ผลของสารสกัดหยาบจากใบเสม็ดขาวต่อการยับยั้งเชื้อรา สาเหตุโรคใบร่วงชนิดใหม่ในยางพารา

Effect of *Melaleuca cajuputi* Crude Extract on the Inhibition of Fungi Caused by Falling Leaf Disease of Rubber Tree

นางสาวทัศนีย์ เจ๊ะสอเหาะ **รหัสนักศึกษา 6160601054**

นางสาวนัยยาลีน ดะละ **รหัสนักศึกษา 6160601071**

รายงานฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาวิชาปัญหาพิเศษ (06-354-261)

ตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต (เกษตรศาสตร์)

คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยนราธิวาสราชนครินทร์

ปีการศึกษา 2564

ผลของสารสกัดหยาบจากใบเสม็ดขาวต่อการยับยั้งเชื้อรา
สาเหตุโรคใบร่วงชนิดใหม่ในยางพารา

Effect of *Melaleuca cajuputi* Crude Extract on the Inhibition of Fungi Caused by Falling Leaf Disease of Rubber Tree

นางสาวทัศนีย์ เจ๊ะสอเหาะ **รหัสนักศึกษา 6160601054**

นางสาวนัยยาลีน ดะละ **รหัสนักศึกษา 6160601071**

รายงานฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาวิชาปัญหาพิเศษ (06-354-261)

ตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต (เกษตรศาสตร์)

คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยนราธิวาสราชนครินทร์

ปีการศึกษา 2564

ใบรับรองปัญหาพิเศษ

คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยนราธิวาสราชนครินทร์

ปีการศึกษา 2564

เรื่อง ผลของสารสกัดหยาบจากใบเสม็ดขาวต่อการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคใบร่วงชนิดใหม่ในยางพารา

นักศึกษา นางสาวทัศนีย์ เจ๊ะสอเหาะ รหัสนักศึกษา 6160601054

นางสาวนัยยาลีน ดะละ รหัสนักศึกษา 6160601071

รายงานวิจัยฉบับนี้ได้รับการตรวจสอบและอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาวิชาปัญหาพิเศษ ตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต (เกษตรศาสตร์) คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยนราธิวาสราชนครินทร์ ภาคการศึกษาปลาย ปีการศึกษา 2564

……. ประธานกรรมการ	…… อาจารย์ที่ปรึกษา
(อาจารย์ ดร. สัญทัศน์ สินจรูญศักดิ์)	(ผศ.ดร.สายทอง แก้วฉาย)
……./……./…….	……./……./…….
…….. กรรมการ	…….. อาจารย์ประจำวิชา
(อาจารย์ ดร. สุไลมาน เจ๊ะอาบู)	(อาจารย์ ดร.โรสลาวาตี โตะแอ)
……./……./…….	……./……./…….
…….. กรรมการ	…… หัวหน้ากลุ่มวิชาพืชศาสตร์
(อาจารย์ จักรพงศ์ จิระแพทย์)	(อาจารย์ ดร. สุไลมาน เจ๊ะอาบู)
……./……./…….	……./……./…….

เรื่อง ผลของสารสกัดหยาบจากใบเสม็ดขาวต่อการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคใบร่วงชนิดใหม่ในยางพารา

นักศึกษา นางสาวทัศนีย์ เจ๊ะสอเหาะ รหัสนักศึกษา 6160601054
นางสาวนัยยาลีน ดะละ รหัสนักศึกษา 6160601071

หลักสูตร วิทยาศาสตรบัณฑิต (เกษตรศาสตร์)

ปีการศึกษา 2564

อาจารย์ที่ปรึกษา ผศ.ดร.สายทอง แก้วฉาย

บทคัดย่อ

การศึกษาผลของสารสกัดหยาบจากใบเสม็ดขาวต่อการควบคุมการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum* sp. สาเหตุโรคใบร่วงชนิดใหม่ในยางพารา โดยใช้วิธี Poisoned food technique ซึ่งใช้สารสกัดหยาบจากใบเสม็ดขาวที่สกัดด้วยน้ำและสกัดด้วยเอทานอล สารสกัดหยาบจากใบเสม็ดขาวที่สกัดด้วยน้ำจะใช้อัตราส่วน 1:10, 1:15, 1:20 และ 1:25 w/v พบว่า สารสกัดที่สกัดด้วยน้ำโดยใช้อัตราส่วนที่ 1:10 w/v สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Colletotrichum* sp. สูงสุดที่ 23.75 เปอร์เซ็นต์ และสารสกัดหยาบจากใบเสม็ดขาวที่สกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ที่ความเข้มข้น 400, 600, 800 และ 1000 มิลลิกรัม/ลิตร พบว่า ความเข้มข้นที่ 1000 มิลลิกรัม/ลิตร มีการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Colletotrichum* sp. สูงที่สุด 56.67 เปอร์เซ็นต์ และมีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 0.01

คำสำคัญ:สารสกัดหยาบ ใบเสม็ดขาว โรคใบร่วงชนิดใหม่ในยางพารา

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยฉบับนี้สำเร็จลงได้ดีด้วยความกรุณาอย่างสูงจาก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สายทอง แก้วฉาย อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ ที่กรุณาให้คำแนะนำคำปรึกษาเกี่ยวกับข้อมูลต่าง ๆ ตลอดจนตรวจทานข้อมูลและรูปเล่มวิจัยให้มีความสมบูรณ์จนสำเร็จลุล่วง

ขอขอบคุณ อาจารย์ ดร.โรสลาวาตี โตะแอ อาจารย์ประจำวิชาที่ช่วยเหลือให้คำปรึกษาติดตามการดำเนินงานการทำปัญหาพิเศษจนบรรลุตามวัตถุประสงค์รายวิชา

ขอขอบคุณประธานสอบปัญหาพิเศษ อาจารย์ ดร.สัญทัศน์ สินจรูญศักดิ์ และกรรมการสอบปัญหาพิเศษ อาจารย์ ดร.สุไลมาน เจ๊ะอาบู และอาจารย์จักรพงศ์ จิระแพทย์ ที่สละเวลาสอบปัญหาพิเศษและให้คำแนะนำแก้ไขให้มีความสมบูรณ์มากขึ้น

ขอขอบคุณอาจารย์และเจ้าหน้าที่คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยนราธิวาสราชนครินทร์ ที่ให้ความอนุเคราะห์และอำนวยความสะดวกในการศึกษาทดลอง ตลอดจนการใช้เครื่องมือและอุปกรณ์ต่าง ๆ ตลอดการทดลอง ขอบคุณเพื่อนคณะเกษตรศาสตร์ที่คอยให้ความช่วยเหลือและให้กำลังใจในระหว่างที่ศึกษาและทำการทดลองมาโดยตลอด

สุดท้ายนี้ขอขอบคุณบิดา มารดา และพี่น้องทุกคนในครอบครัวซึ่งเปิดโอกาสให้ได้รับการศึกษาเล่าเรียน ตลอดจนคอยช่วยเหลือและให้กำลังใจผู้วิจัยเสมอมาจนสำเร็จการศึกษา

ทัศนีย์ เจ๊ะสอเหาะ

นัยยาลีน ดะละ

พฤษภาคม 2565

สารบัญ

บทคัดย่อ	(1)
กิตติกรรมประกาศ	(2)
สารบัญ	(3)
สารบัญตาราง	(5)
สารบัญภาพ	(6)
บทที่ 1 บทนำ	
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ	1
1.2 วัตถุประสงค์	2
1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	
2.1 เอกสารที่เกี่ยวข้อง	3
2.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	5
บทที่ 3 วิธีการดำเนินการวิจัย	
3.1 วัสดุและอุปกรณ์	9
3.2 การเตรียมเชื้อสาเหตุโรค	9
3.3 การพิสูจน์การเกิดโรค	9
3.4 การเตรียมสารสกัดจากใบเสม็ดขาว	10
3.5 การทดสอบ	10
3.6 การเก็บข้อมูล	11
3.7 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ	11
3.8 ระยะเวลาและสถานที่ในการดำเนินการวิจัย	11
บทที่ 4 ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง	
4.1 เชื้อราสาเหตุโรคพืช	12
4.2 การทดสอบการเกิดโรค	13

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
4.3 ผลของสารสกัดหยาบจากใบเสม็ดขาวต่อการควบคุมเชื้อราสาเหตุ *Colletotrichum* sp.	13
4.4 วิจารณ์ผลการทดลอง	16
บทที่ 5 สรุปและข้อเสนอแนะ	
5.1 สรุป	18
5.2 ข้อเสนอแนะ	18
เอกสารอ้างอิง	19
ภาคผนวก	21

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	การยับยั้งของสารสกัดด้วยน้ำต่อการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Colletotrichum* sp. สาเหตุโรคใบร่วงชนิดใหม่ในยางพารา	14
2	การยับยั้งของสารสกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ต่อการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Colletotrichum* sp. สาเหตุโรคใบร่วงชนิดใหม่ในยางพารา	15

ตารางผนวกที่		
1	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อ *Colletotrichum* sp. ในชุดการทดลองด้วยน้ำ	22
2	วิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อ *Colletotrichum* sp. ในชุดการทดลองด้วยน้ำ	22
3	การยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคใบร่วงยางพาราของสารสกัดหยาบที่สกัดด้วยน้ำ	23
4	วิเคราะห์ความแปรปรวน bn (ANOVA) การยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคใบร่วงยางพาราของสารสกัดหยาบที่สกัดด้วยน้ำ	23
5	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อ *Colletotrichum* sp. ในชุดการทดลองด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์	24
6	วิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อ *Colletotrichum* sp. ในชุดการทดลองด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์	24
7	การยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคใบร่วงยางพาราของสารสกัดหยาบที่สกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์	25
8	วิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) การยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคใบร่วงยางพาราของสารสกัดหยาบที่สกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์	25

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	ลักษณะแผลของโรคใบร่วงยางพารา	4
2	ลักษณะโคโลนีของเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ที่เป็นสาเหตุโรค	12
	ใบร่วงยางพารา ที่เพาะเลี้ยงบนอาหาร PDA เป็นเวลา 10 วันใบร่วง	13
3	ลักษณะสปอร์ของเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ที่เป็นสาเหตุโรค	12
	ชนิดใหม่ในยางพาราเมื่อส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์ ที่กำลังขยาย 400 เท่า	
4	ลักษณะแผลที่เกิดบนใบยางหลังจากปลูกเชื้อ 7 วัน	
5	การเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ที่เป็นสาเหตุโรคใบร่วงชนิดใหม่	14
	ในยางพารา บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่มีส่วนผสมของสารสกัดหยาบ	
	ใบเสม็ดขาวที่สกัดด้วยน้ำ ที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน	
6	การเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ที่เป็นสาเหตุโรคใบร่วงชนิดใหม่	16
	ในยางพารา บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่มีส่วนผสมของสารสกัดหยาบ	
	ใบเสม็ดขาวที่สกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน	

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ

ยางพารา (*Hevea brasilieansis* Muell. Arg.) เป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญชนิดหนึ่งของประเทศไทย โดยพื้นที่ปลูกยางพาราของประเทศไทยกระจายอยู่ในภาคใต้ ภาคตะวันออก ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และบางพื้นที่ของภาคเหนือ พบว่า มีพื้นที่ปลูกที่ประเทศประมาณ 11.9 ล้านไร่ (Rojsuchit, 2020) ปัจจุบันแม้ประเทศไทยจะมีเนื้อที่ปลูกยางพารามากเป็นอันดับ 2 ของโลกรองจากอินโดนีเซีย แต่มีผลผลิตยางพารามากที่สุดในโลก และจังหวัดที่มีเนื้อที่ปลูกยางพารามากที่สุดได้แก่ จังหวัดสุราษฎร์ธานี อย่างไรก็ตาม การปลูกยางพารามักประสบปัญหาหลายประการที่ทำให้ผลผลิตไม่ดีเท่าที่ควร โดยเฉพาะอย่างยิ่งปัญหาโรคระบาดในยางพารา ได้แก่ โรคใบร่วง (leaf fall) โรคฝักเน่า (pod rot) และโรคเส้นดำ (black rot) เป็นต้น (Iamkeng & Hangrong, 2014)

จากสถานการณ์โรคระบาดของโรคใบร่วงในยางพารา เกษตรกรมีการใช้สารเคมีปริมาณมากในการป้องกันกำจัดโรค ทำให้เกิดปัญหาสารพิษตกค้างในธรรมชาติ และมีผลทางอ้อมต่อสุขภาพของมนุษย์ ทั่วโลกจึงได้ตื่นตัวในการศึกษาวิจัยเพื่อนำสารสกัดจากธรรมชาติมาใช้ทดแทนสารเคมีทางการเกษตรเพื่อให้มีความปลอดภัยต่อระบบนิเวศน์ ปัจจุบันมีการศึกษาเกี่ยวกับการใช้พืชสมุนไพรหลายชนิดมาใช้ในการยับยั้งและป้องกันกำจัดศัตรูพืชได้เช่นเดียวกับสารเคมี ซึ่งเสม็ดขาวเป็นพืชที่น่าสนใจชนิดหนึ่ง เนื่องจากเป็นไม้พื้นเมือง และพบมากในบริเวณป่าชายเลนและป่าพรุ ซึ่งได้มีรายงานการค้นพบสาร cineole ในเสม็ดขาว (Ruangrangai & Tantiwat, 1991) สาร cineole ซึ่งมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้หลายชนิด (Christopet al., 2000) นอกจากนี้ยังมีรายงานว่า สารสกัดจากเสม็ดขาวสามารถยับยั้งการเจริญของหนอนใยผัก และสามารถควบคุมการวางไข่ของด้วงถั่วเขียวได้ (Lap-anunphakun, 1995) พื้นที่ของจังหวัดนราธิวาสเป็นพื้นที่ป่าชายเลนและป่าพรุ มีต้นเสม็ดขาวเจริญอยู่เป็นจำนวนมาก จึงเหมาะต่อการนำใบเสม็ดขาวมาทำการศึกษาเกี่ยวกับสารสกัดหยาบจากใบเสม็ดขาว และทดสอบผลของสารสกัดต่อการเจริญของเชื้อราที่เป็นสาเหตุของโรคใบร่วงในยางพารา

1.2 วัตถุประสงค์

1.2.1 เพื่อศึกษาสารสกัดจากเสม็ดขาวที่สกัดด้วยน้ำต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราสาเหตุโรคใบร่วงชนิดใหม่ในยางพารา

1.2.2 เพื่อศึกษาสารสกัดจากเสม็ดขาวที่สกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราสาเหตุโรคใบร่วงชนิดใหม่ในยางพารา

1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ทราบผลของสารสกัดหยาบจากใบเสม็ดขาวต่อการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคใบร่วงชนิดใหม่ในยางพารา

บทที่2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 เอกสารที่เกี่ยวข้อง

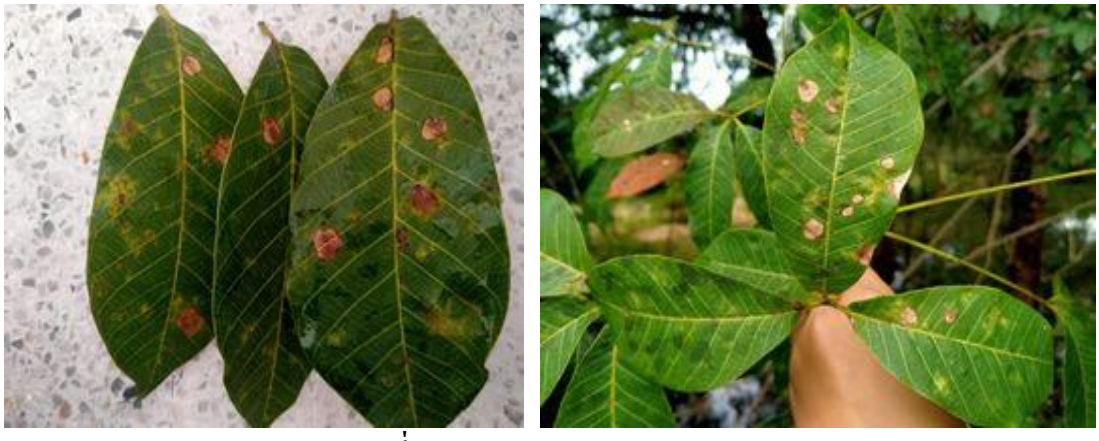
โรคใบร่วงของยางพารา

โรคใบร่วงชนิดใหม่เริ่มพบการระบาดในประเทศอินโดนีเซียในปี พ.ศ. 2559 และปัจจุบันแพร่ระบาดในประเทศมาเลเซีย อินเดีย ศรีลังกา และประเทศไทยในปีพ.ศ. 2562 ซึ่งยังมีความสับสนในด้านเชื้อราสาเหตุของโรคดังกล่าว จากการสรุปรายงานประจำปี ของกลุ่มอารักขาพืช (Plant Protection Specialist Group) รายงานว่าปี พ.ศ. 2559 มีโรคใบร่วงชนิดใหม่ระบาดอย่างรุนแรงที่เกาะสุมาตราเหนือ ประเทศอินโดนีเซีย Rojsuchit (2020) ซึ่งในปี พ.ศ. 2561 กลุ่มผู้เชี่ยวชาญลงความเห็นว่าเกิดจากเชื้อรา *Neofusicoccum* sp. ต่อมาปี พ.ศ. 2562 ตรวจเจอเชื้อรา *Pesta-lotiopsis* sp. และ *Colletotrichum* sp. จากอาการโรคบนใบ แต่ไม่พบเชื้อ *Neofusicoccum* sp. ซึ่งทำให้เชื่อกันว่าอาการของโรคนี้อาจมีสาเหตุร่วมกันโดยระยะแรกเป็นเชื้อชนิดหนึ่ง และต่อมาเป็นเชื้ออีกชนิดหนึ่งที่ทำให้ใบยางร่วง แต่ประเทศมาเลเซียซึ่งได้รับผลกระทบจากโรคใบร่วงชนิดใหม่นี้รายงานว่าเกิดจากเชื้อรา *Pestalotiopsis* sp. ประเทศศรีลังกาสรุปว่าเกิดจากเชื้อรา 2 ชนิดร่วมกัน คือ *Neofusicoccum* sp. และ *Pestalotiopsis*sp. สำหรับประเทศไทยได้ตรวจสอบและศึกษาเบื้องต้น รายงานว่า เกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum* sp. เช่นเดียวกับการรายงานของประเทศอินเดีย (Rojsuchit, 2020)

โรคใบร่วงยางพาราเกิดอาการบนใบแก่ ลักษณะจุดแผลกลมทำให้เนื้อเยื่อตาย และใบร่วง อาการเริ่มแรก ใต้ใบมีลักษณะรอยช้ำค่อนข้างกลม ผิวใบด้านบนบริเวณเดียวกันสีเหลือง (Chorosis) ต่อมาเนื้อเยื่อบริเวณนี้ขยายใหญ่ขึ้นเป็นสีคล้ำขอบแผลดำ และเปลี่ยนเป็นเนื้อเยื่อแห้ง (Necrosis) สีน้ำตาลจนถึงขาวซีด รอบแผลไม่มีวงสีเหลืองล้อมรอบ รูปร่างแผลค่อนข้างกลม ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางมากกว่า 0.5-3 เซนติเมตร จำนวนจุดแผลบนแผ่นใบมีมากกว่า 1 แผล อาจเจริญลุกลามซ้อนกันเป็นแผลขนาดใหญ่ ระยะรุนแรงใบเหลืองและร่วงในที่สุด เชื้อรายังเข้าทำลายกิ่งใกล้ปลายยอด ทำให้เกิดอาการแห้งตายจากยอดได้เช่นกัน (Rojsuchit, 2020)

ลักษณะอาการของโรคมีจุดเด่นที่แตกต่างจากโรคอื่น ๆ ของยางพารา คือแผลกลมค่อนข้างใหญ่อาการบนใบที่เป็นสีเขียวจะไม่มีลักษณะวงสีเหลืองล้อมรอบ (ภาพที่1) หากมีปริมาณเชื้อราเข้าทำลายอย่างรุนแรงอาจทำให้ใบยางร่วงทั้งที่อาการของโรคยังไม่พัฒนาถึงระยะอาการเป็นเนื้อเยื่อแผลขาวซีดก็ได้ ในกรณีของพันธุ์ยางที่มีแนวโน้มทนต่อโรค หรือมีจำนวนแผลของโรคน้อย หรือ

อยู่ในสภาพการระบาดที่ไม่เหมาะสม ใบยางอาจไม่ร่วง อาการจุดแผลอาจขยายใหญ่ หรือมีวงแผลเจริญซ้อนจากแผลเดิม เนื้อเยื่อบริเวณแผลที่แห้งอาจพบเชื้อราอื่นเจริญอยู่เป็นวง ๆ สีดำทำหน้าที่ผู้ย่อยสลาย ใบยางที่ร่วงแห้งอยู่บนพื้นสามารถแยกแยะจากโรคยางชนิดอื่นได้อย่างชัดเจน นั่นคือ ลักษณะแผลแห้งกลมสีซีดกว่าสีแผ่นใบชัดเจน หรือในกรณีที่อาการยังไม่พัฒนาแต่ร่วงก่อนจะมีลักษณะเป็นกลมเป็นวงสีคล้ำกว่าผิวใบ (Rojsuchit, 2020)



ภาพที่ 1 ลักษณะแผลของโรคใบร่วงยางพารา

สภาพการระบาดยังไม่ชัดเจน แต่ระบาดในช่วงที่มีความชื้นสูงในระยะใบแก่ จากการรวบรวมข้อมูล พบโรคครั้งแรกกับใบยางแก่ในช่วงต้นฤดูฝน สภาพที่มีฝนตกสลับกับสภาพแล้ง ทำให้เกิดโรครุนแรงและการแพร่ระบาดของโรคเร็วขึ้น พันธุ์ยางทุกพันธุ์อ่อนแอต่อโรค แพร่กระจายได้โดยลม ฝน การเคลื่อนย้ายวัสดุปลูก ท่อนพันธุ์ หรือพืชจากแหล่งโรคระบาด เป็นต้น (Rojsuchit, 2020)

จากการตรวจสอบและสำรวจโรคยางพาราในพื้นที่ระบาดช่วงเดือนกันยายน-พฤศจิกายน 2562 สามารถพบพืชอื่น ๆ แสดงอาการโรคที่มีลักษณะคล้ายคลึงกับโรคยางชนิดใหม่ ทั้งวัชพืช พืชร่วมในสวนยาง พืชผักสวนครัว และพืชยืนต้นอื่น ๆ ในบริเวณใกล้เคียงกับแปลงยางที่เป็นโรค (Rojsuchit, 2020)

ในช่วงการระบาดของโรคนี้ทำให้วัชพืชในสวนยาง หรือพืชอื่น ๆ ในบริเวณใกล้เคียงแสดงอาการโรคมากมายหลายชนิด ทั้งพืชใบเลี้ยงเดี่ยว ใบเลี้ยงคู่ รวมถึงพืชจำพวกเฟิร์นบางชนิดแสดงถึงเชื้อราที่เป็นสายพันธุ์ได้มากและรวดเร็ว จึงสามารถแพร่กระจายทำให้เกิดโรคกับยางพาราและพืชอื่นอย่างรวดเร็วรุนแรงเช่นกัน การมีพืชอาศัยของเชื้อสาเหตุโรคหลายชนิดมีโอกาสทำให้เชื้อสะสมอยู่ในธรรมชาติมากยิ่งขึ้น อาจทำให้พืชเศรษฐกิจอื่น ๆ แสดงอาการโรครุนแรง ทำให้เกิดความเสียหายเช่นเดียวกัน นอกจากนี้ เชื้อราสามารถอาศัยพักตัวกับพืชอาศัยเหล่านี้ในสภาวะที่

สภาพแวดล้อมไม่เหมาะสม เมื่อต้นยางเข้าสู่สภาวะที่เหมาะสมกับการเข้าทำลาย และหากสภาพแวดล้อมเหมาะสมกับการเกิดโรคทำให้เกิดสภาวะการระบาดของโรครุนแรงและแพร่ระบาดอย่างรวดเร็วมากขึ้น และอาจทำให้พืชปลูกอื่น ๆ ได้รับผลกระทบที่รุนแรงมากขึ้นเช่นกัน (Rojsuchit, 2020)

เสม็ดขาว

เสม็ดขาว มีชื่อวิทยาศาสตร์ *Melaleuca cajuputi* อยู่ในวงศ์ Myrtaceae มีชื่อสามัญ Cajuput tree Milk wood หรือ Paper bark tree เป็นไม้ยืนต้นที่มีเปลือกชั้นนอกสีขาวนวล เป็น แผ่นบาง ๆ เรียงซ้อนกันเป็นปึกหนานุ่ม เปลือกชั้นในบาง สีน้ำตาล ยอดอ่อน กิ่งอ่อน และใบอ่อน มี ขนสีขาวเป็นมันคล้ายเส้นไหม ใบมีลักษณะเป็นใบเดี่ยว เรียงสลับ แผ่นใบรูปหอก กว้าง 1.5 - 4 เซนติเมตร ยาว 5 - 10 เซนติเมตร ปลายใบและโคนใบแหลม ดอกมีขนาดเล็ก ออกเป็นช่อที่ปลายกิ่ง สีขาว กลีบเลี้ยงยาว 0.3 เซนติเมตร โคนกลีบติดกัน กลีบดอกยาว 0.2 - 0.3 เซนติเมตร รูปช้อนแกมรูปไข่กลับ เกสรเพศผู้จำนวนมากยาวพ้นกลีบดอกเป็นพู ผลมีลักษณะเป็นผลแห้งแตก รูปถ้วย กว้างและยาวประมาณ 0.4 เซนติเมตร สามารถนำส่วนต่าง ๆ ไปใช้ประโยชน์ได้ ได้แก่ ส่วนเนื้อไม้ใช้ทำเสาเข็ม เสารั้ว สร้างบ้าน และทำถ่าน ส่วนเปลือกต้นใช้มุงหลังคา ทำฝาบ้านชั่วคราว และใช้ห่อก้อนไต้สำหรับใช้จุดไฟ ส่วนใบนำมาสกัดทำน้ำมันหอมระเหย มีคุณสมบัติในทางยาคล้ายกับ น้ำมันยูคาลิปตัส นอกจากนั้นยังสามารถใช้น้ำต้มใบเสม็ดที่ได้จากการกลั่นน้ำมันหอมไปย้อมสีผ้าได้อีกด้วย โดยจะให้สีน้ำตาลอ่อนและช่วยทำให้ผ้าคงทนต่อการเข้าทำลายของแมลงที่กัดกินเนื้อผ้าได้ดี (Khongsai & Vittaya, 2020)

2.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Motri et al. (2010) ศึกษาผลของสารสกัดหยาบจากเสม็ดขาวต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อราโรคพืชบางชนิด การทดสอบการเจริญของเชื้อในสารสกัด และการวางแผนการทดลองวางแผนการทดลองแบบ completely randomized design (CRD) ประกอบด้วย 5 ทรีทเมนต์ โดยการเตรียมสารสกัดหยาบที่ได้จากใบเสม็ดขาวมาปรับความเข้มเป็น 5 ระดับ คือ 0, 10, 200, 400 และ 800 มิลลิกรัม/ลิตร ผสมสารสกัดที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ลงในอาหาร PDA เทอาหารใส่จานเลี้ยงเชื้อ 10 มิลลิลิตร วางเชื้อที่เตรียมไว้บนอาหาร บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้อง บันทึกผลโดยการวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนี (cm) แล้วนำมาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญเติบโต (Percent Inhibition of Diameter Growth = PIDG: PI) เชื้อราทั้ง 4 ชนิด มีการเจริญเติบโตที่แตกต่างกัน โดยเชื้อ *Pythium delicense* มีระยะเวลาการสร้างสปอร์จนเต็มจานเลี้ยงเป็นเวลา 1 วัน เชื้อ *Phytophthora parasitica* มีระยะเวลาการสร้างสปอร์จนเต็มจานเลี้ยงเป็นเวลา 4 วัน เชื้อ *Fusarium oxysporum* มี

ระยะเวลาการสร้างสปอร์จนเต็มจานเลี้ยงเป็นเวลา 5 วัน และเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* มีระยะเวลาการสร้างสปอร์จนเต็มจานเลี้ยงเป็นเวลา 9 วัน ส่วนการทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดหยาบจากใบเสม็ดขาวในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราทั้ง 4 ชนิด โดยใช้ความเข้มข้น 100, 200, 400 และ 800 มิลลิกรัม/ลิตร เปรียบเทียบกับการเจริญเติบโตของเชื้อราบนอาหาร PDA ที่ไม่เติมสารสกัด พบว่า การเติมสารสกัดมีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราเพิ่มขึ้นตามระดับความเข้มข้นของสารที่เพิ่มขึ้นในเชื้อราทั้ง 4 ชนิด โดยที่ความเข้มข้น 800 มิลลิกรัม/ลิตรสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. deliense, F. oxysporum* และ *C. gloeosporioides* ได้ดีที่สุดที่ 100, 87.84 และ 86.16 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนี 0, 0.67 และ 0.76 เซนติเมตร ตามลำดับ ส่วนเชื้อ *Phy. parasitica* พบว่าที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 400 มิลลิกรัม/ลิตร ขึ้นไป สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ดีที่สุด 100 เปอร์เซ็นต์ โดยสารสกัดหยาบจากใบเสม็ดขาวทุกความเข้มข้น มีผลยับยั้งการเจริญของเชื้อราโรคพืช 4 ชนิด ซึ่งผลสอดคล้องกับการทดลองของ Uraiwan (2002) พบว่า น้ำมันเสม็ดขาวมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราหลายชนิด ได้แก่ *Aspergillus niger, A. japonicus, Eurotium*sp., *Fusarium* sp. และ*Penicillium* ได้ดี Carson et al. (2006) พบว่า สารสกัดจากเสม็ดขาวมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Aspergillus niger, Candida albicans*, *C. glabrata*, *Saccharomyces cerevisiae* และแบคทีเรียบางชนิดได้ดี ทั้งนี้เนื่องจาก น้ำมันหอมระเหยจากใบเสม็ดขาวมีสาร β – pipene, α – terpineol และ cineole ซึ่งมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้หลายชนิด (Christop et al., 2000)

Jeamchaisri et al. (2011) ศึกษาประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัดโรคพืช ในการป้องกันกำจัดเชื้อรา *Alternaria* สาเหตุโรคพืช จากการทดสอบสารเคมีป้องกันกำจัดโรคพืชชนิดต่าง ๆ ในการป้องกันกำจัดเชื้อราสาเหตุโรคพืชสกุล *Alternaria* ในระดับห้องปฏิบัติการ พบว่า สารเคมีป้องกันกำจัดโรคพืชที่เกิดจากเชื้อรา *Alternaria* ที่มีประสิทธิภาพในระดับห้องปฏิบัติการที่สามารถคัดเลือกเพื่อนำไปทดสอบต่อในระดับเรือนทดลอง ได้แก่ mancozeb, difenoconazole, iprodione, flusilazole, pyraclostroin, metalaxyl M+mancozeb

Rojsuchit et al. (2020) ได้รายงานถึงสารเคมีต่อการป้องกันและควบคุมโรครากขาว พบว่า สารเคมีใช้ป้องกันกำจัดโรครากขาวส่วนใหญ่เป็นสารเคมีกลุ่มไตรอะโซล (triazole) พบว่า ในพื้นที่ภาคใต้ค่อนข้างหายากและราคาแพง ซึ่งในสลากของผลิตภัณฑ์ของสารเคมีเหล่านี้แนะนำให้ใช้กับโรคสาเหตุจากเชื้อราในพืชไร่ ข้าว และไม้ผลบางชนิด ซึ่งแตกต่างจากพืชหลักของภาคใต้จะปลูกพืชเหล่านี้น้อยมาก จึงอาจเป็นสาเหตุหนึ่งที่ไม่มีสารเคมีเหล่านี้จำหน่าย แตกต่างกับในพื้นที่ภาคตะวันออกที่มีสารเคมีกลุ่มไตรอะโซลหลายชนิด และหาซื้อได้ง่ายในตลาดท้องถิ่น สารเคมีที่มีขายอยู่ทั่วไปในตลาดท้องถิ่นภาคใต้ไม่มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดโรครากขาว เช่น bennomil,

metalacacyl, iprodion, phosphoric acid, validamycin และ etaboxime. เป็นต้น จากการทดสอบในห้องปฏิบัติการ พบว่า สารเคมีชนิดที่ยังไม่ให้ใช้ป้องกันกำจัดโรครากขาวในปัจจุบันมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราโรครากขาวได้ดีใกล้เคียงกับสารโซโปรโคนาโซล และเฮกซาโคนาโซล คือ Triadimiphon, microbutanyl, tetraconazole, difinoconazole, triflumizole, และ prochlorash ซึ่งสามารถยับยั้งเชื้อราได้เปอร์เซ็นต์ที่ความเข้มข้นสารออกฤทธิ์เท่ากับ 1,000 มิลลิกรัม/ลิตร สารเคมีไซโปรโคนาโซลอัตราความเข้มข้นสารออกฤทธิ์ 500 มิลลิกรัม/ลิตร มีประสิทธิภาพในการรักษาป้องกัน และกำจัดโรครากขาวได้ดีมาก ต้นยางสามารถงอกรากใหม่ขึ้นมาทดแทนรากที่เป็นโรค ทำให้ต้นยางที่เป็นโรคสามารถเจริญเติบโตได้ต่อไป แต่เนื่องจากสารเคมีไซโปรโคนาโซล มีราคาจำหน่ายค่อนข้างแพง จึงควรแนะนำให้ใช้สารเคมี (10 Soluble Concentrate) 5 มิลลิลิตรต่อน้ำ 1 ลิตร (500 มิลลิกรัม/ลิตร Active ingredient) อัตราเดียว แทนการแนะนำสารเคมี (10SL) อัตรา 5-10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 1 ลิตร (500-1,000 มิลลิกรัม/ลิตร) จะทำให้เกษตรกรประหยัดรายจ่ายมากขึ้น 50 เปอร์เซ็นต์ สารเคมีที่เป็นทางเลือกมีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดโรครากขาวได้ดีและมีราคาถูก คือไตรอะดิมิฟอน ไมโครบิวทานิล และโพรคลอร์ราช โดยใช้อัตราความเข้มข้นสารออกฤทธิ์ 2,000 มิลลิกรัม/ลิตร

Ubonsuk & Pornsuriya (2019) ศึกษาการแยกและระบุชนิดของเชื้อราบนซากใบยางพารา (*Hevea brasiliensis*) ในพื้นที่อนุรักษ์เขาคอหงส์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ จังหวัดสงขลา โดยเก็บตัวอย่างซากใบยางพาราจำนวน 200 ใบ มาแยกเชื้อด้วยวิธี pour plate และระบุชนิดจากลักษณะทางสัณฐานวิทยาและลำดับนิวคลีโอไทด์ของ DNA บริเวณ internal transcribed spacer (ITS) ผลการทดลองสามารถระบุชนิดของเชื้อราได้ 10 ชนิด ได้แก่ เชื้อ *Aspergillus aculeatus, Fusarium proliferatum, lasiodiplodia theobromae, Mucor fragilis, Penicillium aculeatum, P. citrinum, P. paxilli, Trichoderma harzianum, T. koningioosis* และ *T. lixii*และ *Pestalotiopsis* sp. ไอโซเลท PSU1 ไม่สามารถระบุชนิดถึงระดับสปีชีส์ได้ ซึ่งอาจเป็นเชื้อราชนิดใหม่หรือเป็นเชื้อราที่ทราบชนิดแล้ว ซึ่งเชื้อที่แยกได้มีทั้งประโยชน์และโทษโดยเชื้อรา *T. harzianum*, *T.koningiopsis*และ *T. lixii* สามารถนำไปศึกษาต่อเพื่อนำไปใช้ประโยชน์ทางด้านการเกษตรในอนาคต ในการทดสอบความสามารถการเป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อราสาเหตุโรค

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 วัสดุและอุปกรณ์ วัสดุอุปกรณ์ในการทดลอง มีดังนี้

ใบเสม็ดขาว, ใบยางพาราที่เป็นโรคใบร่วง

อาหาร PDA สำเร็จรูป, มันฝรั่ง, น้ำตาล, วุ้น

จานเลี้ยงเชื้อ,ขวดรูปชมพู,ตู้เขี่ยเชื้อ,กล่องพลาสติก,เข็มเขี่ยเชื้อ,ตะเกียงแอลกอฮอล์,กล้องจุลทรรศน์

สารเคมี ได้แก่

แอลกอฮอล์ฆ่าเชื้อ 70 เปอร์เซ็นต์, แอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์, Clorox 10 เปอร์เซ็นต์

3.2 การเตรียมเชื้อสาเหตุโรค

เชื้อราสาเหตุโรคใบร่วง แยกได้จากใบยางที่เป็นโรคใบร่วงชนิดใหม่ในยางพารา (โดยเก็บใบยางที่เป็นโรคมาจากต้นยาง 1 ต้น) ล้างน้ำให้สะอาดเช็ดให้แห้งแล้วตัดเนื้อเยื่อพืชบริเวณขอบแผลออกขนาด 0.5 x 0.5 เซนมิเมตร ฆ่าเชื้อบริเวณผิวนอกด้วยคลอร็อกซ์ 10 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 3 นาที นำใบล้างด้วยด้วยน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ ซับให้แห้งด้วยทิชชูฆ่าเชื้อนำไปวางบนอาหารดับเบิ้ลยูเอ (WA: Water agar) มีองค์ประกอบของ วุ้น 15 กรัม/น้ำ 1 ลิตร รอให้เส้นใยของเชื้อเจริญออกมาจากชิ้นส่วนพืชที่เป็นโรค ตัดชิ้นวุ้นที่มีเส้นใยเจริญออกมา ย้ายไปวางบนอาหารพีดีเอ (PDA: Potato Dextrose Agar) วางไว้ที่อุณหภูมิห้องให้เชื้อเจริญ ทำให้เชื้อบริสุทธิ์ ศึกษาลักษณะสปอร์ พิสูจน์การเกิดโรค และเก็บเชื้อบริสุทธิ์ไว้ในหลอดทดลองเพื่อทดสอบต่อไป

3.3 การพิสูจน์การเกิดโรค

การพิสูจน์การเกิดโรคดัดแปลงจากวิธีของ Sutthisa et al. (2014) โดยเลี้ยงเชื้อราที่แยกได้จาก 3.1 บนอาหาร PDA (Potato Dextrose Agar) เป็นเวลา 8 วัน ใช้เข็มเขี่ยตัดชิ้นวุ้นบริเวณขอบของโคโลนีเชื้อรา นำไปวางบนใบยางพาราที่ทำแผลด้วยเข็มเขี่ยเชื้อ จากนั้นนำไปบ่มเชื้อในกล่องพลาสติกชื้น เป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิห้อง ตรวจดูอาการโรคที่เกิดขึ้นแล้ววัดขนาดของแผล

3.4 การเตรียมสารสกัดจากใบเสม็ดขาว

นำใบสดของเสม็ดขาวมาล้างให้สะอาดแล้วอบด้วยเครื่องตู้อบลมร้อน (Hot air oven) ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 วัน นำไปบดแบบหยาบ หลังจากนั้นแบ่งเป็น 2 ส่วน เพื่อนำไปในแช่น้ำและนำไปแช่ในเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ โดย

1.แช่น้ำในอัตราตามสิ่งทดลองคือ 1:10, 1:15, 1:20 และ 1:25 W/V เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เขย่าด้วยเครื่องเขย่า แล้วกรองด้วยผ้าขาวบาง และกรองอีกครั้งด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1

2.แช่เอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ อัตราส่วน 1:10 W/V เป็นเวลา 72 ชั่วโมง (Obeidat et al., 2015) แล้วกรองเศษใบออกด้วยผ้าขาวบาง และกรองอีกครั้งด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 นำสารที่ได้จากการกรองมาทำการกลั่นด้วยเครื่องกลั่นระเหยสุญญากาศที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส จนกระทั่งได้สารสกัดที่มีลักษณะหนืด

3.5 การทดสอบ

การทดสอบมี 2 ชุดการทดลอง คือ ชุดที่ 1 ใช้สารสกัดจากเสม็ดขาวที่สกัดด้วยน้ำ ชุดที่ 2 ใช้สารสกัดจากเสม็ดขาวที่สกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) โดยสกัดแต่ละชุดมี 5 สิ่งการทดลอง ๆ ละ 4 ซ้ำ ๆ ละ 10 เพลท โดยแต่ละชุดเป็นดังนี้

ชุดที่ 1 สารสกัดหยาบที่สกัดด้วยน้ำโดยใช้อัตราส่วนของเสม็ดขาวแห้งต่อน้ำ (W/V) ดังนี้

สิ่งทดลองที่ 1 1 : 10

สิ่งทดลองที่ 2 1: 15

สิ่งทดลองที่ 3 1: 20

สิ่งทดลองที่ 4 1: 25

สิ่งทดลองที่ 5 ชุดควบคุม (Control) ใช้อาหาร PDA อย่างเดียว

นำสารสกัดหยาบที่ได้จากการสกัดด้วยใช้อัตราส่วน 1:10, 1:15, 1:20 และ1:25 W/V ปริมาณ 150 มิลลิลิตรผสมกับอาหาร PDA สำเร็จรูปปริมาณ 5.85 กรัม และทำให้วุ้นละลาย หลังจากนั้นไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว เวลา 15 นาที หลังจากนั้นนำไปเทบนจานเลี้ยงเชื้อ นำชิ้นส่วนเส้นใยของเชื้อที่อายุ 8 วัน มาวางตรงกลางจานเลี้ยงเชื้อ จากนั้นทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง สังเกตุการเจริญเติบโตของเส้นใย

ชุดที่ 2 สารสกัดหยาบที่สกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ด้วยความเข้มข้นต่อไปนี้

สิ่งทดลองที่ 1 400 มิลลิกรัม/ลิตร

สิ่งทดลองที่ 2 600 มิลลิกรัม/ลิตร

สิ่งทดลองที่ 3 800 มิลลิกรัม/ลิตร

สิ่งทดลองที่ 4 1000 มิลลิกรัม/ลิตร

สิ่งทดลองที่ 5 ชุดควบคุม (Control) ใช้อาหาร PDA อย่างเดียว

การทดสอบจะทำโดยวิธี Poisoned food technique (Mayachiew et al., 2008) โดยนำสารสกัดที่ได้ชั่งตามสิ่งทดลองแล้วนำไปผสมอาหาร PDA ที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้วเทลงในจานเลี้ยงเชื้อ จากนั้นนำชิ้นส่วนเส้นใยของเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ที่อายุ 8 วัน มาวางตรงกลางจานเลี้ยงเชื้อ จากนั้นทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง สังเกตุการเจริญเติบโตของเส้นใย

3.6 การเก็บข้อมูล

วัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนี (cm) ในวันที่เชื้อราในจานเลี้ยงเชื้อควบคุมเจริญเต็มจานแล้วนำมาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญเติบโต (Percent Inhibition = PI) ตามวิธีของ Kasem (1989) ดังนี้

PI = (A-B)/A x 100

โดย A = เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อราก่อโรคใน control

B = เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อราก่อโรคในชุดที่เติมสารสกัด

3.7 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำข้อมูลมาวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนทางสถิติ (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยในแต่ละทรีเมนต์ด้วยวิธี Duncan’s Multiple Range Tests (DMRT) โดยใช้โปรแกรม R Version I 386 4.1.2

3.8 ระยะเวลาและสถานที่ในการดำเนินการวิจัย

เริ่มต้นตั้งแต่เดือนตุลาคม พ.ศ 2564 - เดือนมีนาคม พ.ศ 2565

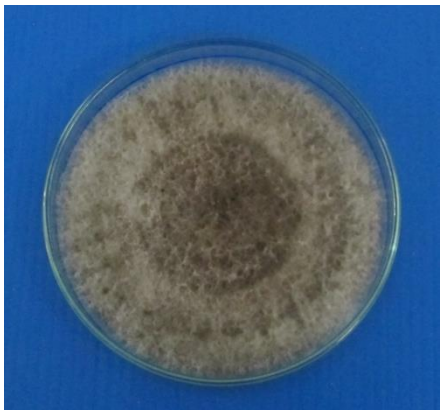
สถานที่ห้องปฏิบัติอารักขาพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยนราธิวาสราชนครินทร์

บทที่ 4

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

4.1 เชื้อราสาเหตุโรคพืช

จากการแยกเชื้อราสาเหตุโรคใบร่วงชนิดใหม่ในยางพารา พบว่า โคโลนีของเชื้อราบนอาหารพีดีเอ (PDA) มีลักษณะเส้นใยมีสีขาวถึงสีเทาอ่อน เส้นใยหยาบฟูเล็กน้อย ดังแสดงในภาพที่ 2 โดยลักษณะสปอร์ของเชื้อรา มีลักษณะสปอร์เป็นท่อนสั้น ไม่มีสี (ภาพที่ 3) ซึ่งลักษณะเชื้อดังกล่าวเป็นเชื้อรา *Colletotrichum* sp.



ภาพที่ 2 ลักษณะโคโลนีของเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ที่เป็นสาเหตุโรคใบร่วงยางพารา ที่เพาะเลี้ยงบนอาหาร PDA เป็นเวลา 10 วัน

ภาพที่ 3 ลักษณะสปอร์ของเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ที่เป็นสาเหตุโรคใบร่วงชนิดใหม่ในยางพารา เมื่อส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์ ที่กำลังขยาย 400 เท่า

4.2 การทดสอบการเกิดโรค

จากการทดสอบการเกิดโรค พบว่า เชื้อราสาเหตุโรคใบร่วงชนิดใหม่ ที่แยกได้สามารถก่อให้เกิดโรคใบร่วงยางพาราได้ หลังปลูกเชื้อเป็นเวลา 7 วัน โดยมีลักษณะแผลเป็นจุดสีน้ำตาลขนาดเล็กค่อนข้างกลม ขอบแผลมีสีน้ำตาลเข้ม (ภาพที่ 4)

ภาพที่ 4 ลักษณะแผลที่เกิดบนใบยางหลังจากปลูกเชื้อ 7 วัน

4.3 ผลของสารสกัดหยาบจากใบเสม็ดขาวต่อการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคใบร่วงชนิดใหม่ในยางพารา

จากการทดสอบผลของสารสกัดหยาบจากใบเสม็ดขาวที่ความเข้มข้นต่างกันต่อการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคใบร่วงชนิดใหม่ในยางพาราบนอาหารเลี้ยงเชื้อมี 2 ชุด คือ ชุดที่ 1 สารสกัดหยาบที่สกัดด้วยน้ำ ชุดที่ 2 สารสกัดหยาบที่สกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์

ชุดที่ 1 สารสกัดหยาบที่สกัดด้วยน้ำ

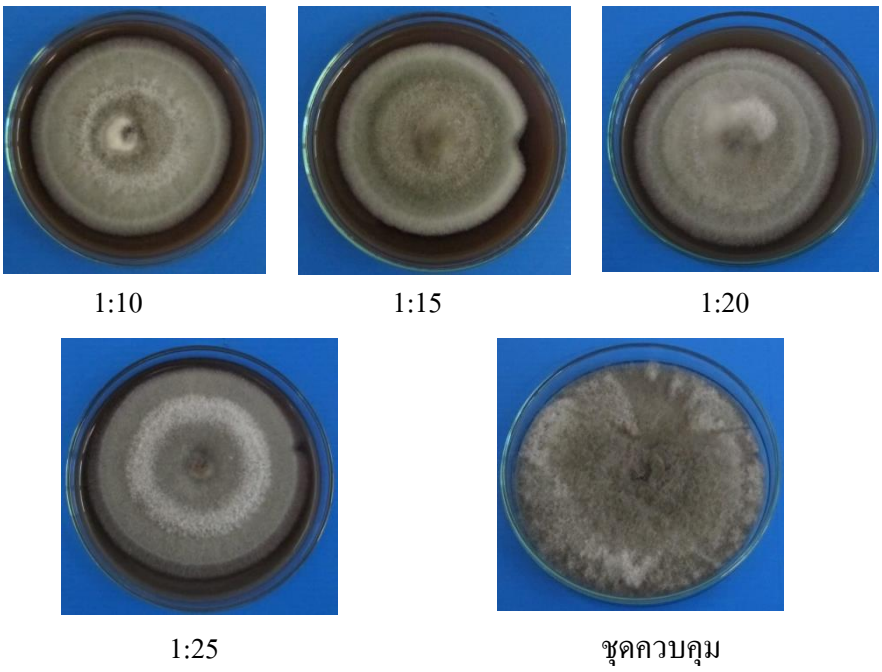
พบว่า ผลของสารสกัดหยาบที่สกัดด้วยน้ำมีค่าเฉลี่ยของเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีเชื้อราสาเหตุโรคใบร่วงชนิดใหม่ในยางพารา บนอาหารเลี้ยงเชื้อในวันที่ 10 ของชุดควบคุม (Control) เมื่อใช้สารสกัดหยาบที่สกัดด้วยน้ำในความเข้มข้น 1:10, 1:15, 1;20 และ 1:25 W/V และชุดควบคุมมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.01$) โดยความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งเชื้อราคือความเข้มข้นที่ 1:10 W/V ยับยั้งได้ 23.75 เปอร์เซ็นต์ และรองลงมาคือ 1:15, 1:20 และ 1:25 W/V และชุดควบคุม ได้ 23.06, 22.50, 18.6 และ 0.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 1 และภาพที่ 5)

ตารางที่ 1 การยับยั้งของสารสกัดด้วยน้ำต่อการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Colletotrichum* sp. สาเหตุโรคใบร่วงชนิดใหม่ในยางพารา

ความเข้มข้นสารที่สกัดด้วยน้ำ (w/v)	เส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนี (เซนติเมตร)	การยับยั้งการเจริญของเส้นใยเฉลี่ย (เปอร์เซ็นต์)
1:10	6.8± 0.28 b	23.75 ± 3.13 a
1:15	6.9± 0.39 b	23.06 ± 3.88 a
1:20	6.9± 0.31 b	22.50 ± 3.55 a
1:25	7.3± 0.45 b	18.6 ± 5.03 a
ชุดควบคุม	9.0± 0 a	0.00± 0 b
F-test	**	**
CV (%)	4.30	20.28

หมายเหตุ=** แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ระดับ 0.01

ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่เหมือนกันในแต่ละสดมภ์หมายความว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ



ภาพที่ 5 การเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ที่เป็นสาเหตุโรคใบร่วงชนิดใหม่ในยางพาราบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่มีส่วนผสมของสารสกัดหยาบใบเสม็ดขาวที่สกัดด้วยน้ำที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน

ชุดที่ 2 สารสกัดหยาบที่สกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์

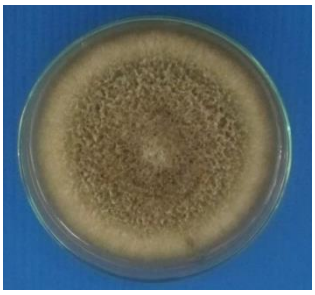
ผลของสารสกัดหยาบที่สกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเฉลี่ยของเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีเชื้อราสาเหตุโรคใบร่วงชนิดใหม่ในยางพารา บนอาหารเลี้ยงเชื้อในวันที่ 10 ของชุดควบคุม (Control) เมื่อใช้สารสกัดหยาบที่สกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ในความเข้มข้น 400-1000 มิลลิกรัม/ลิตร และชุดควบคุม มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.01) โดยความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งเชื้อราคือ ความเข้มข้นที่ 1000 มิลลิกรัม/ลิตร ยับยั้งได้ 56.67 เปอร์เซ็นต์ และรองลงมาคือ 800, 600 และ400 มิลลิกรัม/ลิตร ที่ยับยั้งได้ 52.50, 23.61 และ15.83 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนชุดควบคุมไม่สามารถยับยั้งได้ (ตารางที่ 2 และภาพที่ 6)

ตารางที่ 2 การยับยั้งของสารสกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ต่อการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Colletotrichum* sp. สาเหตุโรคใบร่วงชนิดใหม่ในยางพารา

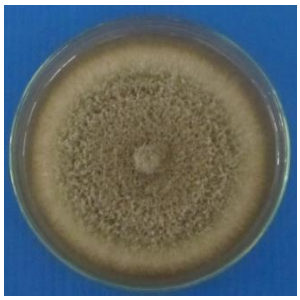
ความเข้มข้นของสารที่สกัดด้วยเอทานอล	เส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนี (เซนติเมตร)	การยับยั้งการเจริญของเส้นใยเฉลี่ย (เปอร์เซ็นต์)
400 มิลลิกรัม/ลิตร	7.6 ± 0.74 b	15.83± 8.28 b
600 มิลลิกรัม/ลิตร	6.9 ± 1.22 b	23.61± 13.59 b
800 มิลลิกรัม/ลิตร	4.3 ± 0.22 c	52.50± 2.50 a
1000 มิลลิกรัม/ลิตร	3.9 ± 4.43 c	56.67± 4.78 a
ชุดควบคุม	9.0 ± 0 a	0.00± 0 c
F-test	**	**
CV (%)	10.72	25.40

หมายเหตุ ** คือแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ระดับ 0.01

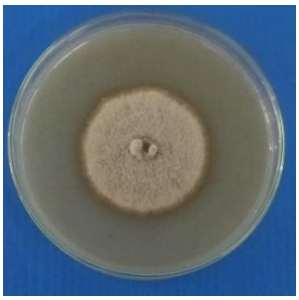
ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่เหมือนกันในแต่ละสดมภ์หมายความว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ



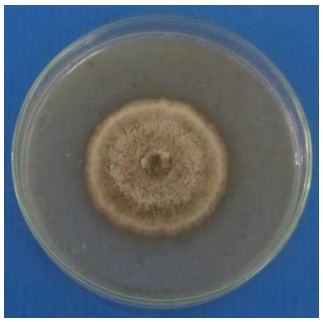
400 มิลลิกรัม/ลิตร



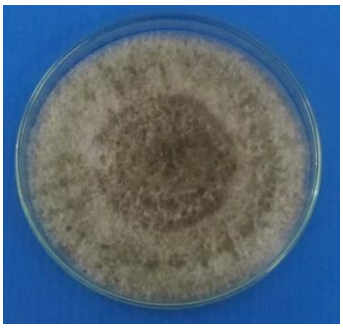
600 มิลลิกรัม/ลิตร



800 มิลลิกรัม/ลิตร



1000 มิลลิกรัม/ลิตร



ชุดควบคุม

ภาพที่ 6การเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ที่เป็นสาเหตุโรคใบร่วงชนิดใหม่ในยางพารา บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่มีส่วนผสมของสารสกัดหยาบใบเสม็ดขาวที่สกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน

4.4 วิจารณ์ผลการทดลอง

เชื้อสาเหตุโรคใบร่วงชนิดใหม่ในยางพารามีลักษณะอาการของโรคมีจุดเด่นที่แตกต่างจากโรคอื่น ๆ ของยางพารา คือแผลกลมค่อนข้างใหญ่ อาการบนใบที่เป็นสีเขียวจะไม่มีลักษณะวงสีเหลืองล้อมรอบ พบว่าเป็นเชื้อ *Colletotrichum* sp. ซึ่งเป็นสาเหตุโรคใบร่วงชนิดใหม่ในยางพารา โคโลนีเจริญเต็มแพลทที่อายุ 10 วันเชื้อโรคใบร่วงชนิดใหม่ในยางพาราเกิดจากเชื้อ C*olletotrichum* sp. เช่นเดียวกับการรายงานของประเทศอินเดีย (Rojsuchit, 2020) จากการทดสอบการเกิดโรคพบว่าเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ที่แยกได้สามารถก่อให้เกิดโรคใบร่วงยางพาราได้ โดยมีลักษณะแผลเป็นจุดสีน้ำตาลขนาดเล็กค่อนข้างกลม ขอบแผลมีสีน้ำตาลเข้มเหมือนลักษณะแผลที่กรีดครั้งแรกเป็นการยืนยันได้ว่าโรคใบร่วงยางพาราเกิดจากเชื้อ *Colletotrichum* sp. รายงานโดย Rojsuchit (2020) และสารสกัดหยาบจากใบเสม็ดขาวที่สกัดด้วยน้ำสามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ได้ที่ระดับความเข้มข้น 1:10 w/v แต่การยับยั้งได้ 23.75 เปอร์เซ็นต์ ทั้งนี้

เนื่องจากสารสกัดด้วยน้ำได้นำไปนึ่งฆ่าเชื้อทำให้โดนความร้อนและอาจทำให้ประสิทธิภาพของสารสกัดลดลง ในขณะที่สารสกัดหยาบจากใบเสม็ดขาวที่สกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Colletotrichum* sp.ได้ดีที่สุดที่ระดับความเข้มข้น 1000 มิลลิกรัม/ลิตร มีการยับยั้งอยู่ที่ 56.67 เปอร์เซ็นต์ เช่นเดียวกับ Motri et al. (2010) รายงานว่า น้ำมันเสม็ดขาวมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราหลายชนิด เช่น *Aspergillusniger,* A. *japonicus, Eurotium* sp.*, Fusarium* sp. และ *Penicillium* ในขณะที่ Carson et al. (2006) รายงานว่า สารสกัดจากเสม็ดขาวมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อa. *niger, Candida albicans*, c. *glabrata*, *Saccharomyces cerevisiae* และแบคทีเรียบางชนิดได้ เนื่องจากในใบเสม็ดขาวมีสาร β – pipene, α – terpineol และcineole เป็นองค์ประกอบซึ่งมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้

บทที่ 5
สรุปและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุป

5.1.1 จากการทดลองการศึกษาผลของสารสกัดจากเสม็ดขาวที่สกัดด้วยน้ำ พบว่า ที่ความเข้มข้น 1:10 W/V มีการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ดีที่สุดที่ค่าเฉลี่ย 23.75 เปอร์เซ็นต์

5.1.2 จากการทดลองการศึกษาผลของสารสกัดจากเสม็ดขาวที่สกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ พบว่า ที่ความเข้มข้น 1000 มิลลิกรัม/ลิตร มีการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ดีที่สุดที่ค่าเฉลี่ย 56.67 เปอร์เซ็นต์

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 ควรมีการทดลองโดยการใช้สารเคมีในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราเป็นชุดเปรียบเทียบ

5.2.2 ใช้ตัวทำละลายที่หลากหลาย เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่าง

5.2.3 ควรเพิ่มความเข้มข้นของสิ่งทดลองและแช่สารสกัดด้วยน้ำกับสารสกัดด้วยเอทานอลที่เวลาเท่ากัน

5.2.4 ควรศึกษาลักษณะสปอร์เพิ่มเติม

5.2.5 ควรแยกเชื้อราจากหลายใบหลายไอโซเลทและหลายพื้นที่เพื่อหาเชื้อสาเหตุ

5.2.6 การทดสอบด้วยการใช้น้ำควรทดสอบแบบวิธีอื่น ที่ไม่ใช่แบบนึ่งฆ่าเชื้อเพื่อไม่ให้ประสิทธิภาพลดลง

เอกสารอ้างอิง

Carson, C.F., Hammer, K.A., & Riley, T.V., 2006. *Melaleuca alternifolia* (Tea Tree) Oil: a Review of Antimicrobial and Other Medicinal Properties.Clin Microdiol Rer. The University of Western Australia. 19(1), 50-62.

Christop, F., Keulfers, P.M., & Stahl-Biskup, E. 2000. A Comparative Study of the *in vitro* Antimicrobial Activity of Tea Tree Oils. *S.I.* with Special Reference to the Activity of the B– Triketones, Planta Med. 66(6), 556-560

Iamkeng, S., & Hangrong, M. 2014. Control of *Rigidoporus lignosus*, the Causative Agent of White Root Disease in Rubber. Kasetsart Journal 43(3), 686-692.

Jeamchaisri, Y., Somrit, A., & Phasbutr, T. 2011. A Study on the Efficacy of Plant Pesticides To Prevent and Eliminate *Alternaria* Fungi, the Cause of Plant Disease. Annual Research Report 2011 Plant Protection Research Development Bureau. Department of Agriculture. (in Thai)

Soithong, K. 1989. The use of *Chaetomium cupreum* in Biological Control of Rice Blast Disease, Journal of Plant Pathology 9(1), 28–33. (in Thai)

Khongsai, S., & Vittaya, L. (2020). Phenolics Contents, Flavonoids Contents and Antioxidant Activity of *Melaleuca cajuputi* and *Syzygiumgratum* extracts, [Speeial probler, Rajamangala University Department of General Education, Faculty of Science and Fisheries Technology, Rajamangala University of Technology Srivijaya, Trang Campus]. Rajamangala University. (in Thai)

Lap-anunphakun, S. (1995). Study on Insecticides from Pseudopods and Fungicides from Tree Worms. [Master's Thesis, Chiang Mai University]. University of Chiangmai. (in Thai)

Mayachiew, P., & Devahastin, S. 2008. Antimicrobial and Antioxidant activities of Indian Gooseberry and Galangal Extracts. Food Science and Technology. 41, 1153-1159.

Montri, N., Suwanchan, J., & Kongtrakul, P. (2010). Effects of Crude Extracts from White Macaque on Inhibition of Growth of Some Plant Pathogenic Fungi. Agricultural Sci. J. 41 (3/1) (Suppl.): 89-92. (in Thai)

Obeidat, M., Shatnawi, M., S.Al-mazra'awi, M., & Aldmoor, H. 2015. Antimicrobial Activity of Crude Extracts of Some Plant Leaves. Research, Journal of Microbiology 7(1), 59-67.

Rojsuchit, A. 2020. Effects of A new Type of Fallen Leaves of Para Rubber on Othe Plants (*Alternate Hosts*). Warning News for Agricultural Problems. Para Rubber Journal. 41(3), 1-42. (in Thai)

Rojsuchit, A., Chanthaprathin, U., Ruensukharom, P., & Klaawklong, B. 2009. Efficacy of Local Chemicals on White root Disease Prevention and Control. Activities Under the Rubber White Root Disease Management Research Project. Department of Agriculture: (in Thai)

Ruangrangsi, N., & Tantiwat, P. 1991. Medicinal Plants, Printed at O.S. Printing House, Bangkok, Page 112. (in Thai)

Sutthisa, W., Tapkhumram, P., & Kanchanarat, W. 2014. Efficiency of Thai Medicinal Plant Extract to Control *Colletotrichum* sp. A causal Agent of Mango Anthracnose.Khonkaenagr. J. 42 Suppl. 1. (in Thai)

Ubonsuk, C., & Pornsuriya, C. 2019. Identification and Identification of Fungi on Rubber leaves (*Hevea brasiliensis*) in Khao Kho Hong Conservation Area. Prince of Songkla University Songkhla Province. Songklanakarin Journal of Plant Sciences. 6(3), 89-96. (in Thai)

ภาคผนวก

ตารางผนวกที่ 1 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อ *Colletotrichum* sp.ในชุดการทดลองด้วยน้ำ

ความเข้มข้นสารที่สกัดด้วยน้ำ	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนี (cm)									
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ซ้ำที่ 4	ซ้ำที่ 5	ซ้ำที่ 6	ซ้ำที่ 7	ซ้ำที่ 8	รวม	เฉลี่ย
T1	6.8	6.8	6.3	7.0	6.8	6.9	7.0	7.3	54.9	6.8
T2	6.8	7.0	7.4	7.2	7.2	6.5	6.9	6.4	55.4	6.9
T3	6.9	7.2	7.5	6.7	7.5	7.0	7.2	6.8	55.8	6.9
T4	6.6	7.0	7.8	7.1	7.7	7.7	7.7	7.0	58.6	7.3
T5	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0	72.0	9.0

หมายเหตุ T1 = 1 : 10 ใช้สาร 50 กรัม/น้ำ 500 มิลลิลิตร

T2 = 1 : 15 ใช้สาร 50กรัม/น้ำ 750 มิลลิลิตร

T3 = 1 : 20 ใช้สาร 50 กรัม/น้ำ 1000 มิลลิลิตร

T4 = 1: 25 ใช้สาร 50กรัม/น้ำ 1250 มิลลิลิตร

T5 = ชุดควบคุมใช้อาหาร PDA อย่างเดียว

ตารางผนวกที่ 2 วิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อ *Colletotrichum* sp. ในชุดการทดลองด้วยน้ำ

SOV.	Df	Sum Sq	Mean Sq	F vale	Pr (>F)
Treatment	4	26.074	6.518	64.02	1.31e-15
Residuals	35	3.564	0.102		

หมายเหตุค่า CV (%) = 4.30 %

ตารางผนวกที่ 3 การยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคใบร่วงยางพาราของสารสกัดหยาบที่สกัดด้วยน้ำ

ความเข้มข้นสารที่สกัดด้วยน้ำ	การยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคใบร่วงยางพารา (เปอร์เซ็นต์)									
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ซ้ำที่ 4	ซ้ำที่ 5	ซ้ำที่ 6	ซ้ำที่ 7	ซ้ำที่ 8	รวม	เฉลี่ย
T1	24.44	24.44	30.00	22.22	24.44	23.33	22.22	18.89	190.00	23.74
T2	24.44	22.22	17.78	20.00	20.00	27.78	23.33	28.89	184.44	23.05
T3	23.33	20.00	16.67	25.56	27.78	22.22	20.00	24.44	180.00	22.50
T4	26.67	22.22	13.33	21.11	14.44	14.44	14.44	22.22	148.89	18.55
T5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

หมายเหตุT1 = 1 : 10 ใช้สาร 50 กรัม/น้ำ 500 มิลลิลิตร

T2 = 1: 15 ใช้สาร 50 กรัม/น้ำ 750 มิลลิลิตรขบ

T3 = 1 : 20 ใช้สาร 50 กรัม/น้ำ 1000 มิลลิลิตร

T4 = 1 : 25 ใช้สาร 50 กรัม/น้ำ 1250 มิลลิลิตร

T5 = ชุดควบคุมใช้อาหาร PDA อย่างเดียว

ตารางผนวกที่ 4 วิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) การยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคใบร่วงยางพาราของสารสกัดหยาบที่สกัดด้วยน้ำ

SOV.	Df	Sum Sq	Mean Sq	F vale	Pr (>F)
Treatment	4	3218	804.4	63.42	1.51e-15
Residuals	35	444	12.7		

หมายเหตุค่า CV (%) = 20.28 %

ตารางผนวกที่ 5 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อ *Colletotrichum* sp.ในชุดการทดลองด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์

ความเข้มข้นสารที่สกัดด้วยเอทานอล	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนี (cm)									
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ซ้ำที่ 4	ซ้ำที่ 5	ซ้ำที่ 6	ซ้ำที่ 7	ซ้ำที่ 8	รวม	เฉลี่ย
T1	6.4	7.0	7.3	7.0	8.0	8.4	8.2	8.3	60.6	7.5
T2	5.3	5.3	5.9	7.4	8.0	8.2	8.0	6.9	55.0	6.8
T3	3.8	4.1	4.4	4.3	4.5	4.3	4.4	4.4	34.2	4.2
T4	3.0	3.7	4.0	4.3	3.8	4.4	4.0	4.0	31.2	3.9
T5	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0	72.0	9.0

หมายเหตุ T1 = 400 มิลลิลิตร/ลิตร ใช้สาร 0.6 กรัม/อาหาร 150 มิลลิลิตร

T2 = 600 มิลลิลิตร/ลิตรใช้สาร 0.9 กรัม/อาหาร 150 มิลลิลิตร

T3 = 800 มิลลิลิตร/ลิตรใช้สาร 1.2 กรัม/อาหาร 150 มิลลิลิตร

T4 = 1000 มิลลิลิตร/ลิตร ใช้สาร 1.5 กรัม/อาหาร 150 มิลลิลิตร

T5 = ชุดควบคุมใช้อาหาร PDA อย่างเดียว

ตารางผนวกที่ 6 วิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อ *Colletotrichum* sp. ในชุดการทดลองด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์

SOV.	Df	Sum Sq	Mean Sq	F vale	Pr (>F)
Treatment	4	152.83	38.21	83.45	<2e-16
Residuals	35	16.03	0.46		

หมายเหตุค่า CV (%) = 10.72 %

ตารางผนวกที่ 7 การยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคใบร่วงยางพาราของสารสกัดหยาบที่สกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์

ความเข้มข้นสารที่สกัดด้วยเอทานอล	การยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคใบร่วงยางพารา (เปอร์เซ็นต์)									
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ซ้ำที่ 4	ซ้ำที่ 5	ซ้ำที่ 6	ซ้ำที่ 7	ซ้ำที่ 8	รวม	เฉลี่ย
T1	28.89	22.22	18.89	22.22	11.11	6.67	8.89	7.78	126.67	15.83
T2	41.11	41.11	34.44	17.78	11.11	8.89	11.11	23.33	188.89	23.61
T3	57.78	54.44	51.11	52.22	50.00	52.22	51.11	51.11	420.00	52.49
T4	66.67	58.89	55.56	52.22	57.78	51.11	55.56	55.56	453.33	56.66
T5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

หมายเหตุ T1 = 400 มิลลิลิตร/ลิตรใช้สาร 0.6 กรัม/อาหาร 150 มิลลิลิตร

T2 = 600 มิลลิลิตร/ลิตรใช้สาร 0.9 กรัม/อาหาร 150 มิลลิลิตร

T3 = 800 มิลลิลิตร/ลิตรใช้สาร 1.2 กรัม/อาหาร 150 มิลลิลิตร

T4 = 1000 มิลลิลิตร/ลิตร ใช้สาร 1.5 กรัม/อาหาร 150 มิลลิลิตร

T5 = ชุดควบคุมใช้อาหาร PDA อย่างเดียว

ตารางผนวกที่ 8 วิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) การยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคใบร่วงยางพาราของสารสกัดหยาบที่สกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์

SOV.	Df	Sum Sq	Mean Sq	F vale	Pr (>F)
Treatment	4	18868	4717	83.46	<2e-16
Residuals	35	1978	57		

หมายเหตุค่า CV (%) = 25.40 %