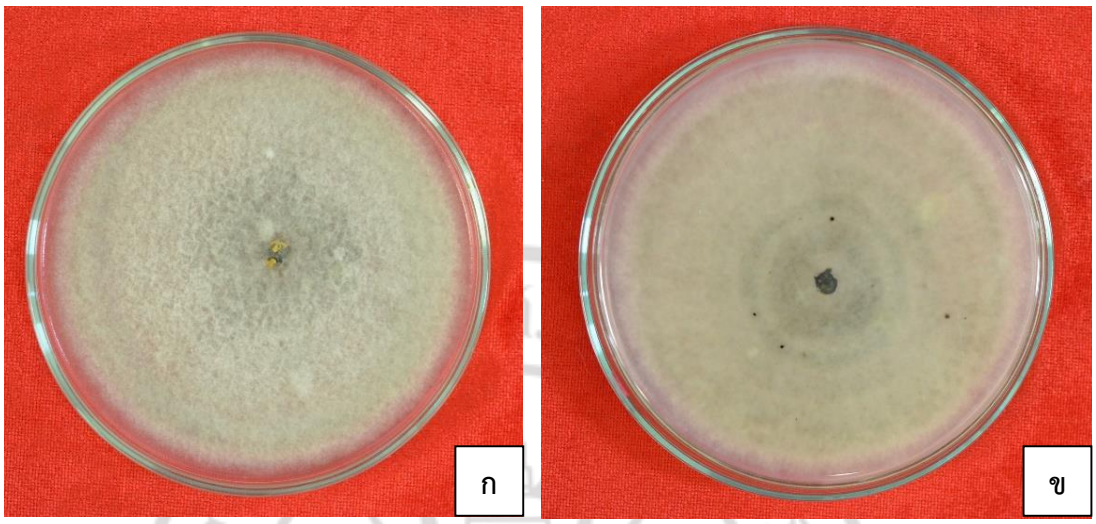
บทที่ 4
ผลการวิจัย

ผลการแยกเชื้อบริสุทธิ์

จากการนำผลมะม่วงอกร่องที่เป็นโรคแอนแทรคโนส (ภาพที่ 4.1) จากสวนมะม่วงของเกษตรกร บ้านเสม็ดงาม อำเภอเมือง จังหวัดจันทบุรี ในเดือนกุมภาพันธ์ 2563 มาทำการแยกเชื้อราบริสุทธิ์ แล้วตรวจดูลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา เช่น โคโลนีเชื้อราบนอาหาร PDA โครงสร้างเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์ จากนั้นนำเชื้อบริสุทธิ์ที่ได้ไปทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรค ผลการทดลองพบว่า โคโลนีเชื้อรามีลักษณะกลมขอบเรียบ สีขาวปนเทา เส้นใยละเอียด มีการเจริญแบบวงแหวนเป็นชั้น ๆ เชื้อรามีการสร้างกลุ่มเมือกของสปอร์ (spore mass) สีส้มเป็นจุดเล็ก ๆ บนอาหารเลี้ยงเชื้อ ไม่สร้าง setae (ภาพที่ 4.2 ก) โดยโคโลนีของเชื้อรามีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 9 เซนติเมตร เมื่อเลี้ยงบนอาหาร PDA เป็นเวลา 7 วัน เมื่อตรวจดูใต้จานอาหารเลี้ยงเชื้อพบว่าโคโลนีมีสีขาวปนเทา มีลักษณะการเจริญเป็นวงซ้อนกัน (ภาพที่ 4.2 ข) เมื่อทำการเขี่ยเชื้อตรงบริเวณกลุ่มของสปอร์มาตรวจดูโครงสร้างเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบคอมพาวน์ พบว่าเส้นใยมีผนังกั้นตามขวาง เส้นใยใสไม่สี สปอร์มีลักษณะเป็นเซลล์เดียว ใสไม่มีสี รูปร่างยาวรีถึงทรงกระบอกปลายมน เมื่อย้อมด้วย Lactophenol cotton blue พบโครงสร้างเชื้อราติดสีฟ้าอ่อน (ภาพที่ 4.3) ผลมะม่วงที่แสดงอาการแอนแทรคโนสหลังการปลูกเชื้อรา เริ่มแรกจะปรากฏเป็นจุดดำเล็กต่อมาแผลจะลุกลามมีลักษณะเป็นแผลบุ๋มตัวสีดำลึกลงไปบนผิวผล ทำให้เกิดอาการเน่าโดยไม่พบเห็นการเจริญของเส้นใยของเชื้อราบนผลมะม่วง (ภาพที่ 4.4)

ภาพที่ 4.1 อาการของโรคแอนแทรคโนสบนผลมะม่วงอกร่อง



ภาพที่ 4.2 โคโลนีเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* บนอาหาร PDA เมื่ออายุ 7 วัน
ก. ลักษณะโคโลนีของเชื้อราด้านหน้าจานอาหาร PDA
ข. ลักษณะโคโลนีของเชื้อราด้านหลังจานอาหาร PDA

ภาพที่ 4.3 เส้นใย และสปอร์เชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของมะม่วงอกร่อง ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ Light microscope เมื่อย้อมด้วย Lactophenol cotton blue

ภาพที่ 4.4 อาการของโรคแอนแทรคโนสบนผลมะม่วงอกร่อง 6 วัน หลังการปลูกเชื้อเพื่อพิสูจน์โรค

ผลการสกัดสารสกัดหยาบจากอบเชย

จากการนำผงอบเชยแห้งที่บดละเอียดพบว่า ผงอบเชยมีลักษณะเป็นผงละเอียดสีน้ำตาลเข้ม เมื่อนำผงอบเชยปริมาณ 200 กรัม มาเติมเอทิลแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 800 มิลลิลิตร หมักเป็นเวลา 7 วัน นำสารละลายที่กรองได้ไปทำให้สารสกัดเข้มข้นขึ้นด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ (ภาพที่ 4.5) พบว่าสารสกัดหยาบจากอบเชยมีสีน้ำตาลแดงลักษณะข้นหนืด (ภาพที่ 4.6) เมื่อนำไปชั่งน้ำหนัก พบว่าสารสกัดหยาบจากอบเชยมีน้ำหนักเท่ากับ 33.08 กรัม เก็บสารสกัดหยาบจากอบเชยไว้ในขวดแก้วสีชา แล้วเก็บรักษาในตู้เย็นเพื่อใช้ในการศึกษาขั้นตอนต่อไป

ภาพที่ 4.5 เครื่องระเหยสุญญากาศ (rotary vacuum evaporator)

ภาพที่ 4.6 สารสกัดหยาบจากอบเชย

ผลการควบคุมโรคแอนแทรคโนสบนใบมะม่วงอกร่อง

จากการทดสอบผลของสารสกัดหยาบจากอบเชย และน้ำมันหอมระเหยจากอบเชยที่ระดับความเข้มข้น 0.50, 1.00 และ 1.50 เปอร์เซ็นต์ เปรียบเทียบกับสารเคมีคาร์เบนดาซิม ความเข้มข้น 0.05 เปอร์เซ็นต์ ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสบนใบมะม่วงอกร่องที่ได้ทำการปลูกเชื้อด้วยเส้นใยของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ก่อนการจุ่มสารทดสอบ หลังการทดลอง 5 วัน พบว่าสารเคมีคาร์เบนดาซิม สารสกัดหยาบจากอบเชย และน้ำมันหอมระเหยจากอบเชยทุกระดับความเข้มข้นที่ใช้ในการทดลอง มีผลยับยั้งความรุนแรงของโรคแอนแทรคโนสบนใบของมะม่วงได้ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม โดยพบว่ามีขนาดแผลบนใบเล็กกว่าชุดควบคุม (ภาพที่ 4.7) เมื่อนำไปคำนวณเปอร์เซ็นต์ยับยั้งโรคแอนแทรคโนส พบว่าทุกทรีตเม้นต์มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งโรคแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (ตารางที่ 1) ทรีตเม้นต์ที่ให้ผลควบคุมโรคบนใบที่ดีที่สุดคือ น้ำมันหอมระเหยจากอบเชยทุกระดับความเข้มข้น คือ 0.50, 1.00 และ 1.50 เปอร์เซ็นต์ มีผลการยับยั้งโรคบนใบมะม่วงเท่ากับ 100.00 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม รองลงมาคือ สารสกัดหยาบจากอบเชยความเข้มข้น 1.50 เปอร์เซ็นต์, สารเคมีคาร์เบนดาซิมความเข้มข้น 0.05 เปอร์เซ็นต์ สารสกัดหยาบจากอบเชยความเข้มข้น 1.00 และ 0.50 เปอร์เซ็นต์ พบว่ามีผลการยับยั้งโรคบนใบเท่ากับ 67.78, 63.25, 46.85 และ 25.52 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ นอกจากนี้ ยังพบว่าใบมะม่วงที่จุ่มน้ำมันหอมระเหยจากอบเชยทุกระดับความเข้มข้นมีความเป็นพิษต่อใบมะม่วง (phytotoxic) โดยใบเปลี่ยนสีจากสีเขียวเป็นสีเหลืองเหมือนใบไหม้ ภายหลังการจุ่มน้ำมันหอมระเหย (ภาพที่ 4.8)

ตารางที่ 4.1 ผลของสารสกัดหยาบจากอบเชย และน้ำมันหอมระเหยจากอบเชยในการควบคุมเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสบนใบมะม่วงอกร่อง หลังทำการทดลอง 5 วัน

	ทรีตเม้นต์	**เปอร์เซ็นต์การยับยั้งโรคบนใบ**
1	ชุดควบคุม (น้ำกลั่น)	0.00±0.00 e
2	สารสกัดหยาบจากอบเชย 0.50 เปอร์เซ็นต์	25.52±5.28 d
3	สารสกัดหยาบจากอบเชย 1.00 เปอร์เซ็นต์	46.85±4.50 c
4	สารสกัดหยาบจากอบเชย 1.50 เปอร์เซ็นต์	67.78±4.33 b
5	น้ำมันหอมระเหยจากอบเชย 0.50 เปอร์เซ็นต์	100.00±0.00 a
6	น้ำมันหอมระเหยจากอบเชย 1.00 เปอร์เซ็นต์	100.00±0.00 a
7	น้ำมันหอมระเหยจากอบเชย 1.50 เปอร์เซ็นต์	100.00±0.00 a
8	สารเคมีคาร์เบนดาซิม อัตราแนะนำ	63.25±3.89 b
	CV.	5.10%
	F-test	**

หมายเหตุ : ** แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

1/ ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่ตามด้วยตัวอักษรภาษาอังกฤษที่เขียนกำกับที่แตกต่างกัน มีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's multiple range test (DMRT)

ภาพที่ 4.7 อาการของโรคแอนแทรคโนสบนใบมะม่วงอกร่องที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางแผลต่างกัน

ภาพที่ 4.8 อาการไหม้บนใบมะม่วงอกร่องภายหลังการจุ่มน้ำมันหอมระเหยจากอบเชย
ก. น้ำมันหอมระเหยจากอบเชยความเข้มข้น 1.00 เปอร์เซ็นต์
ข. น้ำมันหอมระเหยจากอบเชยความเข้มข้น 1.50 เปอร์เซ็นต์

ผลการควบคุมโรคแอนแทรคโนสบนผลมะม่วงอกร่อง

จากการทดลองจุ่มผลมะม่วงพันธุ์อกร่องในสารสกัดหยาบจากอบเชยความเข้มข้น 1.00 และ 1.50 เปอร์เซ็นต์, น้ำมันหอมระเหยจากอบเชยความเข้มข้น 1.00 และ 1.50 เปอร์เซ็นต์, สารสกัดหยาบจากอบเชยความเข้มข้น 1.00 เปอร์เซ็นต์ร่วมกับกัมอะราบิกความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์, สารสกัดหยาบจากอบเชยความเข้มข้น 1.50 เปอร์เซ็นต์ร่วมกับกัมอะราบิกความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์, น้ำมันหอมระเหยจากอบเชยความเข้มข้น 0.25 เปอร์เซ็นต์ร่วมกับกัมอะราบิกความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ และกัมอะราบิกความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์เพียงอย่างเดียวบนผลมะม่วงอกร่อง โดยนำผลมะม่วงที่เตรียมไว้จากขั้นตอนที่ 4.1 มาทำการปลูกเชื้อด้วยเส้นใยเชื้อรา *C. gloeosporioides* เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นทำการทดสอบโดยการจุ่มผลมะม่วงในสารสกัดหยาบจากอบเชย น้ำมันหอมระเหยจากอบเชย และกัมอารบิก หลังการทดลองเป็นเวลา 6 วัน เมื่อผลมะม่วงสุกพบว่ามีผลการยับยั้งโรคแอนแทรคโนสบนผลมะม่วงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (ตารางที่ 4.2) ทรีตเม้นต์ที่ให้ผลควบคุมโรคบนผลที่ดีที่สุดคือ น้ำมันหอมระเหยจากอบเชยความเข้มข้น 0.50 เปอร์เซ็นต์ร่วมกับกัมอาราบิกความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ โดยมีผลการยับยั้งโรคบนผลมะม่วงเท่ากับ 83.16 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับการจุ่มน้ำกลั่นในชุดควบคุม รองลงมาคือ น้ำมันหอมระเหยจากอบเชยความเข้มข้น 0.25 เปอร์เซ็นต์ร่วมกับกัมอะราบิกความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์, สารสกัดหยาบจากอบเชยความเข้มข้น 1.50 เปอร์เซ็นต์ร่วมกับกัมอะราบิกความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์, สารสกัดหยาบจากอบเชยความเข้มข้น 1.00 เปอร์เซ็นต์ร่วมกับกัมอะราบิกความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์, น้ำมันหอมระเหยจากอบเชย ความเข้มข้น 0.50 เปอร์เซ็นต์, น้ำมันหอมระเหยจากอบเชยความเข้มข้น 0.25 เปอร์เซ็นต์, สารสกัดหยาบจากอบเชยความเข้มข้น 1.50 เปอร์เซ็นต์, สารสกัด

หยาบจากอบเชยความเข้มข้น 1.00 เปอร์เซ็นต์ และกัมอะราบิกความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ โดยมีผลการยับยั้งโรคบนผลเท่ากับ 60.24, 58.73, 55.14, 45.31, 37.37, 28.92, 17.54 และ 5.69 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

ตารางที่ 4.2 ผลของสารสกัดหยาบจากอบเชย น้ำมันหอมระเหยจากอบเชย และกัมอะราบิกในการควบคุมเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสบนผลมะม่วงอกร่อง หลังการทดลอง 6 วัน

	ทรีตเม้นต์	**เปอร์เซ็นต์การยับยั้งโรคบนผล**
1	ชุดควบคุม (น้ำกลั่น)	0.00±0.00 g
2	สารสกัดหยาบจากอบเชย 1.00 เปอร์เซ็นต์	17.54±5.07 f
3	สารสกัดหยาบจากอบเชย 1.50 เปอร์เซ็นต์	28.92±3.54 e
4	น้ำมันหอมระเหยจากอบเชย 0.25 เปอร์เซ็นต์	37.37±6.79 d
5	น้ำมันหอมระเหยจากอบเชย 0.50 เปอร์เซ็นต์	45.31±8.99 c
6	สารสกัดหยาบจากอบเชย 1.00 เปอร์เซ็นต์+กัมอะราบิก 10 เปอร์เซ็นต์	55.14±6.52 b
7	สารสกัดหยาบจากอบเชย 1.50 เปอร์เซ็นต์+กัมอะราบิก 10 เปอร์เซ็นต์	58.73±5.04 b
8	น้ำมันหอมระเหยจากอบเชย 0.25 เปอร์เซ็นต์+กัมอะราบิก 10 เปอร์เซ็นต์	60.24±6.31 b
9	น้ำมันหอมระเหยจากอบเชย 0.50 เปอร์เซ็นต์+กัมอะราบิก 10 เปอร์เซ็นต์	83.16±4.20 a
10	กัมอะราบิก 10 เปอร์เซ็นต์	5.69+4.36 g
	CV.	14.19%
	F-test	**

หมายเหตุ : ** แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

[1/] ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่ตามด้วยตัวอักษรภาษาอังกฤษที่เขียนกำกับที่แตกต่างกัน มีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's multiple range test (DMRT)

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี