

ประสิทธิภาพของน้ำส้มควันไม้จากต้นยูคาลิปตัสและสะเดา ในการควบคุมเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides*

Efficiency of Wood Vinegar Extracts from Eucalyptus and Neem Trees for Controlling *Colletotrichum gloeosporioides*

วิลาสินี แสงนาค^{1/, 2/} และ สรัญญา ณ ลำปาง^{1/, 2/}
Vilasinee Sangnak^{1/, 2/} and Sarunya Nalumpang^{1/, 2/}

Abstract: Assays on the efficiency of wood vinegar extracts of eucalyptus and neem trees in controlling *Colletotrichum gloeosporioides* were carried out. The methods used in this study included isolation of the *C. gloeosporioides* from mango cv. 'Nam Dok Mai', sensitivity assays of the *C. gloeosporioides* to the carbendazim fungicide and inhibition activity assays of wood vinegar extracts of eucalyptus and neem trees to the *C. gloeosporioides*. The results showed that from a total of 131 *C. gloeosporioides* isolates that isolated from mango cv. 'Nam Dok Mai', 94 isolates (71.76%) were highly resistant (HR), 2 isolate (1.53%) was moderately resistant (MR) and 35 isolates (26.72%) were sensitive (S) to the carbendazim fungicide. Three isolates, one from each phenotype, were selected in the inhibition activity assays of the wood vinegar extracts of eucalyptus and neem trees to the *C. gloeosporioides*. Both wood vinegar extracts were screened for their inhibition activity against *C. gloeosporioides* on agar plates by mixing the extracts with potato dextrose agar (PDA). In this experiment, both wood vinegar extracts could completely inhibit the hyphal growth of *C. gloeosporioides* (100% efficiency) at 2% (v/v) concentration, and showed inhibition activity to the conidial germination of *C. gloeosporioides* (100% efficiency) after 24 hour at 1% (v/v) concentration. The lower eucalyptus vinegar extract concentration could inhibit the hyphal growth and conidial germination better than neem vinegar extract. The inhibition activity assays was also carried out by soaking mango fruits into eucalyptus vinegar extract at 1, 2 and 3% (v/v) concentration for 1, 3 and 5 min. The soaking mango fruits in 1% eucalyptus vinegar extract for 1 min produced the highest inhibition activity on the anthracnose disease incident of the mango fruits. The vinegar extract smell wad faded away within a day. Using this combination, the mango fruits did not show any anthracnose symptom up to 16 days incubation period while the control had shown the symptom over the mango. The skin and taste were not differences from the mango before soaking. In conclusion, wood vinegar extract of eucalyptus wood has a potential as an alternative agent for controlling anthracnose disease of mango fruits.

Keywords: Wood vinegar extract, *Colletotrichum gloeosporioides*, mango

^{1/}ภาควิชากีฏวิทยาและโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

^{1/}Department of Entomology and Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University

^{2/}ศูนย์ความเป็นเลิศด้านเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร สำนักพัฒนาบัณฑิตศึกษาและวิจัยด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา

^{2/}Center of Excellence on Agricultural Biotechnology: (AG-BIO/PERDO-CHE), Bangkok, Thailand

บทคัดย่อ: การศึกษาประสิทธิภาพของน้ำส้มควันไม้จากต้นยูคาลิปตัสและสะเดา ในการควบคุมเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ โดยรวบรวมเชื้อราได้ทั้งหมด 131 ไอโซเลท จากนั้นทดสอบความต้านทานต่อสารกำจัดเชื้อราคาร์เบนดาซิม พบเชื้อราที่ต้านทานสารป้องกันกำจัดเชื้อราคาร์เบนดาซิมระดับสูง (HR) จำนวน 94 ไอโซเลท (71.76%), ต้านทานระดับปานกลาง (MR) 2 ไอโซเลท (1.53%) และระดับอ่อนแอ (S) 35 ไอโซเลท (26.72%) สำหรับการทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเส้นใยของเชื้อรา *C. gloeosporioides* โดยผสมน้ำส้มควันไม้ในอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar (PDA) ที่ระดับความเข้มข้นที่ทำการทดลอง พบว่าน้ำส้มควันไม้ทั้ง 2 ชนิด ที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 2% (v/v) ขึ้นไป ยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราได้ 100% ส่วนประสิทธิภาพในการยับยั้งการงอกของโคนิเดียที่เวลา 24 ชั่วโมง พบว่าน้ำส้มควันไม้ทั้ง 2 ชนิด ที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 1% (v/v) ขึ้นไป ยับยั้งการงอกของสปอร์ได้ 100% จากประสิทธิภาพของน้ำส้มควันไม้ยูคาลิปตัสที่ระดับความเข้มข้นน้อยสามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใย และการงอกของสปอร์เชื้อราได้ดีกว่าน้ำส้มควันไม้สะเดา จึงนำน้ำส้มควันไม้ยูคาลิปตัสทดสอบการควบคุมโรคบนผลมะม่วง โดยแช่มะม่วงในน้ำส้มควันไม้ที่ความเข้มข้น 1, 2 และ 3% (v/v) เป็นเวลา 1, 3 และ 5 นาที ตามลำดับ แล้วปลูกเชื้อ พบว่าการแช่มะม่วงในน้ำส้มควันไม้ 1% (v/v) เป็นเวลา 1 นาที สามารถลดการเกิดโรคได้ เมื่อเทียบกับชุดควบคุม เมื่อตรวจสอบคุณภาพของมะม่วงหลังจากการแช่น้ำส้มควันไม้เป็นเวลา 16 วัน กลับจะหายไปในวันแรกหลังจากการแช่น้ำส้มควันไม้ และไม่พบอาการของโรคที่ผล ในขณะที่ชุดควบคุมแสดงอาการของโรคทั่วทั้งผล นอกจากนี้สีเปลือก และรสชาติของมะม่วงไม่ต่างจากมะม่วงก่อนนำมาแช่น้ำส้มควันไม้ กล่าวโดยสรุปน้ำส้มควันไม้จากยูคาลิปตัสมีศักยภาพในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสในผลมะม่วง

คำสำคัญ: น้ำส้มควันไม้ *Colletotrichum gloeosporioides* มะม่วง

คำนำ

มะม่วงเป็นไม้ผลที่ได้รับความนิยมจากเกษตรกรอย่างกว้างขวางในปัจจุบัน เพราะเป็นพืชที่ปลูกง่าย สามารถขึ้นได้ในดินแทบทุกชนิด มีแนวโน้มการส่งออกมากขึ้น ทำให้มะม่วงกลายเป็นไม้ผลเศรษฐกิจอีกชนิดหนึ่ง (เฉลิมชัย, 2539) แต่เนื่องจากปัญหาจากการเข้าทำลายของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนส ที่สามารถเข้าทำลายมะม่วงได้ทุกระยะการเจริญเติบโต (สุชาติ และคณะ, 2531) ทั้งยังสามารถติดเชื้อแบบแฝง (quiescent infection) ตั้งแต่ระยะแทงช่อดอก ส่งผลให้เกิดอาการจุดดำในผลมะม่วงเมื่อสุก (Jeger *et al*, 1987) ก่อให้เกิดความเสียหายอย่างมากต่อการผลิตมะม่วงเพื่อการส่งออก

จากการศึกษาของ Fitzell and Peak (1984) พบว่า การแพร่กระจายของโรคแอนแทรคโนสเกิดจากโคนิเดียที่ผลิตบนใบที่เป็นโรคแล้วร่วงหล่น ช่อดอกที่แห้งและฐานรองดอก แพร่ระบาดไปโดยทางลมและฝน

โดยเฉพาะในสภาพอากาศที่ชื้นอุณหภูมิสูงสลับกับความแห้งแล้ง สปอร์ของเชื้อราจากใบที่เป็นโรคจะไหลไปตามหยดน้ำลงสู่ขั้วผลแล้วกระจายไปทั่วผลทำให้ขั้วผลและก้นผลเน่า บางครั้งมีการพักตัวในผลและทำให้ผลเน่าในระยะเวลาหลังเก็บเกี่ยว (นิพนธ์, 2542) ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของมะม่วงนี้ เกษตรกรนิยมใช้สารเคมีเพื่อป้องกันกำจัด ซึ่งสารเคมีที่เกษตรกรใช้มักเป็นสารประเภทดูดซึม แต่ผลเสียของการใช้สารเคมีประเภทดังกล่าวเมื่อใช้ติดต่อกันเป็นระยะเวลานาน คือ จะทำให้เชื้อต้านทานต่อสารเคมีที่ใช้ ทำให้ไม่สามารถใช้สารเคมีนั้นในการควบคุมโรคได้อีกในคราวต่อไป (ธรรมศักดิ์, 2543) ดังนั้นการควบคุมโรคพืชโดยใช้น้ำส้มควันไม้จึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการควบคุมโรคโดยไม่ใช้สารเคมี เนื่องจากน้ำส้มควันไม้เป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการเผาถ่านธรรมชาติไม่มีการนำมาใช้ประโยชน์ต่อได้ มีฤทธิ์เป็นกรดอ่อน มีคุณสมบัติควบคุมโรคพืชได้หลายชนิด เช่น โรคเหี่ยวของแตงโม โรคราน้ำค้างของแตงกวา เป็นต้น (Quan Shunzi, 1994)

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การเก็บตัวอย่างและแยกเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสของมะม่วง แยกเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสจากใบ และผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ ที่แสดงอาการของโรค โดยวิธี Tissue transplanting technique (Agrios, 2005) โดยใช้อาหาร potato dextrose agar (PDA) จากนั้นเก็บเชื้อในหลอดทดลองเพื่อใช้เป็น stock culture สำหรับศึกษาขั้นต่อไป

2. การทดสอบความต้านทานสารป้องกันกำจัดเชื้อราคาร์เบนดาซิมของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของมะม่วง ใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 cm ตัดบริเวณขอบโคโลนีของเชื้อราที่เลี้ยงบนอาหาร PDA เป็นเวลา 7 วัน วางบนอาหาร PDA ที่ผสมสารป้องกันกำจัดเชื้อราคาร์เบนดาซิม 6 ระดับความเข้มข้น ได้แก่ 0.1, 1, 10, 100, 500 (อัตราแนะนำ) และ 1,000 µg/ml เปรียบเทียบการเจริญของเชื้อรากับชุดควบคุมที่ไม่ผสมสารป้องกันกำจัดเชื้อราคาร์เบนดาซิม ทดลองความเข้มข้นละ 5 ซ้ำ บันทึกการเจริญของเชื้อรา โดยวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ประเมินระดับความต้านทานของเชื้อราต่อสารกำจัดเชื้อราคาร์เบนดาซิมเป็น 4 ระดับ ได้แก่ sensitive (S) คือ เชื้อราสายพันธุ์ปกติ ซึ่งเจริญได้บนอาหารผสมสารกำจัดเชื้อราคาร์เบนดาซิมที่ความเข้มข้น 0 - 1 µg/ml, ระดับ weakly resistant (WR) คือ เชื้อราสายพันธุ์ต้านทานระดับต่ำ หรือเจริญได้บนอาหารที่ความเข้มข้น 0 - 10 µg/ml, ระดับ moderately resistant (MR) คือ เชื้อราสายพันธุ์ต้านทานระดับปานกลาง หรือเจริญได้บนอาหารที่ความเข้มข้น 0 - 100 µg/ml และ ระดับ highly resistant (HR) คือ เชื้อราสายพันธุ์ต้านทานระดับสูง หรือสามารถเจริญได้บนอาหารที่ความเข้มข้น 0 - 1,000 µg/ml ซึ่งการประเมินระดับความต้านทานนี้ ดัดแปลงจากหลักเกณฑ์ของ Koenraad et al. (1992) และ Peres et al. (2004)

3. ประสิทธิภาพของน้ำส้มควันไม้ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของมะม่วง บนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ เลี้ยงเชื้อรา

C. gloeosporioides จาก stock บนอาหาร PDA ป่มเชื้อที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน คัดเลือกเชื้อราในกลุ่มต่างๆ มาทดสอบ ได้แก่ เชื้อสายพันธุ์ปกติ (S53), เชื้อสายพันธุ์ต้านทานสารกำจัดเชื้อราคาร์เบนดาซิมระดับปานกลาง (MR63) และเชื้อสายพันธุ์ต้านทานสารกำจัดเชื้อราคาร์เบนดาซิมระดับสูง (HR12) โดยใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 cm เจาะ ขอบนอกของโคโลนีเชื้อรา โดยให้มีส่วนการเจริญของเส้นใยที่สม่ำเสมอ (culture disc) วางบนอาหาร PDA ที่ผสมน้ำส้มควันไม้ความเข้มข้นต่างๆ

3.1 ประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใย ทดสอบประสิทธิภาพของน้ำส้มควันไม้ 2 ชนิด ได้แก่ น้ำส้มควันไม้ยูคาลิปตัส และสะเดา โดยผสมในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ 4 ระดับความเข้มข้น 0.5, 1, 1.5 และ 2% (v/v) ตามลำดับ ทดสอบความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ บ่มที่อุณหภูมิห้อง บันทึกผลการทดลองโดยวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อราเมื่อชุดควบคุมเจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ จากนั้นนำค่าเฉลี่ยมาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง

การตรวจสอบลักษณะเส้นใยของเชื้อรา นำเส้นใยเชื้อราที่เจริญบนอาหาร PDA ผสมน้ำส้มควันไม้ใน ระดับความเข้มข้นต่างๆ วางบนสไลด์ที่หยด lactophenol โดยสุ่มเขี่ยเส้นใย โคโลนีละ 5 ตำแหน่ง ได้แก่ บริเวณรอบโคโลนีจำนวน 4 ตำแหน่ง และตรงกลางโคโลนีอีก 1 ตำแหน่ง จากนั้นปิด cover slip นำไปตรวจดูลักษณะของเส้นใยภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 400 เท่า เพื่อเปรียบเทียบลักษณะเส้นใยของเชื้อรากับชุดควบคุม โดยทำความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ

3.2 ประสิทธิภาพในการยับยั้งการงอกของสปอร์ ทดสอบการยับยั้งการงอกของโคนิเดียด้วยวิธี slide culture technique โดยเติมน้ำกลั่นฆ่าเชื้อปริมาตร 10 ml ลงบนผิวหน้าโคโลนีเชื้อราที่เจริญบนอาหาร PDA อายุ 10 วัน จากนั้น ใช้ loop ขูดทั่วผิวหน้าโคโลนีเชื้อรา กรองแยกสารแขวนลอยออกด้วยผ้าขาวบางที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว จากนั้นนับจำนวนโคนิเดียต่อน้ำกลั่นปริมาตร 1 ml เพื่อให้ได้ความเข้มข้น 25×10^4 spores/ml เเพาะเลี้ยงโคนิเดียบนอาหารวุ้น (water agar; WA) บนชุด slide culture โดยหยด spore suspension ปริมาตร 1 µl บน

ขึ้นวัน แล้วปิด cover slip โดยทดสอบน้ำส้มควันไม้ที่ความเข้มข้น 0.5, 1, 1.5 และ 2% ตามลำดับ บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ตรวจจุลลักษณะของโคนิเดียภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 400 เท่า เพื่อตรวจจุลลักษณะโคนิเดียเชื้อรา เปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่ผสมน้ำส้มควันไม้ และนับจำนวนโคนิเดียที่งอก โดยโคนิเดียที่ถือว่างอกนั้น ต้องเป็นโคโลนีที่งอก germ tube ออกมามากกว่าความกว้างของโคนิเดีย ซึ่งการตรวจจุลลักษณะของโคนิเดีย และการตรวจนับการงอกของโคนิเดีย นั้นจะสุ่มตรวจ 5 ตำแหน่ง ได้แก่ บริเวณรอบขึ้นวัน จำนวน 4 ตำแหน่ง และตรงกลางขึ้นวันอีก 1 ตำแหน่ง ทำความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ

4. ประสิทธิภาพของน้ำส้มควันไม้ในการควบคุมเชื้อราโรคแอนแทรกโนสบนผลมะม่วง ทำความสะอาดผลมะม่วงที่ปราศจากโรคและแมลง ฆ่าเชื้อที่ผิวด้วย 70% ethanol ผึ่งไว้ให้แอลกอฮอล์ระเหย ทดสอบประสิทธิภาพของน้ำส้มควันไม้ในการควบคุมโรค โดยแช่ผลมะม่วงในน้ำส้มควันไม้ยูคาลิปตัส 3 ระดับความเข้มข้น ได้แก่ 1, 2 และ 3% (v/v) เป็นระยะเวลา 1, 3 และ 5 นาที ตามลำดับ โดยชุดควบคุมคือ มะม่วงที่แช่น้ำส้มควันไม้และไม่ปลูกเชื้อ และมะม่วงที่แช่น้ำส้มควันไม้และปลูกเชื้อ วางแผนการทดลองแบบ completely randomized design (CRD) กรรมวิธีละ 4 ซ้ำ ผึ่งให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นปลูกเชื้อรา *C. gloeosporioides* สังเกตและบันทึกผลจากลักษณะอาการของโรคที่เกิดขึ้น

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การเก็บตัวอย่างและแยกเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรกโนสของมะม่วง จากการตรวจสอบตัวอย่างมะม่วงที่แสดงอาการโรคแอนแทรกโนส และแยกเชื้อบริสุทธิ์ พบว่าเมื่อบ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน จะปรากฏเส้นใยเชื้อราเจริญบนผิวหน้าอาหาร PDA และเส้นใยจะเจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อภายใน 7 - 10 วัน ในการศึกษาครั้งนี้ สามารถแยกเชื้อสาเหตุได้ทั้งหมด 131

ไอโซเลท ที่มีลักษณะต่างๆ กัน เช่น สีขาว สีเทา สีน้ำตาลเทา สีเทาอ่อนจนถึงเข้ม และทุกไอโซเลทมีเส้นใยลักษณะฟู เมื่อดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 400 เท่า พบเส้นใยใส ไม่มีสี และมีผนังกันโคนิเดียมีลักษณะ รูปไข่ หัวท้ายมน (cylindrical) ขนาด 4.2-5.1 x 15.4-20.6 μm มีเซลล์เดี่ยว ไส้ ไม่มีสี จึงจัดจำแนกเป็นเชื้อรา *C. gloeosporioides* ตามหลักเกณฑ์ของ Sutton (1992) ซึ่งในการทดลองนี้ได้มีการยืนยันผลโดยการทำ polymerase chain reaction (PCR) ด้วย species-specific primer ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ได้แถบ DNA ขนาด 450 bp (ภาพที่ 1)

2. การทดสอบความต้านทานสารป้องกันกำจัดเชื้อราคาร์เบนดาซิมของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรกโนสของมะม่วง จากการทดสอบความต้านทานต่อสารป้องกันกำจัดเชื้อราคาร์เบนดาซิมของเชื้อรา *C. gloeosporioides* จำนวน 131 ไอโซเลท พบเชื้อราที่ต้านทานต่อสารป้องกันกำจัดเชื้อราคาร์เบนดาซิมระดับสูง (HR), ต้านทานระดับปานกลาง (MR) และระดับอ่อนแอ (S) จำนวน 94 (71.76%), 2 (1.53%) และ 35 ไอโซเลท (26.72%) ตามลำดับ ซึ่งในการทดลองครั้งนี้ไม่พบเชื้อราที่ต้านทานระดับต่ำ (WR) เมื่อตรวจสอบเส้นใยเชื้อราสายพันธุ์ S และ HR ที่เลี้ยงบนอาหาร PDA มีลักษณะฟูสีขาวผสมสีเทาอ่อน และเมื่อตรวจดูปลายเส้นใยภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 400 เท่า พบเส้นใยของเชื้อราทั้ง 2 สายพันธุ์ไม่แตกต่างกัน มีลักษณะยาว เรียวตรง แสดงผลแตกต่างจากศึกษาของกรองจิต (2530) เมื่อศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (scanning electron microscope) พบว่าเส้นใยเชื้อรามีการเปลี่ยนแปลงไปจากเดิม เช่น บวมพอง โป่งกลม เรียงต่อกันเป็นข้อๆ เส้นใยจะเหี่ยวและเป็นร่องไปตามยาวเรียงอัดตัวแน่น และเมื่อตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบ compound microscope พบว่าเชื้อราสร้างสปอร์ผิดปกติไป เช่น รูปร่างเล็กและผอมลง หรือรูปร่างอ้วน และยาวขึ้นหรือหักงอ

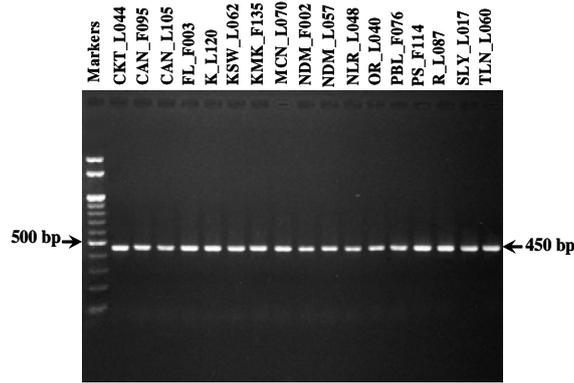


Figure 1 Amplification of partial ITS region for species identification of various isolates of mango anthracnose pathogens (*Colletotrichum gloeosporioides*) by PCR using species-specific primers of CglT and ITS4. Markers are 100 bp ladder, and arrow on the left side indicates the position of 500 bp. The arrow on the right marks the group-specific band.

3. ประสิทธิภาพของน้ำส้มควันไม้ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรกโนสของมะม่วงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ

3.1 ประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใย จากการทดสอบประสิทธิภาพของน้ำส้มควันไม้ในการควบคุมการเจริญของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ทั้ง 3 ไอโซเลต ได้แก่ S53, MR63 และ HR12 พบว่าน้ำส้มควันไม้ยูคาลิปตัสมีประสิทธิภาพดีกว่าน้ำส้มควันไม้สะเดา เนื่องจากที่ความเข้มข้น 1.5 และ 2% (v/v) น้ำส้มควันไม้ยูคาลิปตัสยับยั้งการเจริญเส้นใยได้ในช่วง 81.33 - 100% และ 100% ตามลำดับ ในขณะที่น้ำส้มควันไม้สะเดายับยั้งการเจริญเส้นใยได้ในช่วง 51.47 - 100% และ 100% ตามลำดับ ซึ่งน้ำส้มควันไม้ทั้ง 2 ชนิด ที่ความเข้มข้น 1.5% ยับยั้งการเจริญของเส้นใยของเชื้อสายพันธุ์ S และ MR ได้ 100% และน้ำส้มควันไม้ยูคาลิปตัส 1.5 และ 2% ยับยั้งเชื้อสายพันธุ์ HR ได้ 81.33 และ 100% ตามลำดับ (ตารางที่ 1) ให้ผลสอดคล้องกับรายงานของ วรรมน (2549) วิไลลักษณ์ (2549) และจตุรรัตน์ (2550) ได้ศึกษาว่าน้ำส้มควันไม้สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum* sp. สาเหตุโรคแอนแทรกโนสของส้ม กล้วย พุทรา และพริกได้ตามลำดับ และเมื่อศึกษาลักษณะโคไนด์เชื้อราที่เลี้ยงบน

อาหาร PDA ผสมน้ำส้มควันไม้ และเส้นใยเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 400 เท่า พบเส้นใยของเชื้อราทุกไอโซเลตมีลักษณะไม่แตกต่างกันจากชุดควบคุม ซึ่งจากการทดลองที่น้ำส้มควันไม้ยูคาลิปตัสมีประสิทธิภาพดีกว่าน้ำส้มควันไม้สะเดาในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราทุกไอโซเลตนั้น แสดงให้เห็นว่าน้ำส้มควันไม้ได้มาจากไม้ต่างชนิดกัน จะมีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคได้แตกต่างกันด้วย

3.2 ประสิทธิภาพในการยับยั้งการงอกของสปอร์ ศึกษาลักษณะโคไนด์เดียวจาก slide culture เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 400 เท่า พบเชื้อราทุกไอโซเลตมีลักษณะโคไนด์เดียวไม่แตกต่างจากชุดควบคุม และจากการตรวจสอบการงอกของ germ tube ของเชื้อรา หลังจาก 24 ชั่วโมง ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 400 เท่า พบว่า น้ำส้มควันไม้จากยูคาลิปตัสมีประสิทธิภาพยับยั้งการงอกของโคไนด์เดียวเชื้อราดีกว่าน้ำส้มควันไม้สะเดา ซึ่งน้ำส้มควันไม้ยูคาลิปตัสที่ 0.5% (v/v) ยับยั้งการงอกโคไนด์เดียวได้ในช่วง 75.33 - 86.67% ในขณะที่น้ำส้มควันไม้สะเดา 0.5% (v/v) ยับยั้งการงอกของโคไนด์เดียวได้ในช่วง 69.33 - 80.00% และน้ำส้มควันไม้ทั้ง 2 ชนิด ที่ระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 1% (v/v) ขึ้นไป สามารถยับยั้งการงอกของโคไนด์เดียวได้ 100% ส่วนที่ ความเข้มข้น 0.5% (v/v) ยับยั้งการงอกของโคไนด์เดียวได้มากกว่า 75%

ทั้งหมด (ตารางที่ 2) แสดงให้เห็นว่าน้ำส้มควันไม้ไม่ได้มีผลทำให้เชื้อราที่มีรูปร่างลักษณะเปลี่ยนไป เพียงแต่มีผลทำให้เชื้อราที่มีการเจริญที่ช้าลง และยับยั้งการงอกของโคนเดียว รวมถึง appressorium เท่านั้น

Table 1 Efficiency of wood vinegar extracts for controlling mycelium growth of *Colletotrichum gloeosporioides* of causing anthracnose on potato dextrose agar for 7 days

Source of wood vinegar	Concentration		pH	Percentage of growth inhibition ^{1/}		
	%	ppm		S53 ^{2/}	MR63	HR12
Eucalyptus	0.5%	5,000	4.09	27.94 ^{c3/}	45.02 ^c	25.18 ^f
	1%	10,000	4.24	39.71 ^b	63.49 ^b	36.20 ^e
	1.5%	15,000	4.19	100 ^a	100 ^a	81.33 ^b
	2%	20,000	4.14	100 ^a	100 ^a	100 ^a
Neem	0.5%	5,000	4.10	8.77 ^d	22.03 ^d	10.29 ^g
	1%	10,000	3.92	29.82 ^c	43.22 ^c	34.56 ^e
	1.5%	15,000	3.85	100 ^a	100 ^a	51.47 ^d
	2%	20,000	3.81	100 ^a	100 ^a	67.65 ^c
%CV				3.52	3.79	3.85
LSD _{0.05}				3.83	4.70	3.39

^{1/}Average from 3 replications

^{2/}Means in a column followed by the same letter are not significantly different at p 0.05

^{3/}S: sensitive, MR: moderately resistant and HR: highly resistant

Table 2 Efficiency of wood vinegar extracts for controlling conidial germination of *Colletotrichum gloeosporioides* causing anthracnose on potato dextrose agar for 24 hours

Source of wood vinegar	Concentration		pH	Percentage of conidia growth inhibition ^{1/}		
	%	ppm		S53 ^{2/}	MR63	HR12
Eucalyptus	0%	0	5.15	0 ^{d3/}	0 ^d	0 ^d
	0.5%	5,000	4.09	75.33 ^b	81.33 ^b	86.67 ^c
	1%	10,000	4.24	100 ^a	100 ^a	100 ^a
	1.5%	15,000	4.19	100 ^a	100 ^a	100 ^a
	2%	20,000	4.14	100 ^a	100 ^a	100 ^a
Neem	0%	0	5.15	0 ^d	0 ^d	0 ^d
	0.5%	5,000	4.1	69.33 ^c	78.67 ^c	80.00 ^b
	1%	10,000	3.92	100 ^a	100 ^a	100 ^a
	1.5%	15,000	3.85	100 ^a	100 ^a	100 ^a
	2%	20,000	3.81	100 ^a	100 ^a	100 ^a
%CV				1.55	0.75	0.47
LSD _{0.05}				1.97	0.98	0.59

^{1/}Average from 3 replications

^{2/}Means in a column followed by the same letter are not significantly different at p 0.05

^{3/}S: sensitive, MR: moderately resistant and HR: highly resistant

4. ประสิทธิภาพของน้ำส้มควันไม้ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสบนผลมะม่วง จากการทดสอบการควบคุมโรคแอนแทรคโนสบนผลมะม่วง ภายหลังจากปลูกเชื้อรา *C.gloeosporioides* ระยะเวลา 16 วัน พบว่าการแช่มะม่วงในน้ำส้มควันไม้ยูคาลิปตัส 1% (v/v) เป็นเวลา 1 นาที มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเกิดโรคบนผลได้ในช่วง 55.17 - 100% โดยยับยั้งเชื้อราสายพันธุ์ปกติ (S53) และเชื้อสายพันธุ์ต้านทานสารกำจัดเชื้อราคาร์เบนดาซิมระดับปานกลาง (MR63) ได้ 100% ส่วนในกรณีเชื้อสายพันธุ์ต้านทานสารกำจัดเชื้อราคาร์เบนดาซิมระดับสูง (HR12) ยับยั้งการเกิดโรคได้ 55.17% ส่วนการแช่มะม่วงในน้ำส้มควันไม้ยูคาลิปตัส 1% (v/v) เป็นเวลา 3 และ 5 นาที มีประสิทธิภาพยับยั้งการเกิดโรคได้ในช่วง 35.86 - 55.78% และ 42.03 - 100% ตามลำดับ นอกจากนี้ พบว่าการแช่น้ำส้มควันไม้ยูคาลิปตัส 2% (v/v) เป็นเวลา 1 นาที และ 3% เป็นเวลา 5 นาที มีประสิทธิภาพในการเกิดโรคจากเชื้อสายพันธุ์ปกติ (S53) ได้ 100% (ตารางที่ 3)

สำหรับการศึกษาถึงคุณภาพของมะม่วง ภายหลังจากแช่น้ำส้มควันไม้ยูคาลิปตัส พบว่ามะม่วงที่แช่น้ำส้มควันไม้แสดงอาการของโรคเพียงเล็กน้อย จนถึงไม่แสดงอาการ บริเวณขั้วผลมีเส้นใยเชื้อราสีขาวฟูเจริญบริเวณขั้วผลเล็กน้อย ไม่ลุกลามบริเวณผล สีเปลือกไม่แตกต่างจากมะม่วงก่อนนำมาแช่น้ำส้มควันไม้ นอกจากนี้ มะม่วงมีรสชาติไม่เปลี่ยนแปลง (ภาพที่ 2) ในขณะที่ชุดควบคุมคือ มะม่วงที่ไม่แช่น้ำส้มควันไม้และไม่ปลูกเชื้อ แสดงอาการของโรคทั่วทั้งผล (100%) การแช่มะม่วงในน้ำส้มควันไม้ที่ความเข้มข้นมาก รวมถึงระยะเวลาที่นาน ทำให้ผิวมะม่วงขำ แล้วเชื้อสาเหตุเข้าทำลายได้มากขึ้น จึงแสดงอาการของโรคและสีเปลือกเปลี่ยนแปลงไป

สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาประสิทธิภาพของน้ำส้มควันไม้จากต้นยูคาลิปตัสและสะเดา ในการควบคุมเชื้อรา *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ สามารถรวบรวมเชื้อราทั้งหมด 131 ไอโซเลท จากนั้นทดสอบความต้านทานต่อสารกำจัดเชื้อราคาร์เบนดาซิม พบเชื้อราที่ต้านทานสารป้องกันกำจัดเชื้อราคาร์เบนดาซิมระดับสูง (HR) มีจำนวน 94 ไอโซเลท (62.67%), ต้านทานระดับปานกลาง (MR) 1 ไอโซเลท (0.67%) และระดับอ่อนแอ (S) 37 ไอโซเลท (24.67%) เมื่อทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสมะม่วง โดยใช้ น้ำส้มควันไม้ทั้ง 2 ชนิด ผสมอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar (PDA) พบว่าน้ำส้มควันไม้ที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 2% ขึ้นไป ยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราได้ 100% เมื่อทดสอบการยับยั้งการงอกของโคนเดียวที่เวลา 24 ชั่วโมง พบว่าน้ำส้มควันไม้ที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 1% (v/v) ขึ้นไป สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์ได้ 100% ซึ่งประสิทธิภาพของน้ำส้มควันไม้ยูคาลิปตัสที่ระดับความเข้มข้นน้อยสามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใย และการงอกของสปอร์เชื้อราได้ดีกว่าน้ำส้มควันไม้สะเดา สำหรับการทดสอบประสิทธิภาพของน้ำส้มควันไม้ยูคาลิปตัสในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสบนผลมะม่วง โดยแช่มะม่วงในน้ำส้มควันไม้ที่ความเข้มข้น 1, 2 และ 3% (v/v) เป็นเวลา 1, 3 และ 5 นาที ก่อนการปลูกเชื้อรา *C. gloeosporioides* พบว่าการแช่มะม่วงในน้ำส้มควันไม้ 1% (v/v) เป็นเวลา 1 นาที มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเกิดโรคได้ในช่วง 55.17 - 100% ซึ่งเมื่อตรวจสอบคุณภาพของมะม่วงภายหลังจากแช่น้ำส้มควันไม้เป็นเวลา 16 วัน พบว่ากลิ่นจะหายไปในวันแรกหลังจากการแช่น้ำส้มควันไม้ และไม่พบอาการของโรคที่ผล ส่วนสีเปลือก และรสชาติของมะม่วงไม่ต่างจากมะม่วงก่อนนำมาแช่น้ำส้มควันไม้ ในขณะที่ผลมะม่วงชุดควบคุมแสดงอาการของโรคทั่วทั้งผล

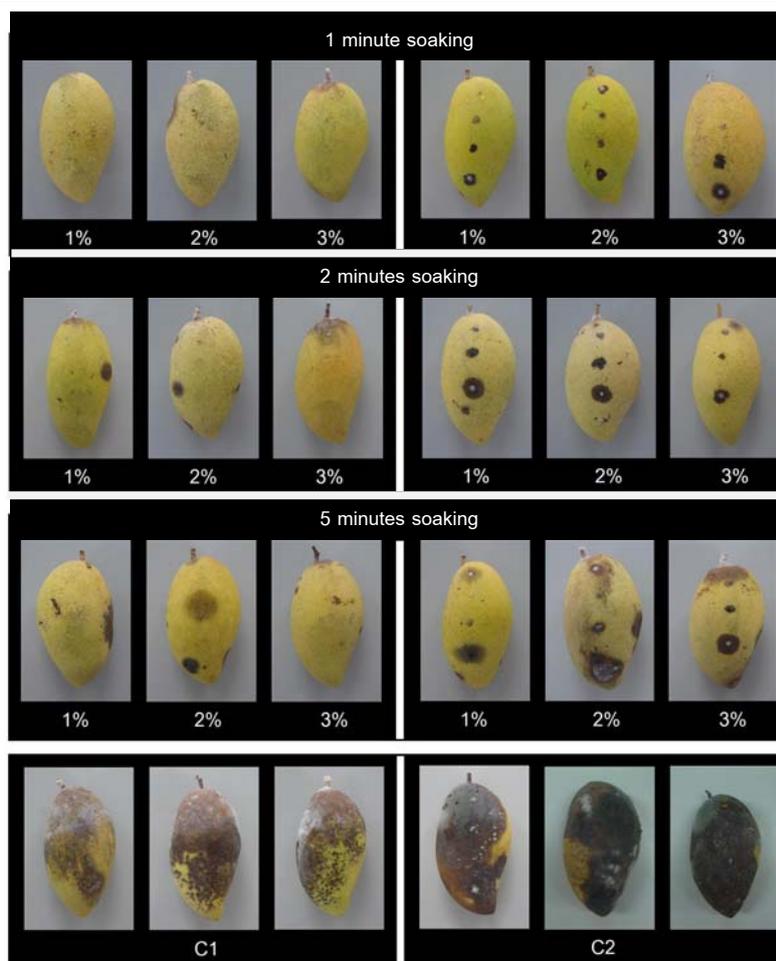


Figure 2 Anthracnose symptom on mango fruits soaked with eucalyptus vinegar extract 1, 2 and 3% (v/v) concentration for 1, 2 and 3 min. before inoculated by *Colletotrichum gloeosporioides* causing anthracnose disease of Mango cv. 'Nam Dok Mai' for 16 days; (C1) non soaked and non inoculated control and (C2) non soaked and inoculated control. The left column shows non-inoculated control and the right column shows inoculated treatment

Table 3 Efficiency of wood vinegar extracts from eucalyptus trees for controlling *Colletotrichum gloeosporioides* mango cv. 'Nam Dok Mai' on causing anthracnose for 16 days

Concentration	Period	Percentage of growth inhibition ^{1/}		
		S53 ^{2/}	MR63	HR12
1%	1 min	100 ^{a3/}	100 ^a	55.17 ^a
	3 min	55.78 ^b	45.65 ^e	35.86 ^h
	5 min	100 ^a	42.03 ^f	49.66 ^b
2%	1 min	100 ^a	49.27 ^d	48.28 ^c
	3 min	55.78 ^b	49.27 ^d	46.21 ^d
	5 min	55.78 ^b	45.65 ^e	55.17 ^a
3%	1 min	55.78 ^b	51.45 ^{bc}	41.38 ^f
	3 min	55.78 ^b	52.90 ^b	44.83 ^e
	5 min	100 ^a	50.72 ^{cd}	40.00 ^g
%CV		1.07	2.31	1.54
LSD _{0.05}		1.38	2.14	1.22

^{1/}Average from 3 replications

^{2/}Means in a column followed by the same letter are not significantly different at p 0.05

^{3/}S: sensitive, MR: moderately resistant and HR: highly resistant

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ คณะเกษตรศาสตร์ และ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่สนับสนุนอุปกรณ์และเครื่องมือต่างๆ ในการทำงานวิจัยและงานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนส่วนหนึ่งจากศูนย์ความเป็นเลิศทางเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร สำนักพัฒนาบัณฑิตศึกษาและวิจัยด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สำนักงานคณะกรรมการอุดมศึกษา กระทรวงศึกษาธิการ (AG-BIO/PERDO-CHE) และสำนักงานกองทุนสนับสนุนงานวิจัย (สกว.)

เอกสารอ้างอิง

กรองจิต แซ่หงอ. 2530. การศึกษาลักษณะความต้านทานของเชื้อ *Colletotrichum* sp. ต่อสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราประเภทดูดซึมบางชนิด. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 155 หน้า.

จุฑารัตน์ ธิป้อ. 2550. ประสิทธิภาพของน้ำส้มควันไม้และไคโตซานในการควบคุมเชื้อรา *Colletotrichum* spp. สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของพริกที่ทนทานต่อสารป้องกันกำจัดเชื้อราคาร์เบนดาซิม. ปัญหาพิเศษปริญญาตรี. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่. 76 หน้า.

เฉลิมชัย แก้ววรชาติ. 2539. การปลูกมะม่วง. อักษรสยามการพิมพ์, กรุงเทพฯ. 88 หน้า.

ธรรมศักดิ์ สมมาตย์. 2543. สารเคมีป้องกันกำจัดโรคพืช. โรงพิมพ์ลินคอล์น, กรุงเทพฯ. 317 หน้า.

นิพนธ์ วิสารทานนท์. 2542. โรคมะม่วง. เอกสารเผยแพร่ทางวิชาการหลักสูตร "หมอพืชไม่ผล" ฉบับที่ 6. เอกสารวิชาการ. หจก. เอ พลัส ทรี มีเดีย, กรุงเทพฯ. 45 น. 44 หน้า.

วรรษมน บุญย้ง. 2549. ประสิทธิภาพของน้ำส้มควันไม้และสารสกัดหยาบจากพริกในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum* spp. สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของส้ม. ปัญหาพิเศษปริญญาตรี. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่. 38 หน้า.

- วิไลลักษณ์ เขื่อนแก้ว. 2549. ประสิทธิภาพของสารสกัด
หยาบของพืชสมุนไพรในวงศ์ Piperaceae
น้ำส้มควั่นไม้ และสาร benomyl ในการ
ควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสของ
กล้วย และพุทรา. ปัญหาพิเศษปริญญาตรี.
มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่. 38 หน้า.
- สมาคมเทคโนโลยีที่เหมาะสม. 2549. การศึกษาการใช้
น้ำส้มควั่นไม้ในระบบเกษตรกรรมอินทรีย์
Study using of Wood Vinegar in Organic
Agriculture. 145 หน้า. ใน: รายงานการ
ประชุมวิชาการโครงการส่งเสริมการผลิตการ
เผาถ่านและการจัดทรัพยากรป่าไม้อย่างมี
ประสิทธิภาพ.
- สุชาติ วิจิตรานนท์, ขจรศักดิ์ ภวกุล และดารา พวง
สุวรรณ. 2531. โรคของมะม่วง. น.9-12 ใน
มะม่วงเพื่อการส่งออก. กรมวิชาการเกษตร,
กรุงเทพฯ.
- Agrios, G.N. 2005. Plant Pathology. 5th ed.
Academic Press., London. 952 p.
- Fitzell, R.D., and C.M. Peak. 1984. The
epidemiology of anthracnose disease of
mango : inoculums sources spore
production and dispersal. Annals of
Applied Biology 104: 53-59. CAB
Abstracts. Accession no. 841397228.
- Jeger, M.J., R.A. Plumpley, C. Prior, and C. Persad.
1987. SS2-Post-harvest aspects of crop
protection. Manila (Philippines). Agris.
Accession no. 90-086360.
- Koenraad, H., S. C. Somerville, and A. L. Jones
1992. Characterization of mutations in the
beta-tubulin gene of benomyl-resistant
field isolates of *Venturia inaequalis* and
other plant pathogenic fungi.
Phytopathology 82: 1348-1354.
- Peres, N. A. R., N. L. Souza, T L. Peever and L. W.
Timmer. 2004. Benomyl sensitivity of
isolates of *Colletotrichum acutatum* and
C. gloeosporioides from citrus. Plant Dis.
88: 125-130.
- Sutton, B. C. 1992. The genus *Glomerella* and its
Anamorph *Colletotrichum*. Pages 1 – 27. in
*Colletotrichum: Biology, Pathology and
Control*. J. A. Bailey, and M. J. Jeger, eds.
CAB International, Wallingford, UK.