วารสารเกษตรพระจอมเกล้า ปีที่ 36 (ฉบับพิเศษ): 64-75

ประสิทธิภาพของน้ำคั้นและสารสกัดหยาบจากดอกดาวเรือง (*Tagetes erecta*) ในการควบคุมเชื้อรา *Alternaria brassicicola* สาเหตุโรคใบจุดของคะน้าในสภาพห้องปฏิบัติการ

In vitro Effect of Pressed Juice and Crude Extracts of Marigold (*Tagetes erecta*) Flower for Controlling *Alternaria brassicicola*, the Causal Agent of Kale Leaf Spot

ณัฐธิเดช บีสา[1] สุริยสิทธิ์ สมนึก[1] และ ถนิมนันต์ เจนอักษร[1]
Natthidech Beesa, Suriyasit Somnuek and Tanimnun Jaenaksorn

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของการศึกษาในครั้งนี้เพื่อประเมินอิทธิพลของน้ำคั้น สารสกัดน้ำและสารสกัดเอทานอลจากดอกดาวเรือง (*Tagetes erecta*) ที่ 3 ระดับความเข้มข้น (5000, 10000 และ 20000 ppm) ต่อการเจริญทางเส้นใยและการงอกของสปอร์เชื้อรา *Alternaria brassicicola* สาเหตุโรคใบจุดของคะน้า เริ่มต้นจากการทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคของเชื้อรา *A. brassicicola* ที่แยกได้ พบว่ามี 3 ไอโซเลท คือ A111, A221 และ A224 ที่ทำให้เกิดโรครุนแรงที่สุด จากนั้นทำการทดสอบประสิทธิภาพของดาวเรืองโดยใช้วิธีผสมร่วมกับอาหาร (Poisoned food technique) พบว่าในวันที่ 11 หลังการทดสอบ น้ำคั้น สารสกัดน้ำและสารสกัดเอทานอลมีประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อรา *A. brassicicola* ทั้ง 3 ไอโซเลทได้อย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบกับ negative control (ผสมน้ำนึ่งฆ่าเชื้อ) โดยสารสกัดเอทานอลที่ระดับความเข้มข้น 10000 และ 20000 ppm มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเท่ากับ 60-97.6 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อเปรียบเทียบกับ positive control (ผสมสารเคมีแมนโคเซบ) (การยับยั้ง 50 เปอร์เซ็นต์) พบว่ามีประสิทธิภาพที่ดีกว่าอย่างมีนัยสำคัญ แต่อย่างไรก็ตามสารสกัดน้ำและน้ำคั้น พบว่ามีประสิทธิภาพที่น้อยกว่า positive control ส่วนการทดสอบการงอกของสปอร์ พบว่าผลเป็นไปในแนวทางเดียวกันกับการทดสอบทางเส้นใย โดย positive control ยับยั้งได้เพียง 80 เปอร์เซ็นต์ แต่สารสกัดเอทานอลทั้ง 3 ความเข้มข้นแสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพในการยับยั้งได้อย่างดี โดยสามารถยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา *A. brassicicola* ทั้ง 3 ไอโซเลทได้ถึง 100 เปอร์เซ็นต์ ส่วนสารสกัดน้ำและน้ำคั้นสามารถยับยั้งได้เพียง 46 และ 24 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

คำสำคัญ: ดอกดาวเรือง, สารสกัดหยาบ, เชื้อราสาเหตุโรคพืช

Abstract

Aim of this study was to evaluate antifungal effect of three concentrations (5000, 10000 and 20000 ppm) of pressed juice, aqueous extract and ethanol extract from marigold (*Tagetes erecta*) flower against mycelial growth and spore germination of *Alternaria brassicicola* causative agents of leaf spot of kale. Based on pathogenicity test of tested *A. brassicicola*, A111, A221 and A224 were selected as the most virulent isolates. Regard to antifungal activity of marigold flower tested on poisoned food assay at 11 DAI, pressed juice, aqueous and ethanol crude extract of marigold at all tested concentrations significantly inhibited mycelial growth of the 3 isolates of *A. brassicicola* over negative control. Antifungal activity only from ethanol crude extract at 10000 and 20000 ppm (60-97.6% inhibition) was found significantly more effective than that of positive control (50% inhibition) whereas aqueous extract and pressed juice were shown less effective than that of positive control.

[1] ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง เขตลาดกระบัง กรุงเทพฯ 10520

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Regard to its efficacy test on spore germination, the result was more pronounced but still in line with that in mycelial growth while positive control gave about 80 % inhibition. Ethanol crude extract at all 3 concentrations showed to possess good antifungal activity with 100% complete inhibition on spore germination of all tested *A. brassicicola* whereas, aqueous extract and pressed juice gave about 46 and 24% inhibition, respectively.

Keywords: marigold, crude extracts, plant pathogenic fungi

คำนำ

คะน้า (Chinese kale; *Brassica alboglabra*) เป็นผักที่ได้รับความนิยมปลูกเป็นอย่างมากในประเทศไทย แต่อย่างไรก็ตามการปลูกพืชดังกล่าวมักจะประสบปัญหาการระบาดของโรคอย่างมาก โดยเฉพาะอย่างยิ่ง การเข้าทำลายของเชื้อรา *Alternaria* sp. ซึ่งทำให้เกิดโรคใบจุดกับพืชโดยอาการเริ่มจากจุดขนาดเล็กและขยายออกเป็นวงกลมซ้อนกันหลายชั้นมีสีน้ำตาลหรือสีดำ ส่งผลให้เกิดความเสียหายกับใบพืช เชื้อราดังกล่าวสามารถเข้าทำลายพืชได้ตั้งแต่ระยะต้นกล้า ทำให้ต้นกล้าเน่าตาย หรือแคระแกรน และเมื่อย้ายลงในแปลงปลูก ต้นพืชจะไม่โต อีกทั้งเชื้อรายังเข้าทำลายพืชโตใกล้ระยะเก็บเกี่ยว ทำให้สูญเสียมูลค่าทางเศรษฐกิจเป็นอย่างมาก (เทอดพันธ์, 2548; กรมส่งเสริมการเกษตร, 2551; วิพรพรรณ์ และรัตนาภรณ์, 2557) จากปัญหาที่เกิดขึ้น เกษตรกรส่วนใหญ่มักป้องกันและกำจัดโรคดังกล่าว ด้วยสารเคมีป้องกันกำจัดโรคพืช เช่น แมนโคเซบ ซึ่งมีราคาถูก อีกทั้งยังสะดวก รวดเร็ว และมีประสิทธิภาพเป็นอย่างมาก (Khan *et al.*, 2007) แต่การใช้สารเคมีสังเคราะห์นั้น จะส่งผลเสียต่าง ๆ มากมาย ทั้งสารพิษตกค้างในพืชผัก ซึ่งจะเป็นอันตรายโดยตรงต่อผู้บริโภคและส่งผลเสียต่อสิ่งแวดล้อม และปัญหาอีกประเด็นหนึ่งที่ควรระวังในการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดโรคพืชเป็นระยะเวลานานๆ คือ การดื้อยาของเชื้อสาเหตุ ปัจจุบันมีการส่งเสริมให้เกษตรกรหันมาใช้ผลิตภัณฑ์ธรรมชาติจากพืชในการป้องกันกำจัดมากขึ้น โดยมีรูปแบบของสารที่ได้จากพืชที่นำมาใช้หลายอย่าง เช่น การใช้ในรูปแบบน้ำคั้น น้ำมันหอมระเหย และสารสกัดที่ใช้ตัวทำละลายต่างๆ โดยดาวเรือง (Marigold; *Tagetes erecta*) เป็นไม้ดอกที่น่าสนใจอีกชนิดหนึ่ง ที่นำมาใช้ประโยชน์ในรูปแบบของสารสกัด โดยในต่างประเทศนิยมนำใบจากดาวเรืองสายพันธุ์ดังกล่าวมาใช้ในรูปแบบของน้ำมันหอมระเหย ซึ่งมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราได้หลายชนิด ส่วนสารสกัดที่ใช้ตัวทำละลายมีรายงานว่า สารสกัดเอทานอลจากใบดาวเรืองสามารถยับยั้งเชื้อรา *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp., *Mucor* sp., *Alternaria alternata*, *Drechslera halodes* และ *Helmintosporium speciferum* ได้ระดับหนึ่ง (Gupta and Vasudeva, 2012) ในขณะที่สารสกัดน้ำจากใบพืชดังกล่าวสามารถยับยั้งไส้เดือนฝอย *Meloidogyne incognita* และ *Rotylenchulus reniformis* ได้เป็นอย่างดี (Mahmood *et al.*, 1979) สำหรับประเทศไทยมีรายงานส่วนใหญ่ว่าสารสกัดจากส่วนต่าง ๆ ของดาวเรืองมีฤทธิ์ในการควบคุมแมลงศัตรูพืชได้ เช่น สารสกัดเอทานอลจากใบและรากมีฤทธิ์ในการฆ่าหนอนใยผัก (จรงค์ศักดิ์ และมณฑินี, 2555) สารสกัดเอทานอลจากใบและต้นสามารถฆ่าหนอนศัตรูมะนาว (ณฐพงศ์ และดวงเดือน, 2560) ได้อย่างมีประสิทธิภาพ แต่อย่างไรก็ตาม ทั้งใบและดอกของดาวเรืองมีการรายงานว่าพบสารประกอบที่สำคัญหลายชนิดใกล้เคียงกัน (Gupta and Vasudeva, 2012) ในส่วนของการใช้ประโยชน์จากดอกของดาวเรืองพบว่า มีรายงานค่อนข้างจำกัดอยู่แค่ใช้ในรูปแบบน้ำมันหอมระเหยเพื่อควบคุมไส้เดือนฝอย *M. incognita* (Ray *et al.*, 2000) และใช้ในรูปแบบสารสกัดเมทานอลเพื่อควบคุมเพลี้ยอ่อนได้ (สุดารัตน์ และคณะ, 2554) เท่านั้น แต่ยังไม่พบรายงานเพื่อยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืช มีแต่รายงานการใช้ดอกดาวเรืองจากสายพันธุ์อื่น เช่น *Tagetes minuta* และ *Tagetes patula* ที่มีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวก แกรมลบ และเชื้อรา *Aspergillus niger*, *Trichoderma viride* ได้ (Gupta and Vasudeva, 2012)

ดังนั้นคณะผู้วิจัยจึงมีแนวความคิดที่จะนำดอกของดาวเรือง (*T. erecta*) มาใช้ประโยชน์ในรูปแบบน้ำคั้นจากดอกของดาวเรือง ซึ่งเป็นวิธีที่ง่าย สะดวก และในรูปแบบของสกัดสารโดยใช้น้ำและเอทานอลเป็น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตัวทำละลาย เพราะจัดหาได้โดยง่าย และมีราคาถูก โดยศึกษาอิทธิพลของน้ำคั้นและสารสกัดหยาบจากดอกดาวเรืองต่อการเจริญการเจริญทางเส้นใยและการงอกของสปอร์เชื้อรา *Alternaria* sp. สาเหตุโรคใบจุดในคะน้าในสภาพห้องปฏิบัติการ

อุปกรณ์และวิธีการ

การเตรียมสารสกัดจากดอกดาวเรือง

การเตรียมน้ำคั้นจากดอกดาวเรือง โดยนำดอกดาวเรืองสดมาล้างทำความสะอาดด้วยน้ำนึ่งฆ่าเชื้อและผึ่งลมให้สะเด็ดน้ำ จากนั้นนำดอกดาวเรืองดังกล่าวปริมาณ 100 กรัม ไปปั่นด้วยเครื่องปั่นไฟฟ้าและคั้นผ่านผ้าขาวบาง แล้วนำน้ำคั้นที่ได้มากรองด้วยกระดาษกรองกาแฟ กระดาษกรอง Whatman เบอร์ 93 และ 1 ตามลำดับ เพื่อแยกเศษพืช หลังจากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่อง centrifuge ที่ความเร็ว 8000 รอบ/นาที เป็นเวลา 20 นาที และนำส่วนใสมาทำให้ปราศจากเชื้อปนเปื้อน โดยการกรองผ่าน sterile syringe microfilter ที่มีขนาด 0.20 ไมโครเมตร

การเตรียมสารสกัดเอทานอลและสารสกัดหยาบน้ำจากดอกดาวเรือง นำกลีบดอกดาวเรืองล้างด้วยน้ำนึ่งฆ่าเชื้อ และผึ่งลมให้แห้ง ก่อนจะนำไปใส่ตู้อบพืชที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน จากนั้นนำตัวอย่างพืชที่อบแล้วจำนวน 500 กรัม ใส่ในโหลแก้วขนาด 15 ลิตร เติมเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 4000 มิลลิลิตร จนท่วมชิ้นส่วนของพืช ทิ้งไว้เป็นเวลา 3 วัน โดยทำการคนชิ้นส่วนของพืชเป็นระยะ จากนั้นนำสารที่ได้มากรองด้วยผ้าขาวบาง และกระดาษกรอง (Whatman เบอร์ 93) ตามลำดับ และทำการระเหยน้ำออก ด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ (rotary vacuum evaporator) ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส จนได้สารสกัดหยาบที่มีลักษณะเหนียวข้นสีน้ำตาลแดงเข้ม และเก็บในขวดสีชาเพื่อใช้ในการทดลองต่อไป สำหรับการเตรียมสารสกัดน้ำจากดอกดาวเรือง ทำการสกัดสารเช่นเดียวกับสกัดเอทานอล แต่เปลี่ยนจากตัวทำละลายเอทานอลเป็นน้ำแทน

1. **การเตรียมเชื้อราสาเหตุโรคพืชที่ใช้ในการทดลอง**

การแยกเชื้อราสาเหตุโรคใบจุดและการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยา โดยเก็บตัวอย่างคะน้าและกะหล่ำดอกที่แสดงอาการโรคจากเชื้อรา (ลักษณะอาการคือ เป็นจุดสีน้ำตาลหรือดำ เรียงซ้อนกันเป็นชั้นๆ และจะมีสีเหลืองรอบแผล) ในเขตศูนย์ศิลปาชีพเกาะเกิด อำเภอบางปะอิน จังหวัดพระนครศรีอยุธยา และท็อปซุปเปอร์มาร์เกต ลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร มาทำการแยกเชื้อราสาเหตุโรคโดยใช้วิธี Tissue transplanting method จนได้เชื้อบริสุทธิ์ หลังจากนั้นทำการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อราดังกล่าว โดยสังเกตการเจริญ สี ลักษณะของโคโลนีบนอาหาร potato dextrose agar (PDA) และลักษณะขนาด รูปร่าง ของเส้นใย และ conidia เชื้อรา

การทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรค โดยวางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) จำนวน 7 ซ้ำ (ต้น) ซ้ำละ 5 ใบ ใบละ 4 จุด ด้วยการใช้ cork borer ขนาด 0.5 เซนติเมตร เจาะที่ขอบของโคโลนีเชื้อราที่เลี้ยงบนอาหาร PDA อายุ 11 วัน แล้วนำชิ้นวุ้นเชื้อปลูกบนใบคะน้าที่ปลูกในระบบไฮโดรโปนิกส์ อายุ 45 วัน ชุดควบคุมจะวางชิ้นวุ้น PDA เท่านั้น บันทึกผลโดยการวัดขนาดของแผลที่เกิดขึ้น และประเมินระดับคะแนน ซึ่งคะแนน 0 = ไม่เกิดโรค, 1 = เกิดแผลขนาด 0-0.5 เซนติเมตร, 2 = เกิดแผลขนาด 0.6-1.0 เซนติเมตร, 3 = เกิดแผลขนาด 1.1-1.5 เซนติเมตร และ 4 = เกิดแผลขนาด 1.6-2.0 เซนติเมตร คำนวณหาเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค (Disease incidence; DI) ตามสูตร DI = (จำนวนต้นที่แสดงอาการโรค/จำนวนต้นทั้งหมด) × 100 และคำนวณเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรค (Disease severity; DS) ตามสูตร

$$DS = \frac{\sum (\text{จำนวนต้นที่แสดงอาการโรค} \times \text{ระดับอาการโรค})}{(\text{จำนวนต้นทั้งหมด} \times \text{ระดับอาการสูงสุด})} \times 100$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. **อิทธิพลของน้ำคั้นและสารสกัดหยาบจากดอกดาวเรืองต่อการเจริญทางเส้นใยของเชื้อรา *Alternaria* sp. โดยวิธี** Poisoned food technique

ในการทดลองนี้ได้คัดเลือกเชื้อรา *A. brassicicola* ที่มีความสามารถในการทำให้เกิดโรครุนแรงมาทดสอบ โดยแบ่งเป็น 3 การทดลองย่อย คือ อิทธิพลของน้ำคั้น สารสกัดหยาบน้ำ และสารสกัดหยาบเอทานอลจากดอกดาวเรือง จำนวน 3 ความเข้มข้น (5000, 10000 และ 20000 ppm) ต่อการเจริญทางเส้นใยของเชื้อราดังกล่าว ซึ่งวางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 5 ซ้ำ ด้วยการผสมน้ำคั้นหรือสารสกัดจากดอกดาวเรืองลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ให้ได้ความเข้มข้นตามที่กำหนดและเทลงในจานเพาะเชื้อ ใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร เจาะที่ขอบของโคโลนีเชื้อราที่เลี้ยงบนอาหาร PDA อายุ 11 วัน ย้ายชิ้นวุ้นเชื้อรามาวางที่กึ่งกลางจานอาหารเพาะเชื้อที่เตรียมไว้ข้างต้น แล้วจึงนำจานอาหารเพาะเชื้อดังกล่าวไปบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง สำหรับชุดควบคุมใช้น้ำนึ่งฆ่าเชื้อ (negative control) และสารเคมีแมนโคเซบ ความเข้มข้น 400 ppm (positive control) แทนสารสกัด บันทึกผลการทดลองโดยวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเชื้อราทุกวัน และคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญทางเส้นใยของเชื้อรา โดยใช้สูตร Growth inhibition = [(A-B)/A]×100 กำหนดให้ A = ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเชื้อราชุดควบคุม (negative control) และ B = ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเชื้อราที่ผสมสารสกัดพืชหรือสารเคมี

3. **อิทธิพลของน้ำคั้นและสารสกัดหยาบจากดอกดาวเรืองต่อการงอกของสปอร์ของเชื้อรา *Alternaria* sp. โดยวิธี** Spore germination test

ทำการทดสอบอิทธิพลของสารที่ได้จากดอกดาวเรืองทั้ง 3 ชนิด เช่นเดียวกับการทดสอบในข้อที่ 2 จำนวน 3 ความเข้มข้น คือ 5000, 10000 และ 20000 ppm ต่อการงอกสปอร์ของเชื้อรา *A. brassicicola* โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 5 ซ้ำ ด้วยการผสมสารแขวนลอยสปอร์เชื้อราดังกล่าว ความเข้มข้น 10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตร กับน้ำคั้นหรือสารสกัดให้มีความเข้มข้นตามที่กำหนดลงในหลอดทดลองขนาดเล็ก แล้วบ่มทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง ชุดควบคุมใช้น้ำนึ่งฆ่าเชื้อ (negative control) และสารเคมีแมนโคเซบ ความเข้มข้น 400 ppm (positive control) แทนสารสกัดจากพืช บันทึกผลการทดลองโดยการนับการงอกของสปอร์เชื้อราในแต่ละความเข้มข้น หลังจากแช่สปอร์เชื้อราในเวลา 12, 24, 36 และ 48 ชั่วโมง หรือจนกว่าชุดควบคุม (negative control) งอกครบ 100 เปอร์เซ็นต์ และสังเกตความผิดปกติของสปอร์ แล้วคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการงอกของสปอร์ของเชื้อรา โดยใช้สูตร Growth inhibition = [(A-B)/A]×100 กำหนดให้ A = จำนวนการงอกของสปอร์เชื้อราชุดควบคุม (negative control) และ B = จำนวนการงอกของสปอร์เชื้อราที่ผสมสารสกัดพืชหรือสารเคมี

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. **การแยกเชื้อราสาเหตุโรคและการทดสอบความสามารถในการก่อโรค**

จากการเก็บตัวอย่างคะน้าและกระหล่ำดอกที่แสดงอาการโรค มาทำการแยกเชื้อราสาเหตุโรค พบว่าเชื้อราสาเหตุโรคที่แยกทั้งหมดได้ 6 ไอโซเลท ได้แก่ A111, A221, A222, A223, A224 และ A225 จากนั้นศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ซึ่งเชื้อราส่วนใหญ่มีลักษณะโคโลนีเป็นสีเทาดำ ยกเว้นเชื้อ A111 ที่มีสีเขียวมะกอกปนดำ การเจริญทางเส้นใยเต็มจานเพาะเชื้อเฉลี่ยเป็นเวลา 11 วัน (จานเพาะเชื้อขนาด 9 เซนติเมตร) ส่วนลักษณะของ conidia มีสีน้ำตาลดำ รูปร่างคล้ายกระบองท้ายป้าน (obclavate) แต่ละสปอร์มีผนังกั้น 3-6 septa ความกว้างและความยาวของ conidia เท่ากับ 5.05-11.30 x 14.26-50.42 ไมโครเมตร โดยการเกิดของ conidia จะเกิดจากปลายก้าน conidiophore และต่อกันเป็นลูกโซ่ (chain of conidia) มากกว่า 5 conidia ขึ้นไป (Figure 1) จากลักษณะที่กล่าวมาสามารถจัดจำแนกตามวิธีการของ เทอดพันธ์ (2548) และ Rotem (1994) ได้เป็นเชื้อรา *Alternaria brassicicola*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

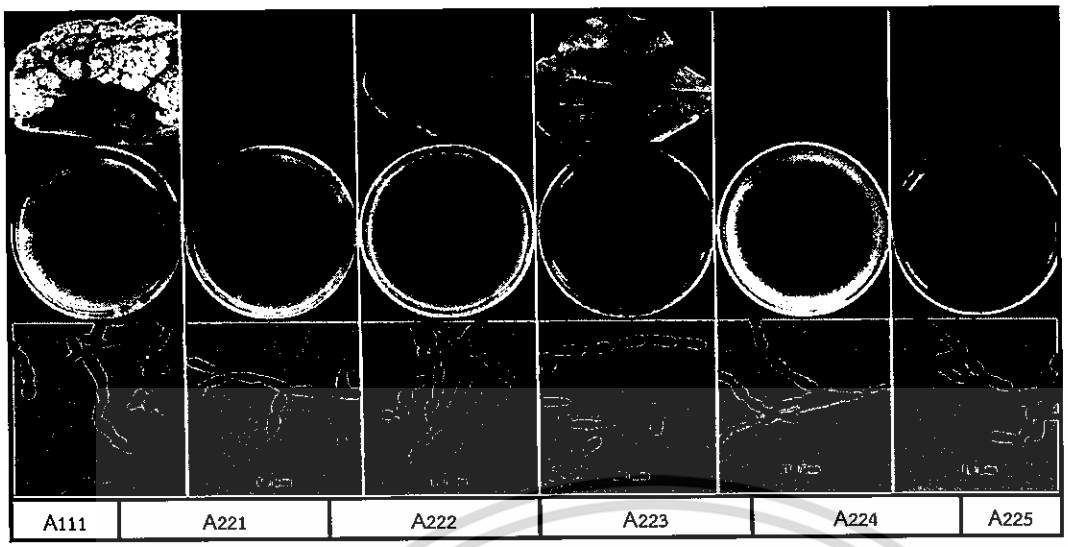

Figure 1 Disease symptoms, growth colony and conidia of 6 isolates of *Alternaria brassicicola*.

จากนั้นนำเชื้อราทั้ง 6 ไอโซเลทไปทดสอบความสามารถในการก่อโรคบนคะน้า พบว่า เมื่อสิ้นสุดการทดลอง (7 วันหลังการปลูกเชื้อ) เชื้อราทุกไอโซเลทที่ทดสอบสามารถก่อโรคกับคะน้าได้ 100 เปอร์เซ็นต์ สำหรับเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรคเชื้อราไอโซเลท A221, A111 และ A224 ก่อโรครุนแรงที่สุด เท่ากับ 84.71, 82.78 และ 79.78 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และไม่แตกต่างกันทางสถิติ รองลงมาคือ A222, A225 และ A223 เท่ากับ 69.7, 62.21 และ 61 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (Table 1) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ เทอดพันธ์ (2548) ที่กล่าวว่า เชื้อรา *A. brassicicola* ทำให้เกิดโรคใบจุดในพืชตระกูลกะหล่ำ เช่น คะน้า กวางตุ้ง กะหล่ำดอก ได้

Table 1 Pathogenicity test of 6 isolates of *Alternaria brassicicola* on kale leaf.

Isolate	Disease incidence (%)			Disease severity (%)		
	3 DAI	5 DAI	7 DAI	3 DAI	5 DAI	7 DAI
Control	0c[1/]	0b	0b	0d	0d	0d
A111	100a	100a	100a	51.89a	64.82a	82.78a
A221	71.42ab	100a	100a	30.64bc	59.14a	79.78ab
A222	71.42ab	100a	100a	23.78c	49.07b	69.70bc
A223	42.85b	100a	100a	15.46dc	45.96b	61c
A224	100a	100a	100a	44.35ab	64.82a	84.71a
A225	57.14ab	100a	100a	17.21c	50.60b	62.21c

[1/]Values are means of five replicates. Values in each column followed by the same letter are not significantly different according to Duncan's Multiple Range Test (DMRT) (P> 0.05).

2. อิทธิพลของน้ำคั้นและสารสกัดหยาบจากดอกดาวเรืองต่อการเจริญทางเส้นใยของเชื้อรา *Alternaria* sp. โดยวิธี Poisoned food technique

จากการทดสอบอิทธิพลของน้ำคั้น สารสกัดหยาบน้ำ และสารสกัดหยาบเอทานอลจากดอกดาวเรือง (5000, 10000 และ 20000 ppm) ต่อการเจริญทางเส้นใยของเชื้อรา A111, A221 และ A224 พบว่า เมื่อสิ้นสุดการทดลอง สารเคมีแมนโคเซบ ซึ่งใช้เป็น positive control สามารถยับยั้งการเจริญทางเส้นใยของเชื้อราทั้ง 3 ไอโซเลท ได้อยู่ในช่วง 44.66-57.66 เปอร์เซ็นต์ (Figure 2 และ 4) ซึ่งแตกต่างอย่างมี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับชุดควบคุมของแต่ละไอโซเลท โดยเชื้อ A111 ต้านทานสารเคมีได้มากที่สุด ซึ่งผลการทดสอบที่กล่าวมาแตกต่างจากการรายงานที่ผ่านมาว่า สารเคมีแมนโคเซบมีประสิทธิภาพยับยั้งเชื้อรา *Alternaria* spp. สูงเกือบ 100 เปอร์เซ็นต์ ดังเช่น การรายงานของ Khan *et al.* (2007) ที่กล่าวว่าสารเคมีแมนโคแซบความเข้มข้น 500 ppm สามารถยับยั้งเชื้อรา *Alternaria brassicae* ได้ 95.3 เปอร์เซ็นต์ และ Waghe *et al.* (2015) ได้รายงานว่าสารเคมีดังกล่าวในความเข้มข้น 2000-2500 ppm สามารถยับยั้งเชื้อรา *Alternaria helianthi* ได้ 83.33-88.88 เปอร์เซ็นต์ อย่างไรก็ตามการที่ positive control ในการทดลองนี้มีประสิทธิภาพยับยั้งเชื้อราทดสอบทั้ง 3 ไอโซเลท อาจเป็นผลมาจากเชื้อที่นำมาทดสอบเริ่มแสดงอาการดื้อยา ดังเช่นการรายงานของ Malandrakis *et al.* (2015) ที่กล่าวว่าเชื้อรา *A. alternata* สาเหตุโรคใบจุดในมะเขือเทศสามารถต้านทานสารเคมีแมนโคเซบได้ในระดับความเข้มข้นที่สูง และ Avenot and Michailides (2015) ได้รายงานว่าเชื้อรา *A. alternata* สาเหตุโรคใบจุดในถั่วพิสตาชิโอเกิดการต้านทานสารเคมี fludioxonil, cyprodinil, boscalid และ pyraclostrobin ได้เช่นกัน ซึ่งเป็นเพราะการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดโรคพืชเป็นระยะเวลานาน ส่งผลให้เชื้อราสาเหตุโรคพืชเกิดการดื้อยาได้ในปัจจุบัน (Avenot and Michailides, 2015; Malandrakis *et al.*, 2015; Avenot *et al.*, 2016; Landschoot *et al.*, 2017)

สำหรับการทดสอบน้ำคั้น สารสกัดเอทานอลและสารสกัดน้ำจากดอกดาวเรือง พบว่า สารที่ได้จากดอกดาวเรืองทั้ง 3 รูปแบบ มีอิทธิพลในการยับยั้งการเจริญทางเส้นใยของเชื้อราได้ โดยสารสกัดเอทานอลสามารถยับยั้งได้ดีที่สุด และยิ่งไปกว่านั้นยังมีประสิทธิภาพสูงกว่าสารเคมีแมนโคเซบ รองลงมาคือสารสกัดน้ำ และน้ำคั้น ตามลำดับ และความเข้มข้นที่สูงจะแสดงประสิทธิภาพได้ดีที่สุด กล่าวคือ สารสกัดเอทานอลทุกความเข้มข้นที่ทดสอบมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อรา A111, A221 และ A224 ได้เป็นอย่างดี โดยเฉพาะอย่างยิ่งที่ระดับความเข้มข้น 10000 และ 20000 ppm สามารถแสดงประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญทางเส้นใย อยู่ในช่วง 60-97.6, 70-94.88 และ 48.77-88.44 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับชุดควบคุมของแต่ละไอโซเลท (Figure 2 และ 4) จากผลการทดลองนี้ จะเห็นได้ว่า สารสกัดเอทานอลจากดอกดาวเรืองมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อรา *A. brassicicola* ทั้ง 3 ไอโซเลทได้ ซึ่งสอดคล้องกับประสิทธิภาพของสารสกัดจากใบดาวเรือง ดังรายงานของ Gupta and Vasudeva (2012) ที่ระบุว่าสามารถยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืชได้หลายชนิด เช่น *A. alternata*, *Aspergillus flavus*, *A. niger*, *Fusarium oxysporum*, *Drechslera halodes* และ *Helminthosporium speciferum* การที่ดอกแสดงประสิทธิภาพยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืชได้เช่นเดียวกับใบดังกล่าวมาข้างต้น อาจเป็นเพราะทั้งดอกและใบมีสารประกอบสำคัญหลายชนิดที่คล้ายกัน เช่น steroids, flavonoids, alkaloids, tannins และ phenolics (Gupta and Vasudeva, 2012; Li-wei *et al.*, 2012) ซึ่งสารประกอบดังกล่าวมีฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ได้ดี (Jain *et al.*, 2012) และยังพบอีกว่าสารสกัดเอทานอลจากดอกดาวเรืองจะมีประสิทธิภาพของการยับยั้งแบคทีเรีย *Bacillus subtilis*, *Bacillus circulence*, *Echerichai coli*, *Staphylococous lutea* และ *Staphylococous aurious* (Verma and Verma, 2012) ได้

ในการทดสอบสารสกัดน้ำทุกความเข้มข้นมีประสิทธิภาพยับยั้งเชื้อรา A111, A221 และ A224 ได้ โดยที่ระดับความเข้มข้น 20000 ppm มีประสิทธิภาพยับยั้งได้ดีที่สุด เท่ากับ 37.33, 42.66 และ 23.88 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ที่ระดับความเข้มข้น 5000-10000 ppm ยับยั้งได้อยู่ในช่วง 9.11-21.77, 23.11-25.66 และ 7.11-13.55 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Figure 2 และ 4) จากที่กล่าวมาจะเห็นได้ว่าสารสกัดน้ำมีประสิทธิภาพต่ำกว่าสารสกัดเอทานอล เนื่องจากมีรายงานว่าการใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลายสามารถดึงสารในกลุ่มของ steroids, flavonoids,

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

alkaloids, tannins และ phenolics จากดอกดาวเรืองได้ดี (Ramya and Bhat, 2013) จึงทำให้สารสกัดเอทานอลแสดงประสิทธิภาพได้ดี นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดเอทานอลจากพืชอื่นสามารถยับยั้งเชื้อรา *Alternaria* spp. ได้เป็นอย่างดี เช่น ขิง (สร้อยสุดา และคณะ, 2552) และ *Parthenium hysterophorus* (Padma and Deepika, 2013) โดยมีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งมากที่สุดถึง 73.59 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

ส่วนน้ำคั้นจากดอกดาวเรืองสามารถยับยั้งการเจริญทางเส้นใยของเชื้อราที่ทดสอบได้เพียงเล็กน้อยเท่านั้น มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งสูงสุดเพียง 12.88 เปอร์เซ็นต์เท่านั้น (Figure 2 และ 4) ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของสุริยสิทธิ์ และคณะ (2558) ที่ใช้น้ำคั้นจากดอกและใบของชุมเห็ดเทศ สามารถยับยั้งเชื้อรา *Alternaria* sp., *Curvularia* sp., *Fusarium* sp., *Pestalotia* sp. และ *Rhizoctonia* sp. ได้เท่ากับ 20.9 เปอร์เซ็นต์ แต่อย่างไรก็ตามยังมีงานวิจัยที่ใช้น้ำคั้นสดจากพืชต่างชนิดกันที่ให้ผลการยับยั้งที่ดี เช่น น้ำคั้นสดจากโหระพา สะเดาและต้นลำโพง ยับยั้ง *Alternaria solani* ได้ 23.3-44.4 เปอร์เซ็นต์ (Nashwa and Abo-Elyousr, 2012), น้ำคั้นสดกระเพรา ยูคาลิปตัสและต้นรัก ยับยั้ง *A. brassicae* ได้ 32.50-46.90 เปอร์เซ็นต์ (Ganie *et al*., 2013)

3. **อิทธิพลของน้ำคั้นและสารสกัดหยาบจากดอกดาวเรืองต่อการงอกของสปอร์ของเชื้อรา *Alternaria* sp. โดยวิธี Spore germination test**

ผลการทดสอบอิทธิพลของน้ำคั้น สารสกัดน้ำ และสารสกัดเอทานอลจากดอกดาวเรืองต่อการงอกของสปอร์เชื้อรา A111, A221 และ A224 พบว่า ประสิทธิภาพในการยับยั้งของสารที่ได้จากดอกดาวเรืองทั้ง 3 รูปแบบ เป็นไปในทิศทางเดียวกันกับการทดสอบกับเส้นใย คือ สารสกัดเอทานอลแสดงประสิทธิภาพยับยั้งการงอกของสปอร์ได้ดีที่สุด รองลงมาคือ สารสกัดน้ำ และน้ำคั้น ตามลำดับ กล่าวคือ เมื่อสิ้นสุดการทดลอง สารสกัดเอทานอลทุกความเข้มข้นมีประสิทธิภาพยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อราดังกล่าวทุกไอโซเลทที่ทดสอบได้ถึง 100 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งประสิทธิภาพสูงกว่าการใช้สารเคมีที่ยับยั้งได้ 83.6-87 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่สารสกัดน้ำทุกความเข้มข้นสามารถยับยั้งเชื้อราที่ทดสอบได้ แต่ประสิทธิภาพน้อยกว่าการใช้สารสกัดเอทานอล โดยที่ระดับความเข้มข้น 20000 ppm แสดงประสิทธิภาพยับยั้งได้ดีที่สุด อยู่ในช่วง 28-46.67 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ 10000 และ 5000 ppm ยับยั้งได้ 16-28 และ 9-19.34 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมของแต่ละไอโซเลท (Figure 3) และส่งผลให้เกิดความผิดปกติของสปอร์อีกด้วย เช่น ผนังเซลล์แตก หรือไซโทพลาสซึมไหลออกมา (Figure 5) อย่างไรก็ตามจากที่กล่าวมาข้างต้นถึงประสิทธิภาพของสารสกัดเอทานอลจากดาวเรือง (*T. erecta*) ในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืชได้หลายชนิด ยังพบการรายงานอีกว่าสารสกัดจากดาวเรืองสายพันธุ์อื่น (*T. patula*) ก็มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืชได้ เช่น *Botrytis cinarea*, *Fusarium moniliforme*, *Pythium ultimun* (Mares *et al*., 2004) และเชื้อราสาเหตุโรคคน เช่น *Trichophyton* spp., *Microsporum* spp. (Politi *et al*., 2016)

ส่วนน้ำคั้นจากดอกดาวเรืองสามารถยับยั้งการงอกของสปอร์ของเชื้อราทั้ง 3 ไอโซเลทได้เพียง 10-24 เปอร์เซ็นต์ เท่านั้น ซึ่งแตกต่างกับการใช้น้ำคั้นจากดอกและใบชุมเห็ดเทศที่สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา *Alternaria* sp., *Curvularia* sp., *Fusarium* sp., *Pestalotia* sp. สูงถึง 64-94 เปอร์เซ็นต์ (สุริยสิทธิ์ และคณะ, 2558)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

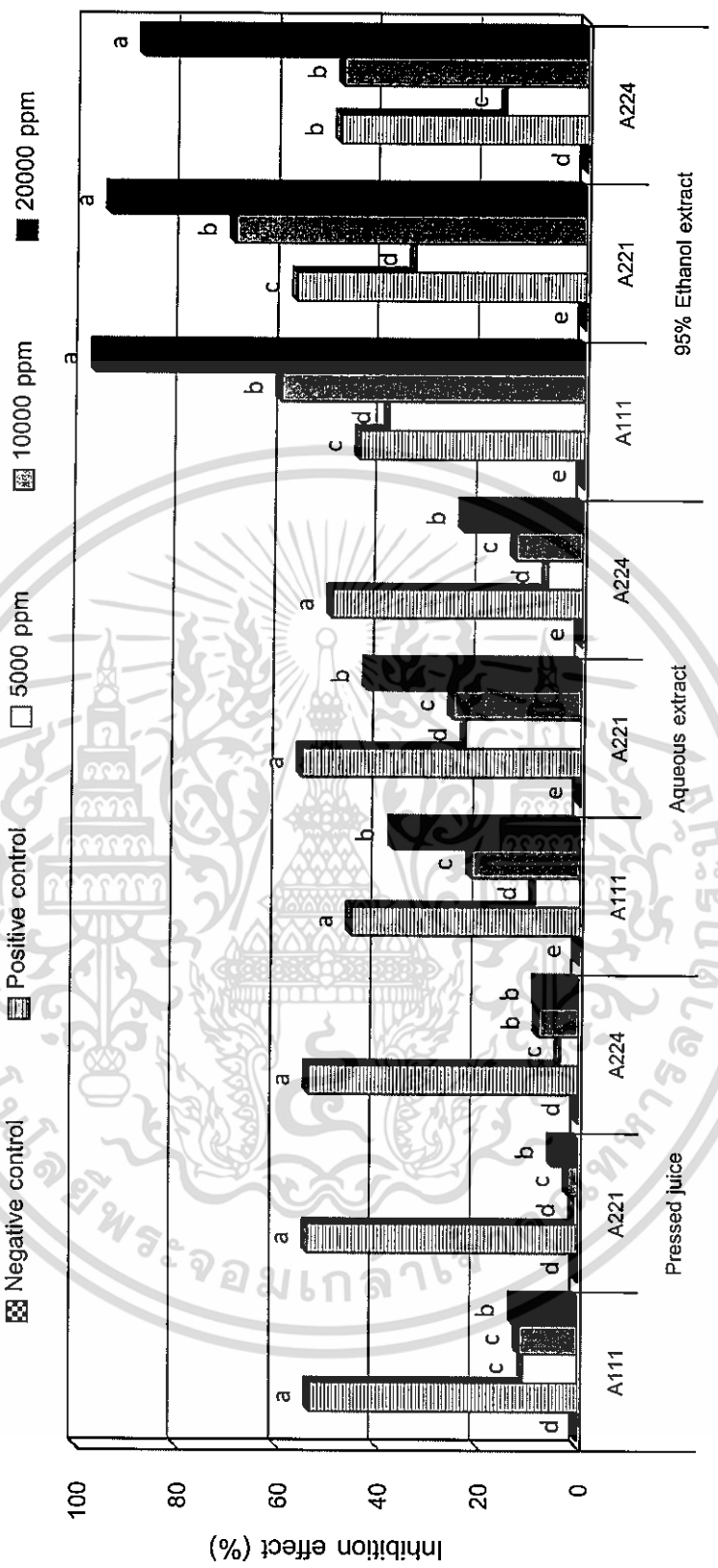

Figure 2 Effect of pressed juice and crude extracts of *Tagetes erecta* L. on mycelium growth of phytopathogenic fungi at 11 days after inoculation (DAI). Values are means of five replicates. Column bars within each pathogen indicated with the same letter are not significantly different according to Duncan's Multiple Range Test (DMRT) (P> 0.05).

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

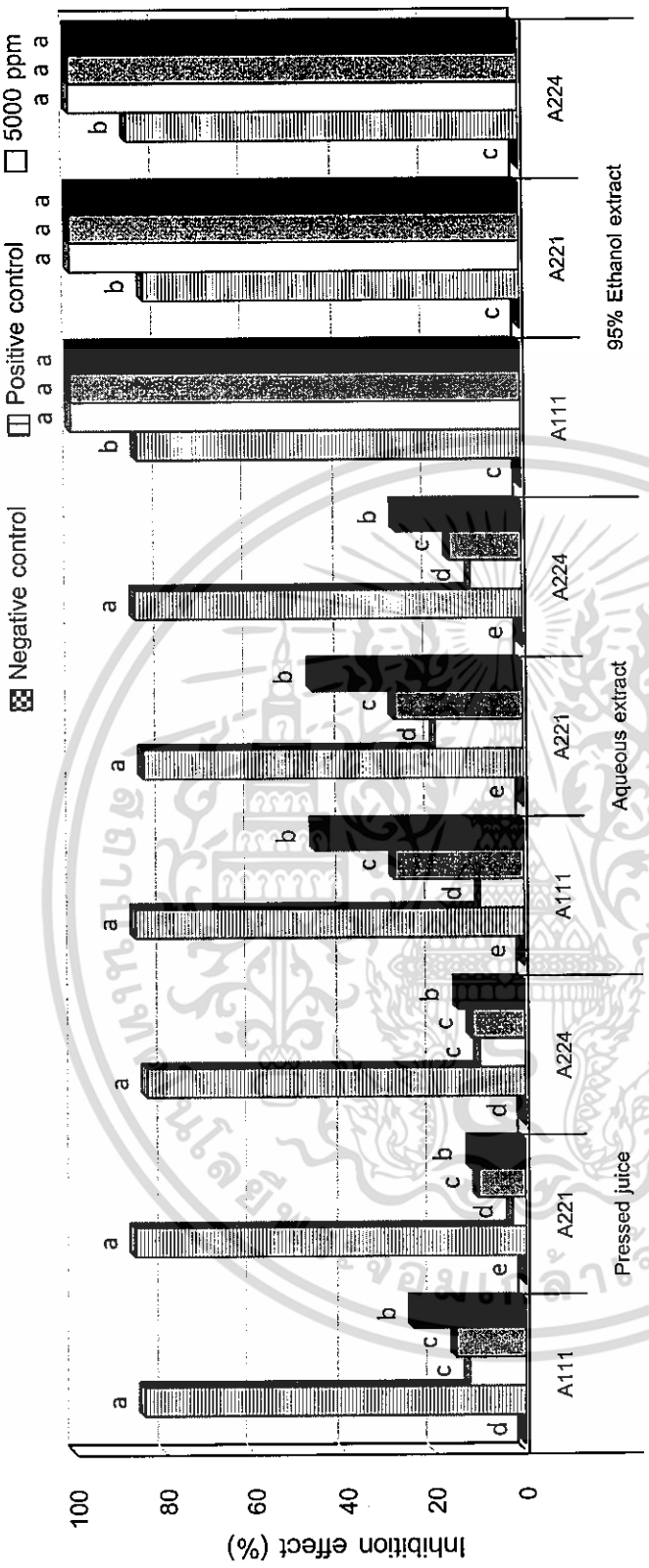

Figure 3 Effect of pressed juice and crude extracts of *Tagetes erecta* L. on spore germination of phytopathogenic fungi at 72 hrs. Values are means of five replicates. Column bars within each pathogen indicated with the same letter are not significantly different according to Duncan's Multiple Range Test (DMRT) (P> 0.05).

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Figure 4 Colony of 3 isolates of *Altemaria brassicicola* grown on PDA mixed with pressed juice, aqueous and ethanol crude extracts of flower of *Tagetes erecta* L. at 11 DAI.

Figure 5 Abnormal spores of 3 isolates of *Altemaria brassicicola*. caused by aqueous and ethanol crude extracts of flower of *Tagetes erecta* L. at 72 hrs.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สรุป

จากการแยกเชื้อราสาเหตุโรค พบเชื้อรา *A. brassicicola* จำนวน 6 ไอโซเลท ได้แก่ A111, A221, A222, A223, A224 และ A225 โดยพบว่า A111, A221 และ A224 มีความสามารถในการทำให้เกิดโรครุนแรงที่สุด จึงได้นำมาทดสอบประสิทธิภาพของน้ำคั้น สารสกัดน้ำ และสารสกัดเอทานอลจากดอกดาวเรืองในการควบคุมการเจริญทางเส้นใยและการงอกของสปอร์ พบว่า สารสกัดเอทานอลสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราที่ทดสอบได้สูงที่สุด และเป็นที่น่าสนใจอย่างมากที่สารสกัดจากดอกดาวเรืองแสดงประสิทธิภาพสูงกว่าสารเคมีแมนโคเซบ โดยที่ระดับความเข้มข้น 10000 และ 20000 ppm ยับยั้งการเจริญทางเส้นใยอยู่ในช่วง 48.77-97.66 เปอร์เซ็นต์ รองลงคือสารสกัดน้ำอยู่ในช่วง 13.55-37.33 เปอร์เซ็นต์ ส่วนน้ำคั้นมีประสิทธิภาพน้อยที่สุด สามารถยับยั้งสูงสุดเพียง 12.88 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่การทดสอบการงอกของสปอร์พบว่าผลเป็นไปในทิศทางเดียวกันกับเส้นใย กล่าวคือ สารสกัดเอทานอลทุกระดับความเข้มข้นสามารถยับยั้งการงอกได้ถึง 100 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือสารสกัดน้ำมีประสิทธิภาพในการยับยั้งสูงถึง 46.67 เปอร์เซ็นต์ ส่วนน้ำคั้นมีประสิทธิภาพน้อยที่สุด คือ 3-24.67 เปอร์เซ็นต์ จากที่กล่าวมาสรุปได้ว่า สารสกัดเอทานอลมีประสิทธิภาพยับยั้งได้ดีที่สุด ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria* sp. โดยความเข้มข้นที่เหมาะสมที่จะนำมาใช้คือ 10000 ppm ซึ่งมีความเป็นไปได้ที่จะนำมาใช้ทดแทนสารเคมีป้องกันกำจัดโรคพืช อีกทั้งยังสามารถยับยั้งศัตรูพืชได้ แต่อย่างไรก็ตามควรทำการศึกษาเพิ่มเติมถึงความเข้มข้นที่เหมาะสมที่จะนำไปใช้ในสภาพจริง ในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคใบจุดของคะน้าต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ คุณภัทริน วิจิตรตระการ นักศึกษาปริญญาเอก คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่ช่วยเตรียมสารสกัดจากพืช เพื่อใช้ดำเนินงานวิจัยในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

กรมส่งเสริมการเกษตร. 2551. พืชตระกูลกะหล่ำ (คะน้า, กวางตุ้ง). สำนักส่งเสริมและจัดการสินค้าเกษตร กรมส่งเสริมการเกษตร, กรุงเทพฯ 36 หน้า.

จรงค์ศักดิ์ พุมนวน และมณฑินี ธีรารักษ์. 2555. ประสิทธิภาพของสารสกัดจากดาวเรือง (*Tagetes electa* L.) ในการควบคุมหนอนใยผัก (*Plutella xylostella* L.). วารสารเกษตรพระจอมเกล้า. 30(2): 1-7.

ณฐพงศ์ เมธินธรังสรรค์ และดวงเดือน วัฏฏานุรักษ์. 2560. ผลของสารสกัดดาวเรือง (*Tagetes electa* L.) ในการควบคุมหนอนผีเสื้อกินใบมะนาว *Papilio demoleus* Linnaeus (Leppidoptera: Papiliionidae). วารสารวิจัยและพัฒนา วไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์ สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 12(2): 1-10.

เทอดพันธ์ ธรรมรัตนพงษ์. 2548. ชีววิทยาและการก่อให้เกิดโรคของ *Alternaria brassicicola* สาเหตุโรคใบจุดของผักกาดกวางตุ้งและการกระตุ้นเพื่อให้ต้านทานต่อโรคก่อนการเก็บเกี่ยว. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท สาขาโรคพืช มหาวิทยาเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 119 หน้า.

วิพรพรรณ์ เนื่องเม็ก และ รัตนาภรณ์ นครไธสง. 2557. การศึกษาการป้องกันกำจัดโรคใบจุดของผักกาดหอมในระบบการปลูกแบบไฮโดรโปนิคส์ด้วยสารสกัดสมุนไพร. วารสารนเรศวรพะเยา. 7(2): 131-136.

สร้อยสุดา อุตระกูล, ทรงศิลป์ พจน์ชนะชัย, นวลจันทร์ ภูคลัง, เดือนเต็ม ลอยมา, ชณิตรา โพธิคเวษฐ์ และประภาพร สีใส. 2552. ประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากขิง (*Zingiber officinale* Roscoe) และตะไคร้ (*Cymbopogon citratus* L.) ต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Aspergillus niger* ในเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดและ *Alternaria brassicicola* ในเมล็ดพันธุ์ผักกาดเขียวปลี. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร. 40(3): 313-316.

สุดารัตน์ หอมหวน, ยุวดี ชูประภาวรรณ และวิรัตน์ จันทร์ตรี. 2554. ฤทธิ์ฆ่าแมลงของพืชต่อเพลี้ยอ่อนถั่ว. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี. 13(4): 22-29.

สุริยสิทธิ์ สมนึก, ไพลิน เนินหาด, ทิพประภา เมฆพัฒน์ และถนิมนันต์ เจนอักษร. 2558. อิทธิพลของน้ำคั้นฝักเห็ดเทศ (*Cassia alata* L.) ต่อเชื้อราปฏิปักษ์และเชื้อราสาเหตุโรคพืชผัก. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า. 33(พิเศษ): 735-744.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Avenot, H.F. and T.J. Michailides. 2015. Detection of isolates of *Alternaria alternata* with multiple-resistance to fludioxonil, cyprodinil, boscalid and pyraclostrobin in California pistachio orchards. Crop Protection. 78: 214-221.

Avenot, H.F., C. Solorio, D.P. Morgan and T.J. Michailides. 2016. Sensitivity and cross-resistance patterns to demethylation-inhibiting fungicides in California populations of *Alternaria alternata* pathogenic on pistachio. Crop Protection. 88: 72-78.

Ganie, S.A., V.R. Pant, M.Y. Ghani, A.H. Lone, Q. Anjum, and S.M. Razvi. 2013. In vitro evaluation of plant extracts against *Alternaria brassicae* (Berk.) Sacc. causing leaf spot of mustard and *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* causing wilt of tomato. Scientific Research and Essays. 8(37): 1808-1811.

Gupta, P. and N. Vasudeva. 2012. Marigold a potential ornamental plant drug. Hamdard Medicus 55(1): 45-59.

Jain, R., N. Katare, V. Kumar, A.K. Samanta, S. Goswami and C.K. Shrotri. 2012. *In vitro* antibacterial potential of different extracts of *Tagetes erecta* and *Tagetes patula*. Journal of Natural Sciences Research. 2(5): 84-90.

Khan, M.M., R.U. Khan and F.A. Mohiddin. 2007. Studies on the cost-effective management of *Alternaria* blight of rapeseed-mustard (*Brassica* spp.). Phytopathologia Mediterranea. (46): 201-206.

Landschoot, S., J. Carrette, M. Vandecasteele, B.D. Baets, M. Hofte, K. Audenaert and G. Haesaert. 2017. Boscalid-resistance in *Alternaria alternata* and *Alternaria solani* populations: An emerging problem in Europe. Crop Protection. 92: 49-59.

Li-wei, X., C. Juan, Q. Huan-yang, and S. Yan-ping. 2012. Phytochemicals and their biological activities of plants in *Tagetes* L. Chinese Herbal Medicines. 4(2): 103-117.

Mahmood, I., A. Masood, S.K. Saxena and S.I. Husain. 1979. Effect of some plant extacts on the mortality of *Meloidogyne incognita* and *Rotylenchulus reniformis*. Acta Botanica Indica. 7: 129-132.

Malandrakis, A.A., Z.A. Apostolidou, A. Markoglou and F. Flouri. 2015. Fitness and cross-resistance of *Alternaria alternata* field isolates with specific or multiple resistance to single site inhibitors and mancozeb. European Journal of Plant Pathology. 142: 489-499.

Mares, D., B. Tosi, F. Poli, I. E. Andreott and C. Romagnoli. 2004. Antifungal activity of *Tagetes patula* extracts on some phytopathogenic fungi: ultrastructural evidence on *Pythium ultimum*. Microbiological Research. 159: 295–304.

Nashwa, S.M.A. and K.A.M. Abo-Elyousr. 2012. Evaluation of various plant extracts against the early blight disease of tomato plants under greenhouse and field conditions. Plant Protection Science. 48(2): 74-79.

Padma, S. and S. Deepika. 2013. Phytochemical screening and in-vitro antifungal investigation of *Parthenium hysterophorus* extracts against *Alternaria alternata*. International Research Journal of Pharmacy. 4(7): 190-193.

Politi, F.A.S., G.M. Queiroz-Fernandes, E.R. Rodrigues, J.A. Freitas and R.C.L.R. Pietro. 2016. Antifungal, antiradical and cytotoxic activities of extractives obtained from *Tagetes patula* L. (Asteraceae), a potential acaricide plant species. Microbial Pathogenesis. 95: 15-20.

Ramya, R. and S.K. Bhat. 2013. Comparative evaluation of mycostatic effect of *Tagetes* spp. Microbiology. 3(7): 546-548.

Ray, D., D. Prasad and R.P. Singh. 2000. Chemical examination and antinemic activity of marigold (*Tagetes electa* L.) flower. Annals of Plant Protection Sciences. 8: 212-217.

Rotem, J. 1994. The genus *Alternaria*: Biology, epidemiology, and pathogenicity. The American Phytopathological Society, Minnesota. 326p.

Verma, P. and A. Verma. 2012. Evaluation of antibacterial activity of different parts of *Tagetes erecta*. International Journal of Pharmacy and Life Sciences. 3(6): 1766-1768.

Waghe, K.P., S.S. Wagh, D.P. Kuldhar and D.V. Pawar. 2015. Evaluation of different fungicides, bioagents and botanicals against *Alternaria* blight caused by *Alternaria helianthi* (Hansf) of sunflower. African Journal of Agricultural Research.10(5): 351-358.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้