักบางชนิด. รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์รหัสวิจัยที่ 3224/5 มูลนิธิโครงการหลวง. 67 หน้า.

นุชนารถ จงเลขา, สุคนธ์ทิพย์ สมบัติ, ศิริโสภา อินชะ และลออรัตน์ สุระจินดา. 2543. การใช้สารสกัดจากพืชสมุนไพรในการควบคุมโรคของไม้ตัดดอกบางชนิด. รายงานฉบับสมบูรณ์รหัสวิจัยที่ 3015-3019 มูลนิธิโครงการหลวง. 45 หน้า.

รังสี เจริญสถาพร, สมาน แก้วบุญเรือง, ประเสริฐ ปิ่นประยงค์ และวิโรจน์ แก้วเรือง. 2538. สารต่อต้านซึ่งสกัดจากหม่อนพันธุ์ต่างๆ ต่อเชื้อราสาเหตุโรคพืชบางชนิด. การประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติ ครั้งที่ 2 (1) : 39-53.

วรรณวิภา มรรยาวุฒิ. 2532. การศึกษาโรคใบจุดที่เกิดจากเชื้อรา *Ramularia tulasnei* ของสตรอเบอรี่และการทดสอบสารเคมีในการควบคุมโรค. ปัญหาพิเศษระดับปริญญาตรี ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 45 หน้า.

วิราภรณ์ มงคลไชยสิทธิ์. 2535. ประสิทธิภาพของพืชสมุนไพรบางชนิดที่มีผลต่อการเจริญของเชื้อรา *Cuvularia lunata* สาเหตุโรคใบจุดของข้าวโพด. มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 57 หน้า.

สุคนธ์ทิพย์ สมบัติ. 2543. ผลของสารสกัดจากพืชสมุนไพรในการควบคุมโรคใบจุดออลเทอนาเรียของกะหล่ำปลี. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์) สาขาวิชาโรคพืช มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 95 หน้า.

อมรศรี ตุ้ยระพิงค์. 2544. สตรอเบอรี่ปลอดสารพิษเมืองเชียงราย. เดลินิวส์. 26(2). หน้า 27.

เอื้องคุณ แซ่อึ้ง . 2524. ประสิทธิภาพของขมิ้นอ้อย เทียนขาวและเทียนตากบ ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราบางชนิด. ปัญหาพิเศษปริญญาตรี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ บางแสน. 39 หน้า.

Elliott, V.J. 1985. Temperature response models of spore germination and sporulation for *Ramularia tulasnei*. Phytopathology 73: 1318 (abstr.)

Eshenaur, B.C. and R.D. Milholland.1989. Factors Influencing the Growth of *Phomopsis obscurans* and Disease Development on Strawberry Leaf and Runner Tissue. Phytopathology 73: 814-819.

Maas, J.L. 1998. Compendium of Strawberry Diseases. The American Phytopathological Society. St. Pual, Minnesota 5521-2097, USA.98 p.

Nemec, S. 1972. Temperature effect on Mycosphaerella fragariae and strawberry leaf spot development. Plant Dis Peptr. 53: 345-348.

Samerchai Chuenchitt, S. Phongpaichit and S. Rakiad. 1994. Botanical extract for control of anthracnose disease. P. 20 *In* Abstracts of Papers. Joint USU- USM-PSU Scientific seminar in IMT triangle zone, Medan. Organized by Univ. Sumatera Utara in Cooperation with Univ. Sains Malaysia and Prince of Songkla Univ.

ภาคผนวก

โครงการหลวง

$$\% \text{ inhibition} = \frac{(R1 - R2)}{R1} \times 100$$

โดย R1 = เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อราในชุดควบคุม

R2 = เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อราสาเหตุในจานอาหารเลี้ยงเชื้อร่วม

โครงการหลวง