

# ศักยภาพของสารสกัดหยาบจากผลส้มโอไทยในการลดความรุนแรงของโรคแคงเกอร์ มะนาว

## Potential of Chebolic myrobalan Fruit Crude Extract on Decreasing Lime Canker Disease Virulence

ศศิธร วุฒิวณิชย์<sup>1\*</sup>

Sasitorn Vudhivanich<sup>1\*</sup>

### ABSTRACT

Potential of chebolic myrobalan fruit crude extract on decreasing lime canker disease virulence were studied. Chebolic myrobalan fruit that showed the best in previous bioassay test to *Xanthomonas citri* sub sp. *citri* (X.c.c.) by paper disc agar diffusion in laboratory were selected. The used of ethanolic chebolic myrobalan fruit crude extract on wound size reduction of lime canker in greenhouse condition were conducted. Seven months old lime (Pan-variety) leaves were sprayed with chebolic myrobalan crude extract at the concentration of 10,000 ppm and 20,000 ppm before X.c.c. inoculation by modified detach leaf technique. The experiment designed to 6 treatments depend on number of time application. Wound sizes of canker were record at 10, 20, 30, 40 and 50 days compared with non treated as control. The result showed the chebolic myrobalan crude extract 20,000 ppm of 3 times application was the best on reduction canker wound size. The average wound sizes at 10-50 days after inoculation were 2.78, 2.71, 2.57, 2.56 and 2.70 mm respectively. The average wound sizes of the crude extract 10,000 ppm of 3 times application were 2.87, 2.80, 2.63, 2.60 and 2.70 mm respectively. While the average wound sizes at 10-50 days of control were 3.00, 3.14, 3.43, 3.66 and 3.96 mm respectively. This experiment concluded that spraying crude extract 3 times application could reduce wound sizes better than once and twice spraying. The used of chebolic myrobalan fruit crude extract for lime canker control under field condition in Karnjanaburi province were conducted. Chebolic myrobalan fruit crude extract at the concentration of 5,000, 10,000 and 20,000 ppm were sprayed on one year old lime (Pan-variety) leaves at 5 replication time every 7 day. The number of disease leaves, percent infection and wound sizes of lime canker were recorded for canker symptom development assessment compared with control by natural infection. The result showed the sprayed with chebolic myrobalan fruit crude extract 20,000 ppm was the best on reduction both number of diseased leaves and canker wound size. In this treatment there are 12 diseased leaves form 169 leaves (0.07 % infection). Average wound size in week 5 was 1.40 mm. Treatment of chebolic myrobalan fruit crude extract 10,000 ppm, there are 25 diseased leaves form 143 leaves (0.17 % infection) and the treatment of chebolic myrobalan fruit crude extract 5,000 ppm, there are 16 disease leaves form 143 leaves (0.11 % infection). In this treatment average wound size bigger than treatment 1 & 2 but smaller than control.

<sup>1\*</sup>ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน อ.กำแพงแสน จ.นครปฐม 73140

Department of Plant Pathology, Faculty of Agriculture at Kamphaengsaen, Kasetsart University, Kamphaengsaen Campus, Nakornpathom 73140, Thailand.

\*Corresponding author: Tel. 0-3435-1890 ext. 3400, 3399, 08-1981-5107, E-mail address: agrstv@ku.ac.th

Control showed 28 diseased leaves form 177 leaves (0.16 % infection). Average wound size of control in week 5 was 4.60 mm and appear brown corky, sunken center and yellowish halo around the enlarge wounds. From these experiments showed potential of chebulic myrobalan fruit crude extract on decreasing lime canker disease virulence under field condition.

**Keywords:** *Xanthomonas citri* sub sp. *citri*, lime canker disease, plant crude extract, chebulic myrobalan, citrus disease

### บทคัดย่อ

การศึกษาศักยภาพของสารสกัดหยาบจากผลสมอไทยในการลดความรุนแรงของโรคแคงเกอร์มะนาวที่เกิดจากแบคทีเรีย *Xanthomonas citri* sub sp. *citri* (X.c.c.) ทำโดยนำสารสกัดหยาบจากผลสมอไทยที่สกัดโดยเอทานอล 95% และระเหยตัวทำละลายออกด้วย Rotary vacuum evaporator ซึ่งมีประสิทธิภาพดีในการยับยั้งเชื้อจากการทดสอบโดยวิธี paper disc agar diffusion ในห้องปฏิบัติการ มาศึกษาระดับความเข้มข้นและวิธีการใช้ที่เหมาะสมในการลดขนาดแผลโรคแคงเกอร์บนใบมะนาวที่ปลูกในเรือนทดลอง โดยใช้สารสกัดหยาบจากผลสมอไทยความเข้มข้น 10,000 ppm และ 20,000 ppm ฉีดพ่นลงบนใบมะนาวพันธุ์แป้นอายุประมาณ 7 เดือน 1 ครั้ง ก่อนการปลูกเชื้อโดยวิธีตัดแปลง detach leaf หลังจากนั้นฉีดพ่นสารสกัดหยาบจากผลสมอไทยความเข้มข้นเดิมซ้ำอีก 0-2 ครั้งแต่ละครั้งห่างกัน 10 วัน ติดตามการพัฒนาอาการของโรค ที่เวลา 10, 20, 30, 40 และ 50 วัน โดยวัดขนาดแผลเปรียบเทียบกับ control ซึ่งใช้น้ำหนึ่งฉีดพ่นแทนสารสกัดจากพืช ผลการทดลองพบว่าสารสกัดหยาบจากผลสมอไทยทั้ง 2 ระดับความเข้มข้น สามารถลดขนาดแผลโรคแคงเกอร์ลงได้เมื่อเทียบกับ control โดยกรรมวิธีที่ฉีดพ่นสารสกัดหยาบจากผลสมอไทย 20,000 ppm รวม 3 ครั้ง สามารถลดขนาดแผลโรคแคงเกอร์บนใบมะนาวได้ดีที่สุด โดยขนาดแผลเล็กกว่ากรรมวิธีอื่นและ control ค่าเฉลี่ยขนาดแผลวัดที่ 10, 20, 30, 40 และ 50 วัน เท่ากับ 2.78, 2.71, 2.57, 2.56 และ 2.70 มม.ตามลำดับ รองลงมาได้แก่ กรรมวิธีที่ฉีดพ่นสารสกัดหยาบ 10,000 ppm รวม 3 ครั้ง ขนาดแผลเฉลี่ย 2.87, 2.80, 2.63, 2.60 และ 2.70 มม. ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับ control ขนาดแผลเฉลี่ย 3.00, 3.14, 3.43, 3.66 และ 3.96 มม.ตามลำดับ แผลมีการพัฒนาขยายขนาด หนูนฟูและลูกกลมมากขึ้นเรื่อยๆตามระยะเวลาที่นานขึ้น จะเห็นได้ว่าการฉีดพ่นสารสกัดหยาบจากผลสมอไทย 20,000 ppm ทุกๆ 10 วัน จำนวน 3 ครั้งติดต่อกัน จะให้ผลในการลดขนาดแผลและชะลอการพัฒนาอาการของโรคแคงเกอร์ได้ดีกว่าการฉีดพ่นสารสกัดหยาบเพียงครั้งเดียวหรือ 2 ครั้ง จากนั้นได้นำสารสกัดหยาบจากผลสมอไทยมาใช้ในการลดความรุนแรงของโรคแคงเกอร์ของมะนาวพันธุ์แป้นในสภาพแปลงซึ่งมีปัญหาการระบาดของโรคแคงเกอร์ที่จังหวัดกาญจนบุรี โดยใช้สารสกัดหยาบ 5,000, 10,000 และ 20,000 ppm ฉีดพ่นลงบนทรงพุ่มมะนาวแป้น (อายุประมาณ 1 ปี) ทั้งหมด 5 ครั้ง แต่ละครั้งห่างกัน 7 วัน ติดตามการพัฒนาอาการของโรค โดยนับจำนวนใบที่เกิดแผลและวัดขนาดแผลทุก 7 วัน เปรียบเทียบกับ control พบว่ากรรมวิธีที่ 1 ฉีดพ่นสารสกัดหยาบจากผลสมอไทย 20,000 ppm สามารถลดจำนวนแผล ขนาดของแผล และการพัฒนาอาการของโรคแคงเกอร์ได้ดีที่สุด โดยมีแผลเกิดขึ้นที่ใบเพียง 12 ใบ จากจำนวนใบทั้งหมด 169 ใบ คิดเป็นเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค 0.07 % ซึ่งน้อยกว่ากรรมวิธีอื่น โดยลักษณะแผลที่เกิดขึ้นมีขนาดเล็ก ไม่ขยายลูกกลมและค่อนข้างแห้ง ค่าเฉลี่ยขนาดแผลในสัปดาห์ที่ 5 วัดได้ 1.40 มม. รองลงมาได้แก่ กรรมวิธีที่ 2 ฉีดพ่นสารสกัดหยาบจากผลสมอไทย 10,000 ppm มีแผลเกิดขึ้นบนใบจำนวน 25 ใบ จากใบทั้งหมด 143 ใบ คิดเป็นเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค 0.17 % และกรรมวิธีที่ 3 ฉีดพ่นสารสกัดหยาบ 5,000 ppm มีแผลที่เกิดขึ้นบนใบจำนวน 16 ใบ จากใบทั้งหมด 143 ใบ คิดเป็นเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค 0.11 % กรรมวิธีนี้ขนาดแผลใหญ่กว่ากรรมวิธีที่ 1 และ 2 เมื่อเปรียบเทียบกับ control เกิดแผลที่ใบจำนวน 28 ใบ จากใบทั้งหมด 177 ใบ คิดเป็นเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค 0.16% และขนาดแผล

ใหญ่ที่สุด ค่าเฉลี่ยในสัปดาห์ที่ 5 วัดได้ 4.60 มม. ลักษณะแผลขยายลูกกลม หนูนฟู มี halo ล้อมรอบแผลเป็นวงกว้าง จากผลการทดลองดังกล่าวแสดงถึงศักยภาพของสารสกัดหยาบจากผลสมอไทยในการนำไปพัฒนาและประยุกต์ใช้ในการลดความรุนแรงของโรคแคงเกอร์ของมะนาวในสภาพแปลงต่อไป

**คำสำคัญ:** *Xanthomonas citri* sub sp. *citri* โรคแคงเกอร์ของมะนาว สารสกัดหยาบจากพืช สมอไทย โรคของพืชวงศ์ส้ม

### คำนำ

โรคแคงเกอร์ของมะนาวเป็นโรคสำคัญที่ทำให้ต้องสูญเสียผลผลิตทั้งด้านปริมาณและคุณภาพ ลักษณะอาการของโรค เกิดแผลหนูนฟูคล้ายฟองน้ำสีน้ำตาลอ่อนเกิดทั้งสองด้านของใบต่อมาแตกเป็นสะเก็ดขรุขระแข็งและมีบริเวณสีเหลืองซีด(halo)ล้อมรอบแผล ขนาดแผลบนใบเฉลี่ย 2.5 - 4 มม. อาการบนกิ่ง แผลจะขยายจนรอบกิ่งทำให้ปลายกิ่งแห้งตาย บนผลเป็นแผลหนูนฟูขนาดใหญ่กว่าที่ใบและกินลึกเข้าไปในผิว ในสภาพความชื้นอากาศสูง อาจพบ bacterial exudate ซึมเยิ้มออกมาจากบริเวณแผล ต้นมะนาวที่เป็นโรครุนแรงจะทรุดโทรม กิ่งแห้งตาย สาเหตุโรคเกิดจาก *Xanthomonas citri* sub sp. *citri* ( ชื่อ เดิม *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* และ *Xanthomonas campestris* pv. *citri* ) เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปร่างท่อนสั้น ขนาด 0.5 - 0.75 x 1.5 - 2.0 ไมโครเมตร เคลื่อนที่โดยแฟลกเจลล่า 1 เส้นที่ขั้วของเซลล์ (monotrichous flagellum) ไม่สร้างสปอร์ ลักษณะโคโลนีบนอาหาร nutrient glucose agar (NGA) มีสีเหลืองอ่อนขุ่น กลมมน ผิวเรียบเป็นมัน ต้องการออกซิเจนในการเจริญเติบโตอย่างมาก เชื้อไม่สามารถเปลี่ยนไนเตรทเป็นไนไตรท์ สร้าง hydrogen sulfide ไม่สร้างกรดและก๊าซในน้ำตาลต่างๆ ไม่สร้าง indole สร้าง catalase สามารถย่อยแป้งและ gelatin ได้ดี (Fawcett, 1936, Schaad, 1988) อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญ 27-30 °C เชื้อจะเข้าสู่พืชได้ดีทางปากใบและทางแผลซึ่งอาจเป็นแผลเนื่องจากการเสียดสีของกิ่งหรือใบเมื่อมีลมพัดแรงๆหรือแผลที่เกิดจากแมลง เช่น หนอนซอนใบส้ม(citrus leaf minor : *Phyllocnistis citrella*) การแพร่ระบาดในแปลง เชื้อแพร่กระจาย

ได้ดีโดยน้ำฝน ส่วนการแพร่ระบาดข้ามท้องถิ่นอาจเกิดจากการนำกิ่งพันธุ์ที่มีเชื้อโรคติดมาไปปลูกในที่ต่างๆ โรคนี้จะระบาดมากในช่วงฤดูฝน มะนาวพันธุ์แป้นและพันธุ์ไข่ซึ่งค่อนข้างอ่อนแอต่อโรค จะแสดงอาการของโรครุนแรงกว่าพันธุ์หนึ่งหรือพันธุ์ตาฮีตี (ศศิธร,2545) การควบคุมโรคด้วยสารเคมีทำให้มีสารพิษตกค้างในผลผลิตซึ่งเป็นข้อจำกัดในการส่งออกผลผลิตไปจำหน่ายต่างประเทศ การใช้สารสกัดจากพืชฉีดพ่นเป็นระยะๆเพื่อควบคุมปริมาณเชื้อในแปลงให้อยู่ในระดับต่ำอยู่เสมอ จึงเป็นแนวทางหนึ่งในการป้องกันการระบาดของโรค เป็นวิธีการที่ปลอดภัยต่อเกษตรกร ผู้บริโภค และยังช่วยลดต้นทุนในการผลิต จากการศึกษาพบว่ามีพืชสมุนไพรหลายชนิดสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียสาเหตุโรคได้ วลัยลักษณ์ (2546) ทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืชสมุนไพร 23 ชนิด ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Xanthomonas campestris* pv. *citri* สาเหตุโรคแคงเกอร์ของพืชสกุลส้ม ด้วยวิธี paper disc diffusion บนอาหาร double layer NGA พบว่ามี 5 ชนิดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้แก่สารสกัดจากใบฝรั่งผลสมอพิเภก เปลือกผลทับทิม ผลเบญจกานี และผลสมอไทย ศศิธร (2549) ศึกษาผลของสารสกัดหยาบจากผลสมอพิเภก สมอไทย และเบญจกานี ต่อการพัฒนาอาการโรคแคงเกอร์ของมะกรูด พบว่าสารสกัดหยาบจากพืชทั้ง 3 ชนิด ที่ความเข้มข้น 10,000 ppm สามารถลดขนาดแผลแคงเกอร์ได้ โดยสารสกัดหยาบจากผลสมอไทยให้ผลดีที่สุด ขนาดแผลเฉลี่ยที่ 10, 15 และ 20 วัน เท่ากับ 0.81, 1.17 และ 1.24 มม. ในขณะที่ control ในช่วงเวลาเดียวกัน ขนาดแผลเฉลี่ย 2.70, 2.80 และ 3.03 มม. ตามลำดับ ศศิธร(2551) ศึกษาการลดพัฒนาอาการโรคแคง

เกอร์ของพีชวงศ์ส้มด้วยสารสกัดหยาบจากพีชสมุนไพโรไทย 3 ชนิด ได้แก่ ผลสมอไทย สมอพิเภก และมะขามป้อมในระดับเรือนทดลอง พบว่ากรรมวิธีที่ฉีดพ่นด้วยสารสกัดหยาบจากผลสมอไทย 50,000 ppm ก่อนการปลูกเชื้อและฉีดพ่นซ้ำทุก 7 วัน รวม 3 ครั้ง สามารถลดการพัฒนาอาการของโรคได้ดีที่สุด โดยขนาดผลเฉลี่ยบนใบมะกรูดที่ 15, 20 และ 30 วัน เป็น 0.62, 0.97 และ 1.40 มม. ตามลำดับ ในขณะที่ control ในช่วงเวลาเดียวกัน

### อุปกรณ์และวิธีการ

#### การใช้สารสกัดจากผลสมอไทยในการลดขนาดแผลโรคแคงเกอร์บนใบมะนาวในสภาพเรือนทดลอง

พีชทดลอง ผลสมอไทย (*Chebule myrobalan* : *Terminalia chebula*)

วิธีเตรียมสารสกัดหยาบ นำผลสมอไทยแห้ง มาแช่ในเอทานอล 95% เป็นเวลา 3 วัน (อัตราส่วน พีช : แอลกอฮอล์ = 1 : 2) กรองเศษพีชออก นำส่วนสารละลายไประเหยตัวทำละลายออกด้วย Rotary vacuum evaporator จากนั้นนำไปอบในตู้อบอุณหภูมิ 50°C จนกลายเป็นผงแห้ง

พีชทดสอบต้นมะนาว (*Citrus aurantifolia*) พันธุ์แป้น อายุประมาณ 7 เดือน ปลูกในกระถางดินเผา ในเรือนปลูกพีชทดลอง

เชื้อที่ใช้ในการทดลอง *Xanthomonas citri* sub sp. *citri* (X.c.c.)

วิธีทดลอง ฉีดพ่นสารสกัดหยาบจากผลสมอไทย ลงบนใบมะนาว จากนั้นปลูกเชื้อแบบ คที่ เรีย โดยวิธีตัดแปลง Detached leaf inoculation จัดเป็น 6 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ฉีดพ่นสารสกัด 10,000 ppm 1 ครั้ง ก่อนการปลูกเชื้อ

กรรมวิธีที่ 2 ฉีดพ่นสารสกัด 10,000 ppm 1 ครั้ง ก่อนการปลูกเชื้อ หลังจากนั้น 10 วัน ฉีดพ่นสารสกัดชนิดและความเข้มข้นเดิมซ้ำอีก 1 ครั้ง

กรรมวิธีที่ 3 ฉีดพ่นสารสกัด 10,000 ppm 1 ครั้ง ก่อนการปลูกเชื้อ แล้วฉีดพ่นสาร

ขนาดผลเฉลี่ย 0.97, 1.84 และ 3.00 มม. ตามลำดับ การศึกษาศักยภาพของสารสกัดหยาบจากผลสมอไทยในการลดความรุนแรงของโรคแคงเกอร์มะนาวทั้งในระดับเรือนทดลองและในสภาพแปลงในครั้งนี้ จะทำให้ได้ข้อมูลที่เป็นประโยชน์สามารถนำไปประยุกต์ใช้ได้จริงในแปลง เพื่อทดแทนหรือลดปริมาณการใช้สารเคมีที่เป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อมและตกค้างในผลผลิต และช่วยลดต้นทุนการผลิตมะนาวของเกษตรกรลงได้

สกัดชนิดและความเข้มข้นเดิม ซ้ำอีก 2 ครั้ง แต่ละครั้งห่างกัน 10 วัน

กรรมวิธีที่ 4 ฉีดพ่นสารสกัด 20,000 ppm 1 ครั้ง ก่อนการปลูกเชื้อ

กรรมวิธีที่ 5 ฉีดพ่นสารสกัด 20,000 ppm 1 ครั้ง ก่อนการปลูกเชื้อ แล้วฉีดพ่นสารสกัดชนิดและความเข้มข้นเดิมซ้ำอีก 1 ครั้ง

กรรมวิธีที่ 6 ฉีดพ่นสารสกัด 20,000 ppm 1 ครั้ง ก่อนการปลูกเชื้อ แล้วฉีดพ่นสารสกัดชนิดและความเข้มข้นเดิมซ้ำอีก 2 ครั้ง

Control ฉีดพ่นน้ำนิ่งแทนสารสกัดหยาบจากพีช

แต่ละกรรมวิธีปลูกเชื้อบนใบมะนาว 10 ใบๆละ 2 ตำแหน่ง รวม 20 แผล ใช้ถุงพลาสติกคลุมช่อใบที่ปลูกเชื้อไว้เพื่อรักษาความชื้นตลอดการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ สุ่ม สมบูรณ์ (Completely Random Design : CRD) บันทึกผลโดยติดตามการพัฒนาอาการของโรคแคงเกอร์บนใบมะนาว โดยวัดขนาดแผลเปรียบเทียบกับกรรมวิธีต่างๆ กับ control ทุก 10 วัน เป็นเวลา 50 วัน หาค่าเฉลี่ย วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติโดยใช้โปรแกรม Anova : The SAS system และสร้างกราฟ

#### การใช้สารสกัดหยาบจากผลสมอไทยควบคุมโรคแคงเกอร์ของมะนาวในสภาพแปลง

การทดลองนี้ใช้การติดเชื้อโดยธรรมชาติ (natural infection) โดยทำในสวนมะนาวของเกษตรกรจังหวัดกาญจนบุรี ช่วงเดือนตุลาคม ซึ่ง

เป็นระยะที่มีการระบาดของโรค เลือکتันมะนาว พันธุ์แป้น อายุประมาณ 1 ปี จำนวน 4 ต้น ในแปลงปลูกแถวเดียวกัน (กรรมวิธีละ 1 ต้น) เล็มใบที่เป็นโรคแคงเกอร์ออกทั้งหมด กรรมวิธีที่ 1 ฉีดพ่นด้วยสารสกัดหยาบจากผลสมอไทยความเข้มข้น 5,000 ppm กรรมวิธีที่ 2 ฉีดพ่นด้วยสารสกัด 10,000 ppm กรรมวิธีที่ 3 ฉีดพ่นด้วยสารสกัด 20,000 ppm และ Control ฉีดพ่นด้วยน้ำ โดยการฉีดพ่นดังกล่าว ทำทุก 7 วัน รวม 5 ครั้ง เมื่อแต่ละใบเริ่มแสดงอาการของโรคแคงเกอร์ ใช้เชือกสีต่างๆกันและtag ผูกบริเวณก้านใบที่เป็นโรค เพื่อติดตามดูการพัฒนาอาการของโรค

การบันทึกผล นับจำนวนใบที่เป็นโรคต่อจำนวนใบทั้งหมดของแต่ละกรรมวิธี ติดตามเครื่องหมายใบที่เป็นโรค นับจำนวนแผล เพื่อติดตามวัดขนาดแผล ทุก 7 วัน (วัดก่อนฉีดพ่นสารสกัดครั้งต่อไป) เป็นเวลา 5 สัปดาห์ เปรียบเทียบกับ control

### ผลการทดลองและวิจารณ์

**การใช้สารสกัดจากผลสมอไทยในการลดขนาดแผลโรคแคงเกอร์บนใบมะนาวในสภาพเรือนทดลอง**

การศึกษาวิธีการใช้สารสกัดหยาบจากผลสมอไทยในการลดการพัฒนาอาการโรคแคงเกอร์บนใบมะนาวในสภาพเรือนทดลอง โดยใช้สารสกัดหยาบจากผลสมอไทย 10,000 และ 20,000 ppm โดยจัดการทดลองเป็น 6 กรรมวิธี กรรมวิธี 1 ฉีด

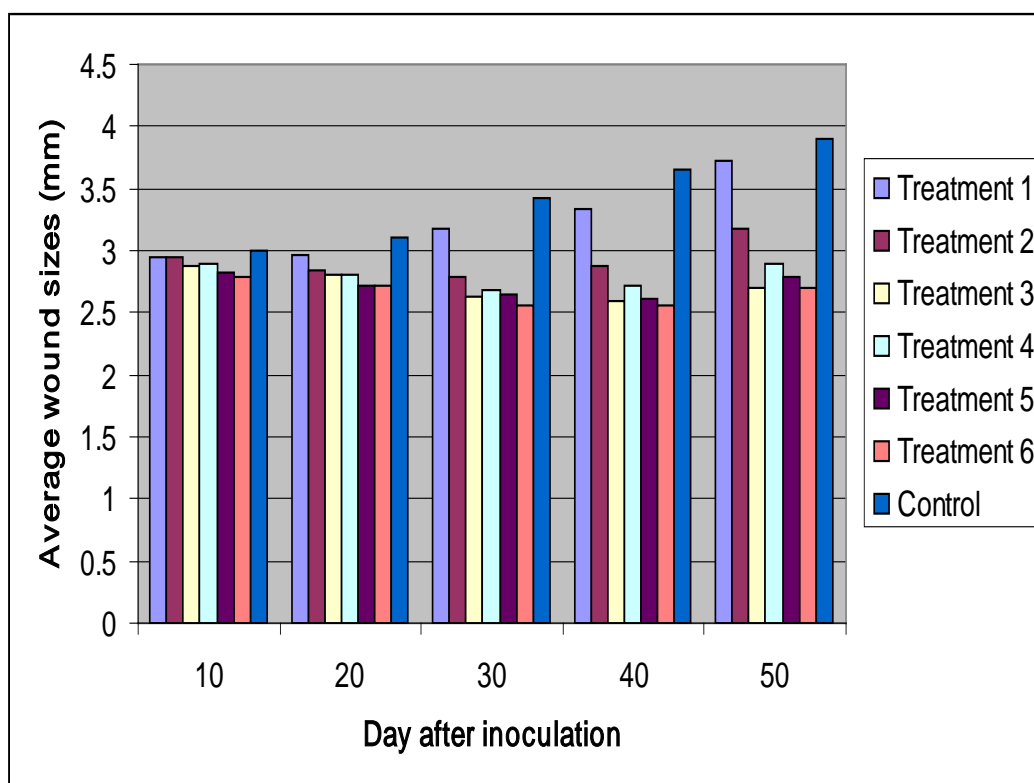
พ่นสารสกัด 10,000 ppm 1 ครั้ง ก่อนทำการ ปลูก เชื้อ กรรมวิธี ที่ 2 ฉีดพ่นสารสกัด 10,000 ppm 2 ครั้ง โดยฉีดก่อนปลูกเชื้อ 1 ครั้ง และฉีดอีก 1 ครั้ง หลังจากปลูกเชื้อ 10 วัน และกรรมวิธี ที่ 3 ฉีดพ่นสารสกัด 10,000 ppm 3 ครั้ง คือ ก่อนการปลูกเชื้อ 1 ครั้ง หลังจากนั้น ฉีดพ่นสารสกัด ชนิดและความเข้มข้นเดิมซ้ำอีก 2 ครั้งแต่ละครั้งห่างกัน 10 วัน กรรมวิธีที่ 4, 5, 6 ทำเช่นเดียวกันแต่ใช้สารสกัดเข้มข้น 20,000 ppm ติดตามผลโดยการวัดขนาดแผลที่ 10, 20, 30, 40 และ 50 วัน พบว่าสารสกัดหยาบจากผลสมอไทย ทั้ง 2 ระดับความเข้มข้นสามารถลดการพัฒนาอาการของโรคได้โดยเปรียบเทียบจากขนาดแผลที่เล็กกว่า control การใช้สารสกัด 20,000 ppm ฉีดพ่น 3 ครั้ง สามารถลดการพัฒนาอาการของโรคได้ดีที่สุด โดยมีขนาดแผลเฉลี่ยวัดที่ 10, 20, 30, 40 และ 50 วันเป็น 2.78, 2.71, 2.57, 2.56 และ 2.70 มม. รองลงมาคือ กรรมวิธีที่ 3 ที่ใช้สารสกัด 10,000 ppm ฉีดพ่น 3 ครั้ง ค่าเฉลี่ยขนาดแผลเป็น 2.87, 2.80, 2.63, 2.60 และ 2.70 มม. เมื่อเทียบกับ Control ที่ไม่ได้ฉีดพ่นสารสกัดก่อนการปลูกเชื้อ มีค่าเฉลี่ยขนาดแผลเป็น 3.00, 3.14, 3.43, 3.66 และ 3.96 มม. ตามลำดับ (Table 1 และ Figure 1) ลักษณะแผลหนูนฟู ขนาดแผลมีแนวโน้มขยายตัวเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ ตามระยะเวลาที่เพิ่มขึ้น การฉีดพ่นสารสกัดซ้ำ 3 ครั้ง จะให้ผลในการลดขนาดแผลได้ดีกว่าการฉีดพ่นสารสกัดเพียงครั้งเดียว ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของดาริน ( 2548 ), ศศิธร ( 2549 )

**Table 1** Average wound sizes of canker on lime leaves at 10 - 50 days after inoculation.

Treatment	Conc. of Plant extract ( ppm )	Application time	Average wound sizes <sup>1/</sup> (mm)				
			10 days	20 days	30 days	40 days	50 days
1	10,000	1	2.95 ab	2.96 b	3.18 b	3.34 b	3.72 b
2	10,000	2	2.94 ab	2.85 bc	2.78 c	2.88 c	3.18 c
3	10,000	3	2.87 c	2.80 cd	2.63 d	2.60 e	2.70 e
4	20,000	1	2.89 bc	2.80 cd	2.68 dc	2.71 d	2.89 d
5	20,000	2	2.82 cd	2.72 cd	2.64 d	2.62 e	2.79 e
6	20,000	3	2.78 d	2.71 d	2.57 d	2.57 e	2.70 e
Control	0		3.00 a	3.11 a	3.43 a	3.65 a	3.90 a
F- test			**	**	**	**	**
CV (%)			3.51	4.71	4.28	3.10	3.71

1/ Duncan's multiple range test ( P < 0.005 )

\*\* Significant difference at ( P < 0.005 )

**Figure 1** Average wound sizes of canker on lime leaves at 10 - 50 days after inoculation.

## ศึกษาการใช้สารสกัดหยาบจากผลสมอไทย ควบคุมโรคแคงเกอร์ของมะนาวในสภาพแปลง

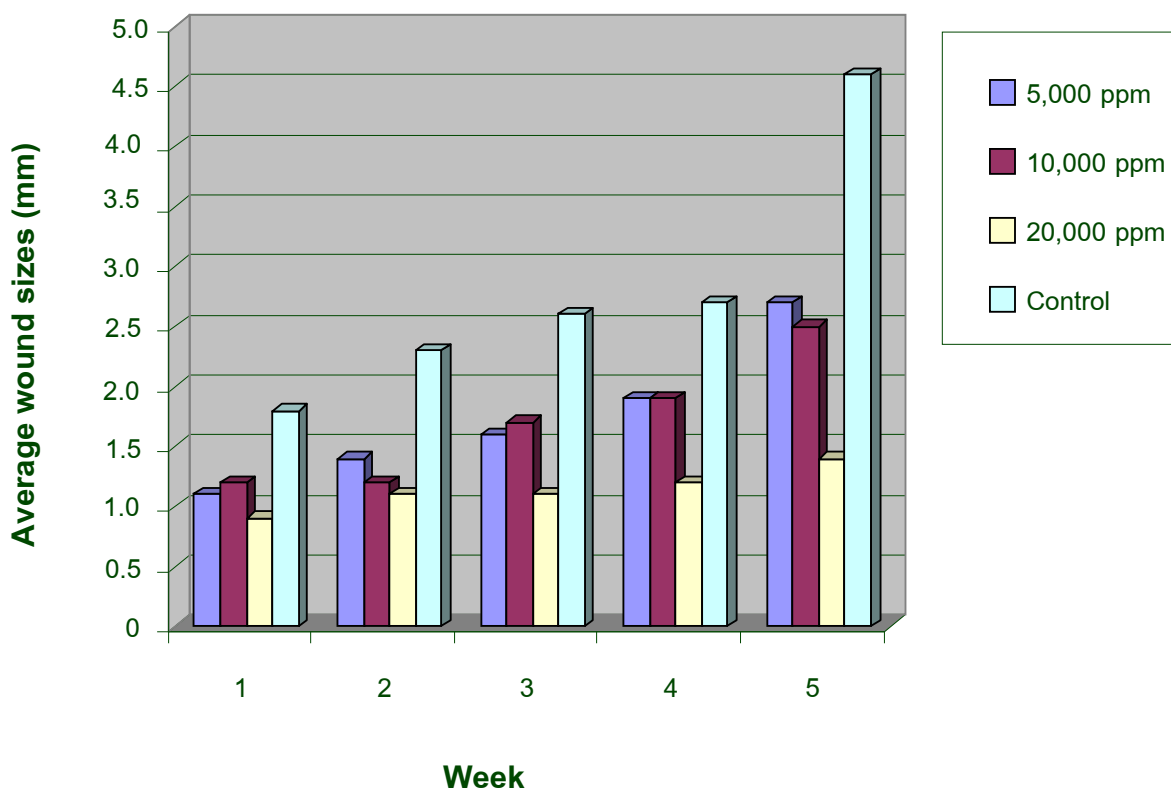
การศึกษาการใช้สารสกัดหยาบจากผลสมอไทยในการควบคุมโรคแคงเกอร์ของมะนาว ที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติในสภาพแปลง ทำในช่วงเดือนตุลาคมซึ่งมีฝนตกชุกเป็นสภาพที่เหมาะสมต่อการเกิดโรค พบว่ากรรมวิธีที่ 3 ฉีดพ่นสารสกัดหยาบจากผลสมอไทย 20,000 ppm ทุกๆ 10 วัน รวม 5 ครั้ง สามารถควบคุมโรคแคงเกอร์ได้ดีที่สุด โดยมีแผลเกิดขึ้นบนใบจำนวน 12 ใบ จากจำนวนใบทั้งหมด 169 ใบ คิดเป็นเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค 0.07 % ซึ่งน้อยกว่ากรรมวิธีอื่น และแผลที่เกิดขึ้นมีขนาดเล็กและไม่ขยายลุกลาม ขนาดแผลเฉลี่ยในสัปดาห์ที่ 5 เท่ากับ 0.14 มม. รองลงมาได้แก่กรรมวิธีที่ 2 ฉีดพ่นสารสกัด 10,000 ppm ทุกๆ 7 วัน รวม 5 ครั้ง มีแผลที่เกิดขึ้นบนใบจำนวน 25 ใบ จากใบทั้งหมด 143 ใบ คิดเป็นเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค 0.17 % ขนาดแผลเฉลี่ยในสัปดาห์ที่ 5 เท่ากับ 0.25 มม. และกรรมวิธีที่ฉีดพ่นสารสกัด 5,000 ppm 5 ครั้งเช่นกัน มีแผลที่เกิดขึ้นบนใบจำนวน 16 ใบ จากใบทั้งหมด 143 ใบ คิดเป็นเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค 0.11 % กรรมวิธีนี้แผลที่เกิดขึ้นมีขนาดแผลใหญ่กว่ากรรมวิธีที่ 1 และ 2 ขนาดแผลเฉลี่ย 0.27 มม. ในขณะที่control เกิดแผลบนใบจำนวน 28 ใบ จากใบทั้งหมด 177 ใบ คิดเป็นเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค 0.16% โดย ลักษณะแผล มีการพัฒนาขยายขนาดและนูนฟูขึ้นอย่างเห็นได้ชัด ขนาดแผลเฉลี่ย

ใน 5 สัปดาห์ เท่ากับ 0.46 มม. มี yellowish halo ล้อมรอบแผลเป็นวงกว้าง และแผลเกิดขึ้นหลายจุดกระจายทั่วทั้งใบและกระจายทั้งต้น (Table 2 และ Figure 2) นอกจากนี้ยังสังเกตพบว่าการฉีดพ่นสารสกัดหยาบจากผลสมอไทยทั่วทั้งต้น ทำให้ใบมะนาวมีลักษณะมันวาวมากกว่าปกติ ยิ่งใช้สารสกัดหยาบที่ความเข้มข้นสูง จะทำให้ใบมีความมันวาวมากกว่าที่ความเข้มข้นต่ำ เปรียบเสมือนสารเคลือบใบซึ่งอาจมีส่วนช่วยป้องกันการเข้าทำลายของเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคได้ ซึ่งผลการทดลองในครั้งนี้สอดคล้องกับรายงานของ ศศิธร (2549, 2551) และ ดาริน (2548) ที่ทำการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากพืชในระดับห้องปฏิบัติการและเรือนทดลอง พบว่าสารสกัดหยาบจากผลสมอไทย สามารถลดขนาดแผลและการพัฒนาอาการของโรคแคงเกอร์ได้ เพื่อให้เกิดประสิทธิภาพสูงสุด ควรต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับโครงสร้างและความคงตัวของสารออกฤทธิ์เพื่อนำไปสู่การพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ที่ใช้ในการควบคุมโรคพืชต่อไป อย่างไรก็ตามจากผลการทดลองข้างต้นแสดงให้เห็นถึงศักยภาพของสารสกัดหยาบจากผลสมอไทย และความเป็นไปได้ที่จะนำประยุกต์ใช้ฉีดพ่นต้นมะนาวเป็นประจำ เพื่อป้องกันโรคและลดการพัฒนาอาการของโรคแคงเกอร์ ในกรณีที่โรคยังไม่ระบาดลุกลามมากนัก ซึ่งจะช่วยลดต้นทุนการผลิตและลดปริมาณการใช้สารเคมีลงได้

**Table 2** Number of disease leaves and average wound sizes (mm) of canker on lime leaves that sprayed with chebulic myrobalan fruit crude extract within 5 weeks.

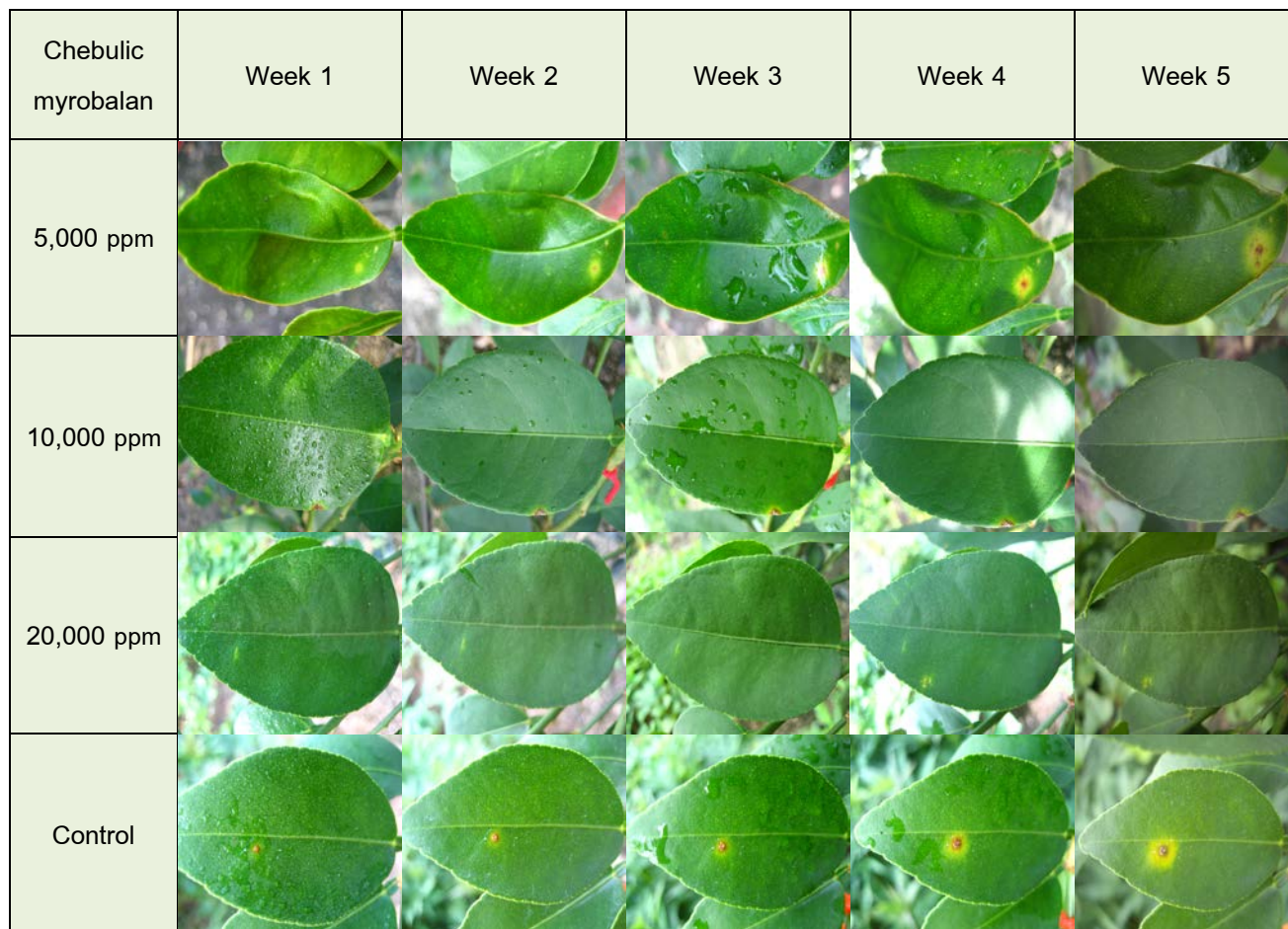
Treatment	Conc. of plant extract (ppm)	No. of disease leaves / Total leaves	% Disease	Average wound sizes (mm)				
				Week				
				1	2	3	4	5
1	5,000	16 / 143	0.11	1.1	1.4	1.6	1.9	2.7
2	10,000	25 / 143	0.17	1.2	1.2	1.7	1.9	2.5
3	20,000	12 / 169	0.07	0.9	1.1	1.1	1.2	1.4
Control	0	28 / 177	0.16	1.8	2.3	2.6	2.7	4.6

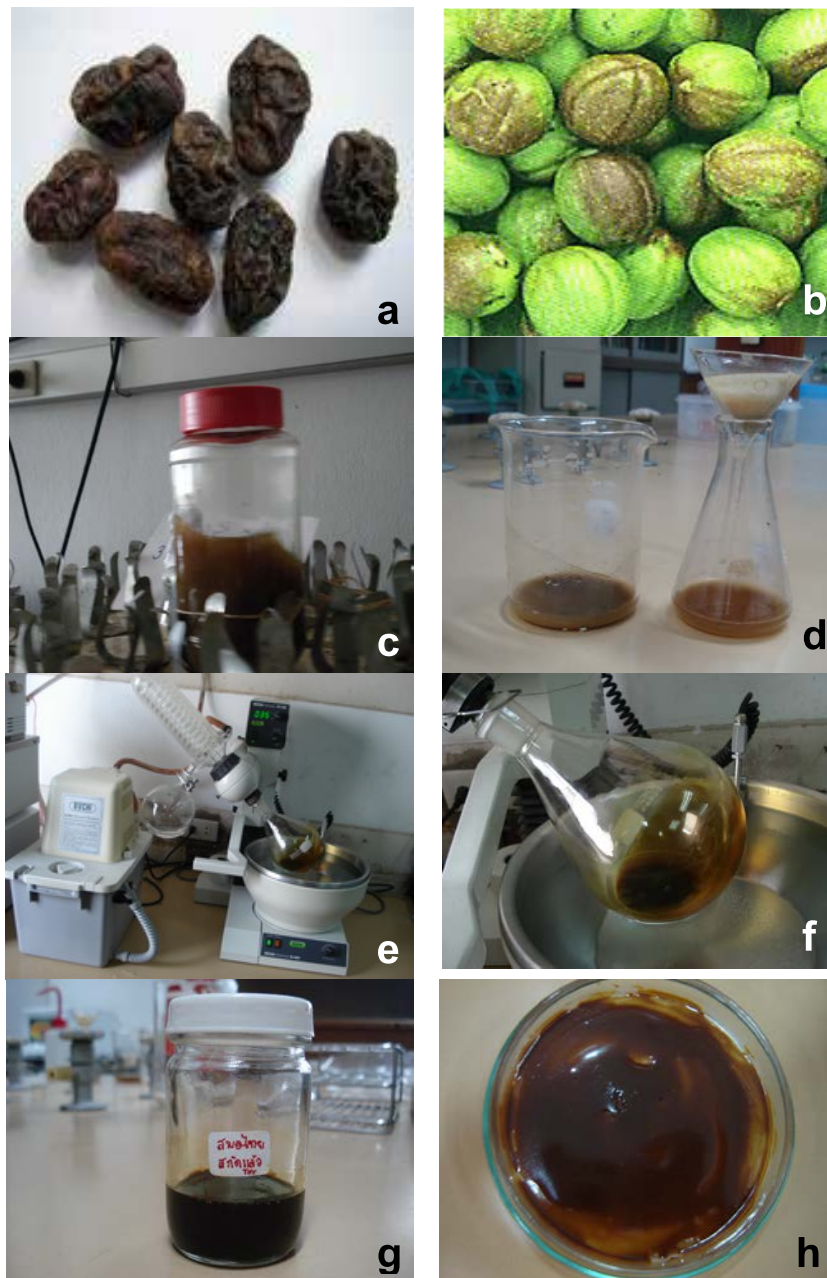
**Figure 2** Canker symptom development (average wound sizes) on lime leaves after treatment at week 1 - 5.





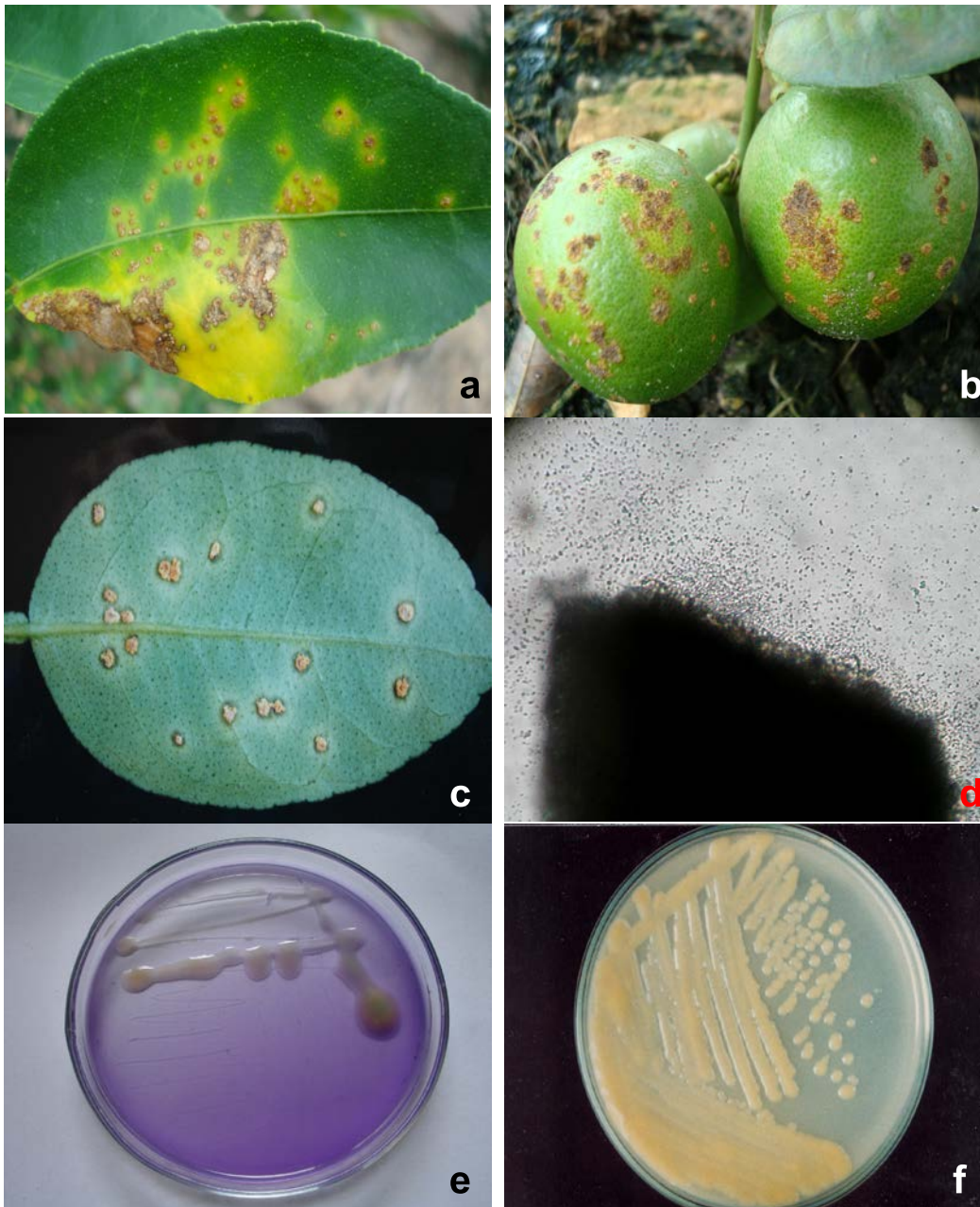
**Figure 3** Development of canker symptom on lime leaves that sprayed with chebolic myrobalan fruit crude extract within 5 weeks in field condition.





**Figure 4** Chebolic myrobalan and procedure in crude extract extraction

- a - b. Characteristic of fresh and dry fruits of chebolic myrobalan
- c. Chebolic myrobalan powder was soaked in 95 % ethanol for 3 days
- d. Filtrated by filter paper
- e - f. Removed the solvent by Rotary vacuum evaporator
- g - h. Character of crude extract, dark brown and viscid



**Figure 5** Canker symptom and cultural characteristic on culture media

- a-c. Canker symptom on lime leaves and fruits
- d. Bacterial exudate from wound cutting under microscopic examination
- e. Colony of *Xanthomonas citri* sub sp. *citri* on SX agar
- f. Colony of *Xanthomonas citri* sub sp. *citri* on YDC agar

### สรุปผลการทดลอง

#### การใช้สารสกัดหยาบจากผลสมอไทยในการลดขนาดแผลโรคแคงเกอร์บนใบมะนาวในสภาพเรือนทดลอง

จากการศึกษาการใช้สารสกัดหยาบจากผลสมอไทย ในการลดขนาดแผลโรคแคงเกอร์ ที่เกิดจากเชื้อ *Xanthomonas citri* sub sp. *citri* บนใบมะนาวพันธุ์แป้น พบว่าสารสกัดหยาบจากผลสมอไทยทั้ง 2 ระดับความเข้มข้นคือ 10,000 และ 20,000 ppm สามารถลดความรุนแรงของโรคแคงเกอร์ได้ โดยเปรียบเทียบขนาดแผลกับ control กรรมวิธีที่ 6 ใช้สารสกัดเข้มข้น 20,000 ppm ฉีดพ่นทุกๆ 10 วัน รวม 3 ครั้ง สามารถลดขนาดแผลโรคแคงเกอร์บนใบมะนาวได้ดีที่สุด โดยเส้นผ่าศูนย์กลางขนาดแผลเล็กกว่ากรรมวิธีอื่นและ control ค่าเฉลี่ยขนาดแผลที่ 10, 20, 30, 40 และ 50 วันหลังการปลูกเชื้อ เท่ากับ 2.78, 2.71, 2.57, 2.56 และ 2.70 มม.ตามลำดับ รองลงมาได้แก่กรรมวิธีที่ 3 ฉีดพ่นสารสกัดเข้มข้น 10,000 ppm รวม 3 ครั้งเช่นกัน มีขนาดแผลเฉลี่ย 2.87, 2.80, 2.63, 2.60 และ 2.70 มม. ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับ control ที่ไม่ได้ฉีดพ่นสารสกัดก่อนการปลูกเชื้อ ขนาดแผลที่ 10, 20, 30, 40 และ 50 วัน วัดได้ 3.00, 3.14, 3.43, 3.66 และ 3.96 มม. ตามลำดับ และขนาดแผลมีแนวโน้มขยายตัวเพิ่มขึ้นเรื่อยๆตามระยะเวลาที่เพิ่มขึ้น การฉีดพ่นสารสกัดซ้ำ 3 ครั้งทุกๆ 10 วัน มีประสิทธิภาพใน

### เอกสารอ้างอิง

วลัยลักษณ์ สง่าอารีย์กุล. 2546. การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดสมุนไพรในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Xanthomonas campestris* pv. *citri* สาเหตุโรคแคงเกอร์ของพืชวงศ์ส้ม. ปัญหาพิเศษปริญญาตรี. ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

การลดขนาดแผลได้ดีกว่าการฉีดพ่นสารสกัดเพียงครั้งเดียวหรือ 2 ครั้ง

#### การใช้สารสกัดหยาบจากผลสมอไทยควบคุมโรคแคงเกอร์ของมะนาวในสภาพแปลง

การใช้สารสกัดหยาบจากผลสมอไทยในการควบคุมโรคแคงเกอร์ ที่เกิดจากเชื้อ *Xanthomonas citri* sub sp. *citri* ของมะนาวในสภาพแปลงปลูกของเกษตรกร ทำโดยใช้สารสกัดหยาบจากผลสมอไทยที่ระดับความเข้มข้น 5,000 ppm 10,000 ppm และ 20,000 ppm ฉีดพ่นลงบนทรงพุ่มของมะนาวพันธุ์แป้น รวม 5 ครั้ง แต่ละครั้งห่างกัน 7 วัน พบว่ากรรมวิธีที่ฉีดพ่นสารสกัดหยาบจากผลสมอไทยความเข้มข้น 20,000 ppm สามารถลดขนาดของแผลและการพัฒนาอาการของโรคแคงเกอร์ได้ดีที่สุด โดยพบแผลเกิดขึ้นที่ใบเพียง 12 ใบ จากจำนวนใบทั้งหมด 169 ใบ คิดเป็นเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค 0.07% ซึ่งน้อยกว่ากรรมวิธีอื่น โดยแผลที่เกิดขึ้นนั้นมีขนาดเล็กและไม่ขยายออก ค่าเฉลี่ยขนาดแผลในสัปดาห์ที่ 5 วัดได้ 0.14 มม. รองลงมาได้แก่ กรรมวิธีที่ฉีดพ่นสารสกัดหยาบจากผลสมอไทยความเข้มข้น 10,000 และ 5,000 ppm ตามลำดับ ส่วน control เกิดแผลที่ใบจำนวน 28 ใบ จากใบทั้งหมด 177 ใบ คิดเป็นเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค 0.16% ลักษณะแผลขยายลุกลามมีขนาดใหญ่ที่สุด ค่าเฉลี่ยในสัปดาห์ที่ 5 วัดได้ 0.46 มม. และมี halo ล้อมรอบแผลเป็นวงกว้างเห็นชัดเจน

ศศิธร วุฒิวณิชย์. 2545. โรคของผักและการควบคุมโรค. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. 173 น.

ศศิธร วุฒิวณิชย์. 2549. ผลของสารสกัดหยาบจากสมอพิเภก สมอไทยและเบญจกานีต่อการพัฒนาอาการโรคแคงเกอร์ของมะกรูดที่เกิดจากเชื้อ *Xanthomonas axonopodis*

- pv. *citri*. วิทยาศาสตร์กำแพงแสน.4(3) : 1-9.
- ศศิธร วุฒิมณีชัย. 2551. การลดการพัฒนาอาการของโรคแคงเกอร์ของพืชวงศ์ส้มด้วยสารสกัดยับยั้งจากพืชสมุนไพรไทย. การประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 46 (29 มกราคม-1 กุมภาพันธ์ 2551) ภาคโปสเตอร์ น. 489-496.
- ดาริน บรรจงกิจ. 2548. การใช้สารสกัดยับยั้งจากผลสมอพิเภก ผลสมอไทย และเปลือกผลทับทิม ในการลดขนาดแผลโรคแคงเกอร์ของมะนาว. ปัญหาพิเศษปริญญาตรี. ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- Fawcett, H.S.1936. Citrus disease and their control. 2<sup>nd</sup>ed, Mc Graw –Hill Book Co. Inc, NewYork. 656 p.
- Schaad, N.W. 1988. Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria. 2<sup>nd</sup> ed, APS Press, The American Phytophological Society, St. Paul, Minnesota. 158 p.

**Received 18 November 2015**

**Accepted 29 April 2016**