การคัดเลือกสมุนไพรที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อราโรคพืช *Phytophthora sp.*

SCREENING OF EFFECTIVE HERBS FOR CONTROLLING PLANT PATHOGEN *Phytophthora* sp.

วาสินี ธรรมสถิต

WASINEE THAMSATIT

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
พ.ศ. 2560

KMITL-2017-SC-M-020-007

การคัดเลือกสมุนไพรที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อราโรคพืช *Phytophthora* sp.

SCREENING OF EFFECTIVE HERBS FOR CONTROLLING PLANT PATHOGEN *Phytophthora* sp.

วาสินี ธรรมสถิต

WASINEE THAMSATIT

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2560

KMITL-2017-SC-M-020-007

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

SCREENING OF EFFECTIVE HERBS FOR CONTROLLING PLANT PATHOGEN *Phytophthora* sp.

WASINEE THAMSATIT

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF THE REQUIREMENT FOR
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE IN BIOTECHNOLOGY
FACULTY OF SCIENCE
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG
2017

KMITL-2017-SC-M-020-007

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

COPYRIGHT 2017
FACULTY OF SCIENCE
KING MONGKUT 'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การคัดเลือกสมุนไพรที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อราโรคพืช *Phytophthora* sp. Screening of Effective Herbs for Controlling Plant Pathogen *Phytophthora* sp.
นักศึกษา	นางสาววาสินี ธรรมสถิต
รหัสประจำตัว	57605116
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)
ภาควิชา	ชีววิทยา
พ.ศ.	2560
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	รศ.ดร.ดุษณี ธนะบริพัฒน์

บทคัดย่อ

เชื้อราก่อโรคจำนวน 11 ไอโซเลท ที่แยกได้จากตัวอย่างลำต้นและผลทุเรียนที่มีอาการผลเน่าจากแปลงทุเรียน อำเภอขลุง จังหวัดจันทบุรีและจากแปลงเกษตรทดลอง อำเภอปะทิว จังหวัดชุมพร สามารถจัดจำแนกด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยาและลักษณะทางอณูวิทยา พบว่าเชื้อราก่อโรคที่คัดแยกได้ มีลักษณะคล้ายคลึงกับเชื้อรา 3 สายพันธุ์ คือ *Phytophthora palmivola, Galactomycese candidum* และ *Fusarium solani* จากนั้นคัดเลือกเฉพาะเชื้อรา *Phytopthora* spp. 4 ไอโซเลท เนื่องจากเป็นสาเหตุของโรคอันดับหนึ่งที่พบในทุเรียน นำมาทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของเชื้อราด้วยสารสกัดจากสมุนไพร 8 ชนิด ได้แก่ กระชาย ขมิ้นชัน หัวแห้วหมู สบู่เลือด ว่านอัคคีทวาร เปลือกมังคุด เมล็ดมะรุม และไพล โดยวิธี Poisoned Food Technique เพาะเลี้ยงเชื้อราในอาหาร PDA บ่มที่ 25 องศาเซลเซียส นาน 7 วัน ที่ระดับความเข้มข้นของสารสกัด 5 ระดับ ได้แก่ 5,000, 10,000, 15,000, 20,000 และ 25,000 พีพีเอ็ม วัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของเชื้อราที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมสารสกัดจากสมุนไพร โดยมีสารกำจัดเชื้อรา Metalaxyl เป็น positive control พบว่าสารสกัดจากสมุนไพรทุกชนิดสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราทั้ง 4 ไอโซเลทได้ โดยสารสกัดจากกระชายสามารถยับยั้งการเจริญของไอโซเลท PD2-4, PD2-16 และ DF008 ได้ดีที่สุด (100 เปอร์เซ็นต์) ที่ความเข้มข้น 25,000, 25,000 และ 20,000 พีพีเอ็ม ตามลำดับ และสารสกัดจากขมิ้นชันสามารถยับยั้งการเจริญของไอโซเลท PD2-2 ได้ดีที่สุด (100 เปอร์เซ็นต์)ที่ความเข้มข้น 15,000 พีพีเอ็ม

คำสำคัญ : เชื้อราก่อโรค *Phytopthora palmivora* ทุเรียน สารสกัดจากสมุนไพร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Thesis Title	Screening of Effective Herbs for Controlling Plant Pathogen *Phytophthora* sp.
Student Name	Wasinee Thamsatit
Student ID	57605116
Degree	Master of Science (Biotechnology)
Department	Biology
Year	2017
Thesis Advisor	Assoc. Prof. Dr. Dusanee Thanaboripat

Abstract

Eleven fungal pathogenic strains were isolated from durian (stem and rotten fruit) in Amphur Klung, Chanthaburi Province and Agricultural field, Amphur Patiew, Chumphon Province. Classification by morphological and molecular characterization revealed that all fungal pathogens belonged to *Phytophthora palmivola, Galactomycese candidum* and *Fusarium solani*. Only *Phytophthora palmivola* was selected for further investigation because this fungus was the main plan pathogen infecting durian. Antifungal activities of 8 herb extracts from Finger root (*Boesenbergia rotunda* (L.) Mansf.), Turmeric (*Curcuma longa* Linn.), Nut grass (*Cyperus rotundus* Linn.), Bellyache bush (*Jatropha gossypifolia*), Bharangi (*Clerodendrum serratum* Moon var. *wallichii* Clarke), Mangosteen peel (*Garcinia mangostana*), Drumstick seed (*Moringa Oleifera* Lam.) and Cassumunar ginger (*Zingiber cassumunar* Roxb.) against 4 isolates of *Phytopthora* sp. were examined. Five concentrations of herbal extracts at 5,000, 10,000, 15,000, 20,000 and 25,000 ppm were tested by Poisoned Food Technique. The cultures on PDA were incubated at 25°c for 7 days using Metalaxyl as positive control. The results indicate that all herb extracts showed inhibitory property against *Phytopthora* spp. However, finger root extracts showed the best inhibitory effect (100%) on the growth of *Phytopthora* sp. isolates DF008, PD2-4 and PD2-16 at 25,000, 25,000 and 20,000 ppm, respectively whereas turmeric extracts showed the best inhibitory effect (100%) on the growth of *Phytopthora* sp. isolate PD2-2 at 15,000 ppm.

Keywords: Plant pathogen, *Phytopthora palmivora*, Durian, Herb extract

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์นี้จัดทำขึ้นตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต โดยสามารถสำเร็จลุล่วงด้วยดี ด้วยคำแนะนำจาก รศ.ดร.ดุษณี ธนะบริพัฒน์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่เสียสละเวลาให้แนวทางและคำแนะนำต่างๆ พร้อมทั้งอำนวยความสะดวกและคอยสนับสนุนทางการทำงานวิจัยนี้

ขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.พนา โลหะทรัพย์ทวี ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ดร.ปราโมทย์ ศิริโรจน์ กรรมการสอบ ที่กรุณาให้คำปรึกษาและแนวทางการปฏิบัติงานตลอดจนตรวจทานแก้ไขข้อบกพร่องของงานวิจัย และอาจารย์สุจิตตรา สุคนธมัต อาจารย์ประจำสาขาวิชาสถิติที่กรุณาให้คำปรึกษาแนะนำด้านการวิเคราะห์ข้อมูลและวออกแบบการทดลอง

ขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.อุ่นเรือน เพชราวัลย์ กรรมการผู้ทรงคุณวุฒิภายนอกสถาบัน ที่กรุณาแนะนำแนวทางการปฏิบัติงาน ตลอดจนให้ความช่วยเหลือในการทำงานวิจัยนี้

ขอขอบพระคุณ ดร.พรประพา คงตระกูล อาจารย์ประจำสาขาวิชาพืชสวน สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง วิทยาเขตชุมพรเขตรอุดมศักดิ์ จังหวัดชุมพร ที่ให้ความอนุเคราะห์รา่อโรคพืชในครั้งนี้ด้วย

ขอบคุณ คุณพิชิต ชนะสิทธิ์ ที่ให้การอนุเคราะห์ในการเก็บตัวอย่างโรคพืชในแปลงเกษตรจังหวัดจันทบุรี และจังหวัดตราด

ขอขอบคุณ ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์ ภาควิชาชีววิทยา เจ้าหน้าที่คณะวิทยาศาสตร์ ที่ให้การอนุเคราะห์ด้านสถานที่และอุปกรณ์ต่างๆ

ขอกราบขอบพระคุณ บิดา มารดา ญาติพี่น้อง และเพื่อนๆที่ให้การสนับสนุนและส่งเสริมการศึกษา ตลอดจนการทำงานวิจัยนี้ที่คอยให้คำปรึกษาและเป็นกำลังใจเสมอมา ตลอดจนผู้ที่มีได้กล่าวมา ณ ที่นี้ที่ได้มีส่วนช่วยให้งานวิจัยฉบับนี้สำเร็จสมบูรณ์ด้วยดี

นางสาววาสินี ธรรมสถิต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	ฉ
สารบัญรูป	ช
บทที่ 1 บทนำ	
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย	2
1.3 ขอบเขตงานวิจัย	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	
2.1 ทุเรียน	3
2.2 เชื้อรา *Phytophthora*	3
2.3 สารสกัดจากพืชสมุนไพร	
2.3.1 กระชาย (Finger root)	5
2.3.2 ขมิ้นชัน (Turmeric)	6
2.3.3 หัวแห้วหมู (Nut grass)	8
2.3.4 สบู่เลือด (Bellyache bush)	8
2.3.5 ว่านอัคคีทวาร (Bharangi)	9
2.3.6 เปลือกมังคุด (Mangosteen peel)	10
2.3.7 เมล็ดมะรุม (Drumstickseed)	11
2.3.8 ไพล (Cassumunar ginger)	12
2.4 สารประกอบที่พบในพืชสมุนไพร	
2.4.1 กลุ่ม Alkaloids	13
2.4.2 กลุ่ม Glycosides	13
2.4.3 กลุ่ม Tannins	14
2.4.4 น้ำมันหอมระเหย (Volatile oil หรือ Essential oil)	14
2.4.5 กลุ่ม Steroids	14
2.4.6 กลุ่ม Terpenoids	14
2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย	
3.1 เชื้อรา	17
3.2 สมุนไพร	17

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ(ต่อ)

3.3 อุปกรณ์ สารเคมีและอาหารเลี้ยงเชื้อ 17
3.3.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง 17
3.3.2 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง 18
3.3.3 อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการทดลอง 19
3.4 การเก็บตัวอย่างและคัดแยกเชื้อราก่อโรค 19
3.5 การเก็บรักษาเชื้อรา *Phytopthora* spp. 20
3.6 การจัดจำแนกเชื้อรา *Phytopthora* spp.โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา 20
3.7 การจัดจำแนกเชื้อรา *Phytopthora* spp.โดยใช้ลักษณะทางอณูวิทยา
3.7.1 การสกัดดีเอ็นเอ (DNA Extraction)และการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ 20
3.7.2 Gel electrophoresis และ DNA Sequencing 21
3.8 การเตรียมสารสกัดสมุนไพร 21
3.9 การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของ เชื้อรา *Phytopthora* spp. 21
3.10 การวิเคราะห์ทางสถิติ 22

บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล
4.1 ผลการเก็บตัวอย่างและคัดแยกเชื้อราก่อโรค 23
4.2 ผลการจัดจำแนกเชื้อราก่อโรคโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา 24
4.3 ผลการจัดจำแนกเชื้อราก่อโรคโดยใช้ลักษณะทางอณูวิทยา 31
4.4 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Phytopthora* spp. 32

บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ
5.1 สรุปผลการวิจัย 42
5.2 ข้อเสนอแนะ 42

เอกสารอ้างอิง 43

ภาคผนวก
ภาคผนวก ก สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อและการเตรียมสารเคมี 50
ภาคผนวก ข การจัดจำแนกเชื้อในระดับอณูชีววิทยา (Molecular genetic) 52
ภาคผนวก ค ข้อมูลดิบผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. palmivora* 61
ภาคผนวก ง รูปแสดงผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. palmivora* 69

ประวัติผู้เขียน 101

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 4.1 แหล่งที่มาและประเภทตัวอย่างของต้นทุเรียนที่เกิดโรค 24

ตารางที่ 4.2 แหล่งที่มาของเชื้อราก่อโรคที่คัดแยกได้ 25

ตารางที่ 4.3 สายพันธุ์ของเชื้อราก่อโรคที่คัดแยกได้ 32

ตารางที่ 4.4 ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. plamivora* ไอโซเลทPD2-2 โดยสารสกัดจากสมุนไพรที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ 33

ตารางที่ 4.5 ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. plamivora* ไอโซเลทPD2-4 โดยสารสกัดจากสมุนไพรที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ 35

ตารางที่ 4.6 ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. Plamivora* ไอโซเลทPD2-16 โดยสารสกัดจากสมุนไพรที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ 37

ตารางที่ 4.7 ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. plamivora* ไอโซเลทDF008 โดยสารสกัดจากสมุนไพรที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ 39

ตาราง ข-1 เปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อราก่อโรคที่คัดแยกได้จากฐานข้อมูล GenBank 55

ตารางที่ ค-1 ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. palmivora* ไอโซเลท PD2-2 โดยสารสกัดจากสมุนไพรที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ 61

ตารางที่ ค-2 ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. palmivora* ไอโซเลท PD2-4 โดยสารสกัดจากสมุนไพรที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ 63

ตารางที่ ค-3 ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. palmivora* ไอโซเลท PD2-16 โดยสารสกัดจากสมุนไพรที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ 65

ตารางที่ ค-4 ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. palmivora* ไอโซเลท DF008 โดยสารสกัดจากสมุนไพรที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ 67

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

หน้า

รูปที่ 2.1 วงจรชีวิตของเชื้อรา *Phytophthora* 6

รูปที่ 2.2 ลักษณะของกระชายอบแห้ง 8

รูปที่ 2.3 ลักษณะของขมิ้นชันอบแห้ง 9

รูปที่ 2.4 สูตรโครงสร้างสาร Curcumin 9

รูปที่ 2.5 ลักษณะของหัวแห้วหมูอบแห้ง 10

รูปที่ 2.6 ลักษณะของสบู่เลือดอบแห้ง 10

รูปที่ 2.7 ลักษณะของว่านอัคคีทวารอบแห้ง 11

รูปที่ 2.8 ลักษณะเปลือกมังคุดบดผง 12

รูปที่ 2.9 ลักษณะของเมล็ดมะรุมอบแห้ง 13

รูปที่ 2.10 ลักษณะของไพลอบแห้ง 13

รูปที่ 3.1 ตัวอย่างลำต้นทุเรียนที่นำมาคัดแยกเชื้อราก่อโรค 21

รูปที่ 3.2 ตัวอย่างผลทุเรียนที่นำมาคัดแยกเชื้อราก่อโรค 22

รูปที่ 3.3 การวางหลอดปั่นเหวี่ยงที่มีเส้นใยเชื้อราในเตาอบไมโครเวฟ xx

รูปที่ 4.1 ลักษณะโคโลนีของเชื้อรา *Phytopthora* sp. ไอโซเลท PD2-2 (ซ้าย) และลักษณะเส้นใยของเชื้อรา *Phytopthora* sp. ไอโซเลท PD2-2 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 100 เท่า(ขวา) 27

รูปที่ 4.2 การสร้าง Chlamydospore ของเชื้อรา *Phytopthora* sp. ไอโซเลท PD2-2 (ซ้าย) และลักษณะ Sporangium ของเชื้อรา *Phytopthora* sp. ไอโซเลท PD2-2 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 400 เท่า (ขวา) 27

รูปที่ 4.3 ลักษณะโคโลนีของเชื้อรา *Phytopthora* sp. ไอโซเลท PD2-4 (ซ้าย) และลักษณะเส้นใยของเชื้อรา *Phytopthora* sp. ไอโซเลท PD2-4 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 100 เท่า(ขวา) 28

รูปที่ 4.4 การสร้าง Chlamydospore ของเชื้อรา *Phytopthora* sp. ไอโซเลท PD2-4 (ซ้าย) และลักษณะ Sporangium ของเชื้อรา *Phytopthora* sp. ไอโซเลท PD2-4 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 400 เท่า (ขวา) 28

รูปที่ 4.5 ลักษณะโคโลนีของเชื้อรา *Phytopthora* sp. ไอโซเลท PD2-16 (ซ้าย) และลักษณะเส้นใยของเชื้อรา *Phytopthora* sp. ไอโซเลท PD2-16 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 100 เท่า (ขวา) 29

รูปที่ 4.6 ลักษณะ Sporangium ของเชื้อรา *Phytopthora* sp. ไอโซเลท PD2-16 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 400 เท่า 29

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป (ต่อ)

หน้า

รูปที่ 4.7 ลักษณะโคโลนีของเชื้อรา *Phytopthora* sp. ไอโซเลท DF008 (ซ้าย) และลักษณะเส้นใยของเชื้อรา *Phytopthora* sp. ไอโซเลท DF008 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 100 เท่า(ขวา) 29

รูปที่ 4.8 ลักษณะ Sporangium ของเชื้อรา *Phytopthora* sp. ไอโซเลท DF008 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 400 เท่า 29

รูปที่ 4.9 ลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อรา ไอโซเลท DS115(ก), PD1-8(ข), PD2-1(ค) และ PD2-6(ง) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 400 เท่า 30

รูปที่ 4.10 ลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อรา ไอโซเลท P1(ก), PD1-5(ข) และ PD1-11(ค) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 400 เท่า 30

รูปที่ 4.11 แถบดีเอ็นเอที่แยกบนแผ่น Agarose gel ด้วยเทคนิค Agarose Gel Electrophoresis 31

รูปที่ 4.12 เชื้อรา *P. palmivora*. ไอโซเลท PD2-2 ที่เจริญบนอาหาร PDA (ซ้าย) และอาหาร PDA ผสมสารสกัดจากขมิ้นชัน ความเข้มข้น 10,000 พีพีเอ็ม (ขวา) 34

รูปที่ 4.13 เชื้อรา *P. palmivora*. ไอโซเลท PD2-4 ที่เจริญบนอาหาร PDA (ซ้าย) และอาหาร PDA ผสมสารสกัดจากกระชาย ความเข้มข้น 20,000 พีพีเอ็ม (ขวา) 36

รูปที่ 4.14 เชื้อรา *P. palmivora*. ไอโซเลท PD2-16 ที่เจริญบนอาหาร PDA (ซ้าย) และอาหาร PDA ผสมสารสกัดจากกระชาย ความเข้มข้น 20,000 พีพีเอ็ม (ขวา) 38

รูปที่ 4.15 เชื้อรา *P. palmivora*. ไอโซเลท DF008 ที่เจริญบนอาหาร PDA (ซ้าย) และอาหาร PDA ผสมสารสกัดจากกระชาย ความเข้มข้น 15,000 ppm (ขวา) 40

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ทุเรียนเป็นพืชที่สำคัญทางเศรษฐกิจของไทย เป็นผลไม้ส่งออกอันดับหนึ่งต่อเนื่องมาหลายปี แต่การส่งออกนั้นเกษตรกรไทยมักพบปัญหาเรื่องกฎหมายการควบคุมโรคและสารเคมีตกค้างในทุเรียน (จินตน์กานต์, 2557) โดยเชื้อราก่อโรคที่เป็นปัญหาหลักในทุเรียน คือ เชื้อรา *Phytopthora* spp. ซึ่งก่อให้เกิดโรคโคนเน่าและผลเน่าของทุเรียน เชื้อรา *Phytophthora* spp. เป็นราน้ำ ที่อาศัยอยู่ในดิน อาศัยข้ามฤดูบนซากพืชที่เคยเป็นโรค ทนต่อสภาพแห้งแล้งได้ดี และจะเจริญเป็นเส้นใยในสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมในฤดูฝน เชื้อรา *Phytophthora* spp. จะสามารถแพร่กระจายได้อย่างรวดเร็ว โดยอาศัยน้ำ ลม และความชื้นโดยเกาะอยู่ตามส่วนต่างๆของพืช เมื่อมีความชื้นสูง เชื้อรา *Phytophthora* spp. จะปล่อย zoospore เข้าทำลายรากพืช เชื้อราตามผิวดินจะสร้างสปอร์และสามารถแพร่กระจายโดยอาศัยลมและความชื้นไปตกตามยอด ใบและส่วนต่างๆของทุเรียน ทำให้เกิดการลุกลามของโรค โดยทุเรียนแสดงอาการต้นโทรม อ่อนแอต่อการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุโรค ไม่ตอบสนองต่อปุ๋ย ยอดไหม้แห้ง มีอาการลำต้นหรือรากเน่าแฉะฉ่ำน้ำจนเปลือกร่อน ระบบรากเสียและไม่มีรากฝอย (ธรรมศักดิ์, 2532) ด้วยเหตุผลนี้เกษตรกรจึงนิยมใช้สารเคมีกำจัดเชื้อราเป็นจำนวนมาก ได้แก่ สารเคมีจำพวก Etridiazole Azoxystrobin Mancozeb Fosetyl-Al Phosphonic และ metalaxyl ในการป้องกันและกำจัดโรคดังกล่าว (Tjosvold และคณะ, 2008) อีกทั้งการใช้สารเคมีกำจัดเชื้อราในปริมาณมากและเป็นระยะเวลานานนั้นจะทำให้เชื้อราเกิดการต้านทานต่อสารเคมีเหล่านี้ได้ ทำให้เกษตรกรจำเป็นต้องเพิ่มปริมาณสารเคมีที่ใช้ในแต่ละครั้งมากขึ้นเรื่อยๆ ซึ่งมีผลกระทบโดยตรงไปสู่เกษตรกรทั้งเรื่องของสุขภาพและต้องเสียค่าใช้จ่ายในการจัดซื้อสารเคมีกำจัดเชื้อราและส่งผลต่อผู้บริโภคที่ต้องเสี่ยงกับสารเคมีตกค้างในทุเรียน

จากปัญหาดังกล่าวทำให้มีแนวคิดในการใช้สารสกัดจากสมุนไพรพื้นบ้านเป็นทางเลือกในการกำจัดเชื้อรา *Phytophthora* spp. เพราะเกษตรกรสามารถหาได้ทั่วไปตามท้องตลาด ราคาถูก ไม่เป็นอันตรายต่อเกษตรกรและผู้บริโภค ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงได้ทำการแยกเชื้อรา *Phytopthora* spp. จากแปลงทุเรียน อำเภอขลุง จังหวัดจันทบุรี อำเภอบ่อไร่ จังหวัดตราดและแปลงเกษตรทดลอง อำเภอปะทิว จังหวัดชุมพร ซึ่งเป็นตัวแทนแหล่งส่งออกทุเรียนในเขตภาคตะวันออกและภาคใต้และทำการทดสอบด้วยสารสกัดจากสมุนไพรไทย ได้แก่ กระชาย ขมิ้นชัน หัวแห้วหมู สบู่เลือด ว่านอัคคี ทวาร เปลือกมังคุด เมล็ดมะรุม และไพล ซึ่งสมุนไพรเหล่านี้สามารถหาได้ง่ายในแต่ละท้องถิ่น ส่วนใหญ่มักใช้เป็นยาแผนโบราณรักษาแผลติดเชื้อ ลดอาการผิวหนังอักเสบจากเชื้อรา (วิทย์, 2532) โดย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คาดว่าการใช้สารสกัดจากสมุนไพรจะเป็นทางเลือกให้กับเกษตรกรที่จะลดการใช้สารเคมีเพื่อแก้ปัญหาเรื่องสารเคมีตกค้างในทุเรียนส่งออก รวมทั้งอันตรายต่อเกษตรกรและผู้บริโภคอีกด้วย

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1. เพื่อคัดแยกเชื้อรา *Phytophthora* spp. และจัดจำแนกเชื้อรา *Phytophthora* spp. ที่แยกได้ด้วยลักษณะทางสรีรวิทยาและอณูวิทยา จากตัวอย่างลำต้นและผลของทุเรียนที่เกิดโรค

2. เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารสกัดพืชสมุนไพร 8 ชนิดได้แก่ กระชาย ขมิ้นชัน หัวแห้วหมู สบู่เลือด ว่านอัคคีทวาร เปลือกมังคุด เมล็ดมะรุม และไพล ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Phytophthora* sp. ที่แยกได้

1.3 ขอบเขตงานวิจัย

ทำการแยกเชื้อรา *Phytophthora* spp. จากตัวอย่างลำต้นและผลของทุเรียนที่เกิดโรคจากแปลงทุเรียน อำเภอขลุง จังหวัดจันทบุรี อำเภอบ่อไร่ จังหวัดตราดและแปลงเกษตรทดลอง อำเภอปะทิว จังหวัดชุมพรและจัดจำแนกเชื้อรา *Phytophthora* spp. ที่แยกได้ด้วยลักษณะทางสรีรวิทยาและอณูวิทยา รวมถึงศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพสารสกัดจากพืชสมุนไพรทั้ง 8 ชนิดได้แก่ กระชาย ขมิ้นชัน หัวแห้วหมู สบู่เลือด ว่านอัคคีทวาร เปลือกมังคุด เมล็ดมะรุม และไพล ที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Phytophthora* spp.

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทราบถึงสายพันธุ์ของเชื้อรา *Phytophthora* ที่แยกจากพืชเศรษฐกิจได้ โดยใช้ลักษณะทางสรีรวิทยาและอณูวิทยา

2. ทราบถึงประสิทธิภาพและระดับความเข้มข้นของสารสกัดจากพืชสมุนไพรแต่ละชนิดที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Phytophthora* เพื่อสามารถนำไปใช้ทดแทนการใช้สารเคมีในเกษตรกรรมได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ทุเรียน

ทุเรียน (Durian) จัดอยู่ในวงศ์ Bombacaceae ทุเรียนมีแหล่งกำเนิดอยู่ในเขตเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ทุเรียนจัดอยู่ในสกุล *Durio* สายพันธุ์ *Durio zibethinus* Murray. ซึ่งมีลักษณะที่เด่นคือ มีเมล็ดที่ใหญ่และเนื้อหุ้มเมล็ดที่นุ่ม ในสกุลดังกล่าวมีอยู่ทั้งหมด 27 สายพันธุ์ แต่มีเพียง 6 สายพันธุ์ที่ให้ผลใช้รับระทานได้ ซึ่งเป็นพืชที่สำคัญที่สุดที่นิยมปลูกเป็นการค้า ทุเรียนเป็นไม้ยืนต้นอาจสูงได้ถึง 20-40 เมตร แต่ถ้าปลูกจากกิ่งตอนต้นจะเตี้ยกว่าโดยอาจจะสูงประมาณ 8-12 เมตร ต้นเป็นทรงปิรามิดหรือกรวยคว่ำ มีกิ่งด้านล่างของทรงต้นค่อนข้างมากกว่าด้านบน ใบเป็นใบเดี่ยว (simple) เรียงตัวแบบสลับ (alternate) อยู่บนกิ่งมักจะมีรูปร่างยาวรี (oblong) หรือเป็นวงรี (elliptic) ยาวประมาณ 8-20 เซนติเมตร กว้างประมาณ 4-6 เซนติเมตร ด้านบนของใบจะมีเขียวอ่อนหรือเขียวเข้ม แต่ด้านล่างของใบจะมีสีเหลือบออกน้ำตาลแดง (หิรัญและคณะ, 2546)

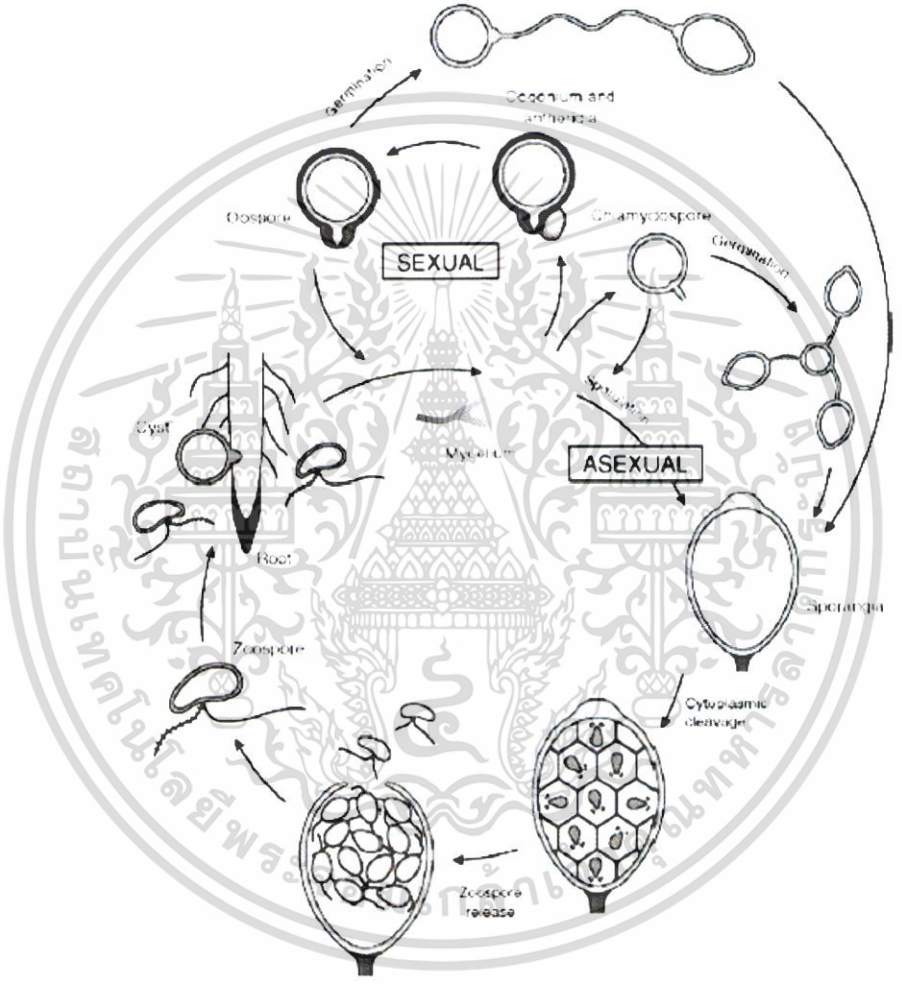
การปลูกทุเรียนในเมืองไทยมีการปลูกอยู่เกือบทุกภาค เช่น ภาคเหนือที่จังหวัดอุตรดิตถ์ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือที่จังหวัดนครพนม ภาคกลางที่จังหวัดนนทบุรี อยุธยา ลพบุรี และสระบุรี ภาคใต้ในจังหวัดที่สำคัญได้แก่ ชุมพร สุราษฎร์ธานี นราธิวาส และตรัง ภาคตะวันออกในจังหวัดที่สำคัญได้แก่ จันทบุรี ระยอง ปราจีนบุรี และตราด จากสถิติการเพาะปลูกทุเรียนในไทย ภาคตะวันออกเป็นแหล่งผลิตที่สำคัญของประเทศ ซึ่งผลผลิตจะออกในช่วงเดือนพฤษภาคม – มิถุนายน ส่วนทุเรียนทางภาคใต้จะออกในช่วงเดือนกรกฎาคม - สิงหาคม ของทุกปี ประเทศไทยเป็นประเทศที่ผลิตทุเรียนเพื่อการส่งออกเป็นอันดับหนึ่งของโลก โดยปีพ.ศ. 2556 มีพื้นที่ปลูกทุเรียน 641,248 ไร่ เป็นพื้นที่ให้ผลแล้ว 572,454 ไร่ คิดเป็นร้อยละ 89.27 ของพื้นที่เพาะปลูกทั้งประเทศ ผลผลิตรวม 562,713 ตัน มีการส่งออกทุเรียนสด 372,750 ตัน คิดเป็นร้อยละ 66.24 ของปริมาณผลผลิตทั้งหมด เป็นมูลค่า 7,513 ล้านบาท (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2557)

2.2 เชื้อรา *Phytophthora* sp.

เชื้อรา *Phytophthora* sp. เป็นราน้ำ (Water mold) ในกลุ่ม Oomycetes ซึ่งเป็นพวกที่มีลักษณะรูปร่าง และการเจริญคล้ายรา (fungus-like) มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับสาหร่ายมากกว่าราอาศัยบนเศษซากพืชอินทรียวัตถุในดิน สร้าง Sporangium ที่มีรูปร่างกลมจนถึงรูปไข่ สร้างเส้นใยอากาศและเส้นใยอาหารไม่มีสีแบบไม่มีผนังกั้น มีการสืบพันธุ์แบบทั้งอาศัยเพศและไม่อาศัยเพศ วงจรชีวิตของ *Phytophthora* มีสปอร์ 4 ชนิด คือ Sporangia, Zoospores, Chlamydospores และ Oospores โดยเริ่มจาก Chlamydospores หรือ Oospores ได้รับความชื้นจากดินหรือจากพืชจะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

งอกเป็นเส้นใยหรืองอกเป็น Sporangium ซึ่งภายใน Sporangium นี้จะสร้าง Zoospores ที่มี 2 หาง มีความยาวไม่เท่ากัน เกิดจากการแบ่งตัวของ Cytoplasm (รูปที่ 2.1) เชื้อรา *Phytophthora* sp. ส่วนใหญ่มักเป็นสาเหตุของโรคพืชหลายชนิด โดย Zoospores จะเคลื่อนที่ไปตามแรงดึงดูดของสารเคมีที่ผลิตหรือปล่อยออกมาจากรากพืชที่อยู่ใกล้เคียง แล้วปล่อยห่างทิ้งและส่วนของสปอร์เข้าสู่รากพืชโดยจะสร้างผนังเซลล์ที่มีส่วนประกอบของเซลลูโลส โดยสปอร์ดังกล่าวจะงอกเส้นใยเข้าทำลายที่เนื้อเยื่อพืชโดยตรง (Zentmyer, 1988)



รูปที่ 2.1 วงจรชีวิตของเชื้อรา *Phytophthora* (Hong และคณะ, 2008)

เชื้อรา *Phytophthora* sp. พบได้ทั่วไปโดยเฉพาะในเขตร้อนชื้น การระบาดของโรคจะมากที่สุดในช่วงฤดูฝน โรคที่เกิดจากเชื้อรา *Phytophthora* sp. ได้แก่ โรครากเน่าโคนเน่าของพริกไทย ส้ม โกโก้และทุเรียน ผลเน่าและใบร่วงของยางพารา โรคยอดเน่าในสับปะรด และ โรคผลเน่าและต้นเน่าในมะละกอ (Ristaino และ Gumpertz, 2000) โรครากเน่าและโคนเน่าในทุเรียนสาเหตุเกิดจากเชื้อรา *Phytophthora palmivora* โดยอาการเริ่มต้นที่ต้นโทรม ใบเหลืองและแห้ง ไปจนถึงใบร่วง จากนั้นที่บริเวณโคนต้น กิ่ง เปลือกลำต้นจะเปลี่ยนเป็นสีดำ ฉ่ำน้ำ มักพบในโคนต้นด้านที่มีการไหล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ของน้ำ รอยดำจะเริ่มจากวงขนาดเล็ก แล้วขยายต่อเป็นวงขนาดใหญ่ขึ้น กระทั่งลำต้นหรือกิ่งปริแตกออก จนในที่สุดทุเรียนจะยืนต้นตาย นอกจากนี้เชื้อรา *P. palmivora* ยังเป็นสาเหตุของโรคผลเน่าในทุเรียนหลังการเก็บเกี่ยวอีกด้วย (Vawdrey และคณะ, 2005)

การควบคุมโรคที่เกิดจาก *Phytophthora* ทำได้ดังนี้ (ปัญจมา, 2546)

1. ควบคุมโดยใช้พันธุ์ต้านทานต่อโรค ทุเรียนบางสายพันธุ์มีความต้านทานต่อโรคสูง เมื่อเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคในระยะต้นกล้า

2. ควบคุมโดยใช้วิธีเขตกรรม สามารถทำได้โดยการทำลายต้นพืชที่เป็นโรค การใช้ส่วนที่ทำพันธุ์ เมล็ดพันธุ์และท่อนพันธุ์ที่ปราศจากโรค การรักษาความสะอาดในสวนทุเรียน การไถพรวน การจัดการระบายน้ำในสวนไม่ให้มีน้ำท่วมขัง ในฤดูฝนควรขุดร่องระหว่างแถวทุเรียนเพื่อระบายน้ำออกและถมโคนทุเรียนให้สูงกว่าร่องน้ำจะได้ไม่เป็นการขังน้ำแช่ราก การใส่ปุ๋ยเพิ่มอินทรีย์วัตถุ

3. ควบคุมโดยชีววิธี โดยการใช้เชื้อจุลินทรีย์ทั้งที่ไม่ใช่ศัตรูพืช หรือเป็นศัตรูพืชแต่ไม่มีความรุนแรงในการเข้าทำลายพืช เพื่อควบคุมเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นศัตรูพืช เช่น การฉีดพ่นเชื้อรา *Trichoderma* spp. ร่วมกับปุ๋ยอินทรีย์ หรือการใช้เชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas fluorescens*

4. ควบคุมโดยใช้สารเคมี ซึ่งเป็นวิธีที่รวดเร็วและเป็นที่นิยมที่สุด เช่น การใช้ Metalaxyl ซึ่งเป็นสารเคมีประเภทดูดซึมซึ่งอยู่ในกลุ่ม Acylalanines เป็นสารเคมีที่มีผลเฉพาะเจาะจงต่อเชื้อราในกลุ่ม Oomycetes และมีประสิทธิภาพสูงในการควบคุมโรคที่เกิดจากเชื้อรา *Phytophthora* spp. และ *Pythium* spp. หรือจะเป็นในกลุ่มของสาร Phosphorous acid สามารถยับยั้งการสร้าง Sporangium, Zoospore, Oospore และ Chlamydospore ได้

2.3 สารสกัดจากพืชสมุนไพร

สารสกัดได้มาจากกระบวนการแยกสารเคมีที่มีอยู่ภายในสมุนไพรนั้นๆ ซึ่งเป็นสารเมทาบอไลท์ทุติยภูมิ (Secondary metabolite) ที่มีลักษณะแตกต่างกันในพืชแต่ละชนิด สารเหล่านี้เกิดจากการสังเคราะห์ในพืช กระบวนการสังเคราะห์สารเคมีจะเฉพาะเจาะจงและแตกต่างกันไป โดยมีเอนไซม์ทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาต่างๆและสะสมไว้ตามส่วนต่างๆในพืช เช่น หัว ราก ใบ เมล็ด และดอก (เยาวมาลย์, 2547)

2.3.1 กระชาย (Finger root)

กระชายมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Boesenbergia rotunda* (L.) Mansf. พบได้ทั่วไปบริเวณเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ อินเดีย ศรีลังกา และตอนใต้ของจีน กระชายมี 3 ชนิด คือ กระชายดำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กระชายแดง กระชายเหลือง กระชายเป็นไม้ล้มลุกสูงประมาณ 15-40 เซนติเมตร ใบกว้าง สีเขียวอ่อน ขอบใบสีแดง รูปไข่ กว้างประมาณ 7-9 เซนติเมตร ช่อดอกแทรกอยู่ระหว่างกาบใบที่โคนต้น กลีบดอกสีขาวหรือชมพูอ่อน มีเหง้าใต้ดินรูปร่างรียาว 5-10 เซนติเมตร รูปร่างคล้ายนิ้วมือ กระชายเหลืองจะมีเหง้าสีเหลืองอ่อน (รูปที่ 2.2) ส่วนกระชายดำจะมีเหง้าสีดำและกระชายแดงจะมีเหง้าสีแดง กระชายมักใช้เป็นส่วนประกอบของอาหารเอเชียประเภทแกงและซุป โดยให้มีกลิ่นและรสเฉพาะตัว ส่วนในเหง้ากระชายจะมีน้ำมันหอมระเหยและมีสารสำคัญหลายชนิด ซึ่งจะมีสรรพคุณทางยาสมุนไพร ได้แก่สาร Camphene, Thujene, Pinostrobin (5,7-dimethoxy flavone), Cardamonin และ การบูร กระชายนิยมใช้เป็นยาแผนโบราณเพื่อรักษาโรค เช่น โรคไขข้อ ปวดกล้ามเนื้อ โรคเกาต์ ความผิดปกติของระบบทางเดินอาหาร ลดอาการผื่นคัน ใช้เป็นสารต้านเชื้อราเพื่อรักษาโรคผิวหนัง อักเสบที่เกิดจากเชื้อรา บรรเทาอาการปวดท้อง ท้องเสีย โรคบิด อาหารไม่ย่อยและแผลในกระเพาะอาหาร บรรเทาอาการไอแห้ง ลดอาการบวมโรคเหงือกและฟัน จากสรรพคุณมากมายเหล่านี้กระชายจึงถูกเรียกว่าเป็น โสมไทย (Thai ginseng) (Chuakul และ Boonpleng, 2003)

รูปที่ 2.2 ลักษณะของกระชายอบแห้ง

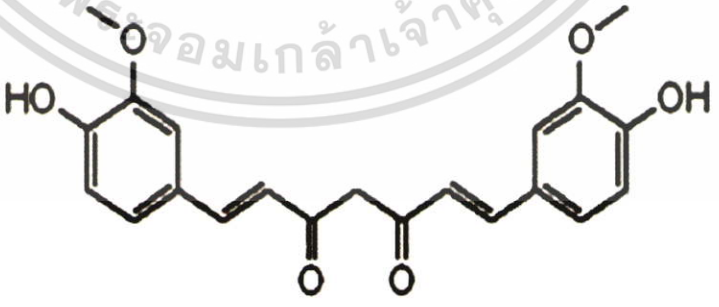
2.3.2 ขมิ้นชัน (Turmeric)

ขมิ้นชันมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Curcuma longa* Linn. เป็นไม้ล้มลุก มีอายุหลายปี สูงประมาณ 20-80 เซนติเมตร เหง้าใต้ดินรูปไข่ เนื้อในเหง้าสีเหลืองส้มถึงสีแสดจัด (รูปที่ 2.3) มีกลิ่นหอมเฉพาะตัว รสชาติฝาดอมหวาน ใบเดี่ยว กลางใบสีแดงเข้ม มีความกว้างประมาณ 10-20 เซนติเมตร ก้านใบยาวประมาณ 35-50 เซนติเมตร เรียงซ้อนกันจนคล้ายกับลำต้น ดอกช่อแทงออกจากเหง้า แทรกขึ้นมาระหว่างก้านใบ รูปทรงกระบอก กลีบดอกสีขาวอมเหลือง สารสำคัญที่พบ ในรากและเหง้ามีน้ำมันหอมระเหย ได้แก่ Tumerone, zingerene, bissboline, zingiberence, (+) - sabinene, alpha-phellandrene, curcumone และ สารประกอบเคอร์คูมิน (curcumin)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(รูปที่ 2.4) ที่มีสมบัติเป็นสาร Antioxidant สรรพคุณใช้เป็นยา คือแก้ท้องอืด ท้องร่วง โรคกระเพาะอาหาร ขมิ้นชันมีฤทธิ์ในการขับลม ผลจากน้ำมันหอมระเหยมีฤทธิ์ในการต้านการเกิดแผลในกระเพาะอาหาร บรรเทาอาการปวดท้อง ท้องอืด แน่นจุดเสียดโดยกระตุ้นการหลั่ง mucin มาเคลือบกระเพาะอาหาร และยับยั้งการหลั่งน้ำย่อยชนิดต่าง ๆ มีฤทธิ์ในการลดการอักเสบ (Cousin และคณะ, 2006)

รูปที่ 2.3 ลักษณะของขมิ้นชันอบแห้ง



รูปที่ 2.4 สูตรโครงสร้างสาร Curcumin (Xie และ Preast, 2011)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.3 หัวแห้วหมู (Nut grass)

หัวแห้วหมูมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Cyperus rotundus* Linn. หรือ ต้นหญ้าแห้วหมู เป็นพรรณไม้ล้มลุก จัดอยู่ในจำพวกหญ้า มีลำต้นอยู่ใต้ดิน ลักษณะเป็นหัวกลม สั้น มีตาจำนวนมาก ด้านนอกมีสีดำ (รูปที่ 2.5) ข้างในมีสีขาวอมแดงมีกลิ่นเฉพาะ เส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 3-6 มิลลิเมตร ลำต้นเป็นดิน มีขนาดเล็กเรียวเป็นเหลี่ยม มีความสูงประมาณ 4-10 นิ้ว มีสีเขียวแก่ เจริญเติบโตได้ดีในดินเกือบทุกชนิด ขยายพันธุ์ด้วยวิธีการเพาะเมล็ดหรือการใช้หัวหรือไหลใต้ดิน เป็นพรรณไม้ที่มักเกิดขึ้นเองโดยธรรมชาติ มีถิ่นกำเนิดในประเทศอินเดีย แต่ปัจจุบันพบได้ในประเทศเขตร้อนทั่วไป ในประเทศแถบเอเชียใช้หัวแห้วหมูเป็นยาสมุนไพรพื้นบ้าน ในการรักษาความผิดปกติของกระเพาะอาหารและลำไส้ แก้อาการปวดท้องและท้องร่วง ลดอาการแก้ปวด ลดไข้ รักษาอาการปวดประจำเดือน ใช้รักษาแผลเรื้อรัง ได้รับรายงานเกี่ยวกับกิจกรรมทางเภสัชวิทยาและทางชีววิทยา ว่าสามารถยับยั้งเชื้อ *Candida* sp. และเชื้อแบคทีเรีย ต้านการอักเสบ ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน การศึกษาองค์ประกอบเคมีพบว่าหัวแห้วหมูมีสารประกอบในกลุ่ม Alkaloids, Flavonoids, Tannins และ Glycosides (Puratuchikody และคณะ, 2006)

รูปที่ 2.5 ลักษณะของหัวแห้วหมูอบแห้ง

2.3.4 สบู่เลือด (Bellyache bush)

สบู่เลือดมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Jatropha gossypifolia* จัดเป็นไม้ล้มลุกหรือไม้พุ่ม มีหัวขนาดใหญ่อยู่ใต้ดิน ลักษณะกลมแป้น เปลือกของหัวมีสีน้ำตาล ส่วนเนื้อในหัวมีสีขาวอมเหลือง (รูปที่ 2.6) มีรสชาติมันและเฝื่อนเล็กน้อย โดยลำต้นจะแทงขึ้นจากหัวโค้งงอลงสู่พื้นดิน เป็นไม้กึ่งเลื้อยทอดยาวได้ประมาณ 3-5 เมตร มียางสีแดงจึงเรียก สบู่เลือด พบได้ทั่วไปในประเทศเขตร้อนชื้น มักใช้เป็นยาแผน

เอกสารนี้มีลิขสิทธิ์ ห้ามทำซ้ำ ดัดแปลง เผยแพร่ หรือนำไปใช้ในการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โบราณ ทั้งในส่วนใบ ลำต้น ราก เมล็ดและหัว โดยใช้ยาลดความดันโลหิต ต้านการอักเสบ บรรเทาอาการปวด ลดไข้ มีฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ รักษาโรคหลอดเลือดหัวใจตีบ อีกทั้งใช้เป็นยาฆ่าแมลงได้อีกด้วย สารที่พบในสบู่เลือด ได้แก่ สารกลุ่ม Alkaloids, Coumarins, Flavonoids, Lignoids, Phenols, Saponins, Steroids, Tannins และ Terpenoids (Zhang และคณะ, 2009)

รูปที่ 2.6 ลักษณะของสบู่เลือดอบแห้ง

2.3.5 ว่านอัคคีทวาร (Bharangi)

ว่านอัคคีทวารมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Clerodendrum serratum* Moon var. *wallichii* Clarke จัดเป็นไม้พุ่มขนาดเล็ก ลำต้นตั้งตรงและจะแยกเป็นช่อ ๆ มีความสูงของต้นประมาณ 1-4 เมตร พบได้ในประเทศปากีสถาน อินเดีย พม่า จีน มาเลเซีย อินโดนีเซีย และไทย ในประเทศไทยพบขึ้นได้ตามป่าเต็งรังและป่าเบญจพรรณที่เปิดและค่อนข้างชื้น ที่ระดับความสูงจากระดับน้ำทะเลประมาณ 500-1,000 เมตร ลำต้นกลมหรือเป็นเหลี่ยมเล็กน้อย เปลือกลำต้นเรียบเป็นสีน้ำตาลอ่อนหรือสีเทาเข้ม ตามกิ่งอ่อนและยอดอ่อนเป็นเหลี่ยม เปลือกมีรูสีขาวและมีขนปกคลุม เปลือกของรากมีสีน้ำตาลอ่อน (รูปที่ 2.7) นิยมใช้ในส่วน ใบ ลำต้น และ ราก เป็นยาสมุนไพรพื้นบ้าน มีฤทธิ์ลดการอักเสบในกระเพาะอาหารและทางเดินอาหาร ช่วยขับลม ลดอาการจุกเสียด คลื่นไส้ บรรเทาอาการไอหอบหืด หลอดลมและโพรงจมูกอักเสบ ใช้รักษาโรคผิวหนังอักเสบ โรคเรื้อน และลดอาการปวดศีรษะได้อีกด้วย สารที่พบในว่านอัคคีทวาร ได้แก่ สารในกลุ่ม Flavonoids, Glycosides, Saponins, sterols และ Alkaloids (Gupta และคณะ, 2008)

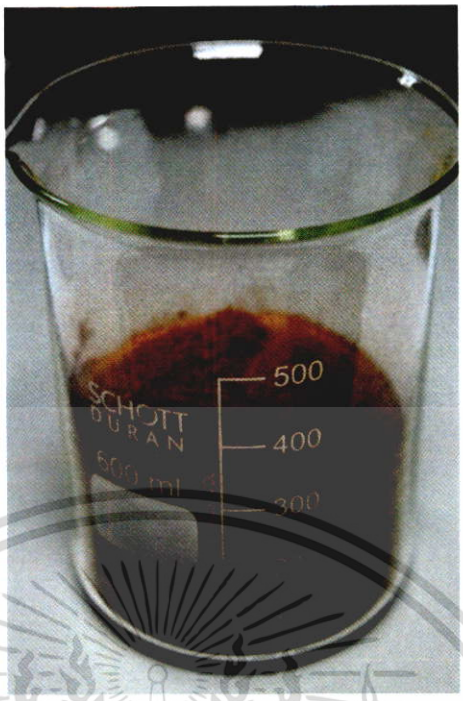
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 2.7 ลักษณะของว่านอัคคีทวารอบแห้ง

2.3.6 เปลือกมังคุด (Mangosteen peel)

มังคุดมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Garcinia mangostana* มังคุดเป็นไม้ยืนต้น สูง 10-12 เมตร ทุกส่วนมียางสีเหลือง ใบเดี่ยว เรียงตรงข้าม รูปไข่หรือรูปวงรีแกมขอบขนาน กว้าง 6-11 ซม. ยาว 15-25 ซม. เนื้อใบหนาและค่อนข้างเหนียวคล้ายหนัง หลังใบสีเขียวเข้มเป็นมัน ท้องใบสีอ่อนกว่า ดอกเดี่ยวหรือเป็นคู่ ออกที่ซอกใบใกล้ปลายกิ่ง สมบูรณ์เพศหรือแยกเพศ กลีบเลี้ยงสีเขียวอมเหลืองติดอยู่จนเป็นผล กลีบดอกสีแดง ฉ่ำน้ำ ผลเป็นผลสด ค่อนข้างกลม เปลือกนอกค่อนข้างแข็ง แก่เต็มที่มีสีม่วงแดง ยางสีเหลือง เมื่อออบแห้งจะได้ผงสีน้ำตาล (รูปที่ 2.8) มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 4-6 เซนติเมตร เนื้อในมีสีขาวฉ่ำน้ำ อาจมีเมล็ดอยู่ในเนื้อผลได้ ขึ้นอยู่กับขนาดและอายุของผล จำนวนกลีบของเนื้อจะเท่ากับจำนวนกลีบดอกที่อยู่ด้านล่างของเปลือก เส้นผ่านศูนย์กลาง 3-5 เซนติเมตร เปลือกของมังคุดมีสารให้รสฝาด คือแทนนิน (Tannin) มีฤทธิ์ฝาดสมานทำให้แผลหายเร็ว โดยเฉพาะแมงโกสติน (Mangostin) ซึ่งเป็นสารในกลุ่มของแซนโทน มีฤทธิ์ช่วยลดอาการอักเสบและมีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียที่ทำให้เกิดหนองได้ดี ในทางยาสมุนไพร ใช้เปลือกมังคุดตากแห้งต้มกับน้ำหรือย่างไฟ ฝนกับน้ำปูนใส แก้ท้องเสีย เปลือกแห้งฝนกับน้ำปูนใส ใช้รักษาอาการน้ำกัดเท้า แผลเปื่อย เปลือกมังคุด มีสารป้องกันเชื้อราเหมาะแก่การหมักปุ๋ย และนิยมนำมาใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง (Samuel และคณะ, 2010)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.8 ลักษณะของเปลือกมังคุดบดผง

2.3.7 เมล็ดมะรุม (Drumstick seed)

มะรุมมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Moringa Oleifera Lam.* จัดเป็นพืชผักพื้นบ้านของไทย มีประโยชน์ทั้งทางด้านอาหาร ยาและอุตสาหกรรมต่างๆ เป็นไม้ยืนต้น ทนแล้ง พบได้ทั่วไปในประเทศเขตร้อน ต้นมีความสูงประมาณ 5 เมตร ใบเป็นใบประกอบ ชนิดที่แตกใบย่อย 3 ชั้น ยาว 15 - 30 เซนติเมตร ออกเรียงแบบสลับ มีใบย่อยรูปไข่ ปลายใบและฐานใบมน ผิวใบด้านล่างสีอ่อนกว่าและมีขนเล็กน้อยขณะที่ใบยังอ่อน ใบมีรสหวานมัน ออกดอกในฤดูหนาว บางพันธุ์ออกดอกหลายครั้งในรอบปี ดอกเป็นดอกช่อ สีขาว ดอกมีรสขม หวาน มันเล็กน้อย ผลเป็นฝักยาว เปลือกสีเขียวมีส่วนคอดและส่วนมน ตามยาวของฝัก ฝักยาว 15 - 40 เซนติเมตร ฝักมีรสชาติหวาน เมล็ดเป็นรูปสามเหลี่ยม มีปีกบางหุ้ม 3 ปีก เส้นผ่าศูนย์กลางของเมล็ดประมาณ 1 เซนติเมตร (รูปที่ 2.9) มะรุมมีสาร ฟลาโวนอยด์ที่สำคัญ คือ Rutin, Quercetin, Lutein และ Caffeoylquinic acids ซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ บำรุงอวัยวะส่วนต่างๆ ได้แก่ จอประสาทตา ตับ และหลอดเลือด อีกทั้งมีสาร Benzilthiocyanate coenzyme ที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ และสาร Niazimicin จากมะรุมสามารถต้านการเกิดมะเร็งได้ (Pietta, 2000)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 2.9 ลักษณะของเมล็ดมะรุมอบแห้ง

2.3.8 ไพล (Cassumunar ginger)

ไพลมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Zingiber cassumunar* Roxb. ไม้ล้มลุกสูง 0.7-1.5 เมตร มีเหง้าใต้ดิน เปลือกสีน้ำตาลแกมเหลือง เนื้อในสีเหลืองถึงเหลืองแกมเขียว (รูปที่ 2.10) หน่อหรือลำต้นเทียมจะแทงขึ้นเป็นกอ ซึ่งประกอบด้วยกาบหรือโคนใบหุ้มซ้อนกัน ใบเดี่ยว เรียงสลับ รูปขอบขนานแกมใบหอก กว้าง 3.5-5.5 เซนติเมตร ยาว 18-35 เซนติเมตร ดอกช่อ แทงจากเหง้าใต้ดิน กลีบดอกสีนวลใบประดับสีม่วง ผลเป็นผลแห้งรูปกลม เหง้ามีเปลือกนอกสีน้ำตาลแกมเหลือง เนื้อในสีเหลืองแกมเขียว เหง้าสดฉ่ำน้ำ รสฝาด ขื่น เอียน ร้อนซ่า มีกลิ่นเฉพาะ เหง้าไพลแก่สด และแห้ง มีรสเผ็ดเล็กน้อย น้ำมันระเหยง่าย สาระสำคัญที่พบได้ในไพล คือ สารเคอร์คูมิน (curcumin) สาร β-Sitosterol สาร Veratrole และสาร 3,4-Dimethylphenyl จากไพลมีฤทธิ์แก้ปวดและฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย สารสกัดด้วยไดคลอโรมีเทนแสดงฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* และ *Pseudomonas aeruginosa* แต่สารสกัดด้วยเมทานอลไม่แสดงฤทธิ์ นอกจากนี้สาร Terpinene-4-ol และ Sabinene มีฤทธิ์เชื้อราบนผิวหนังบางชนิดได้ เช่น *Epidermophyton floccosum*, *Microsporum gypseum*, *Trichophyton mentagrophytes* และ *Trichophyton rubrum* (Theilade , 1999)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 2.10 ลักษณะของไพลอบแห้ง

2.4 สารประกอบที่พบในพืชสมุนไพร

พืชสมุนไพรเป็นสิ่งที่พบได้ตามธรรมชาติที่เป็นพืชประจำถิ่นในแหล่งต่างๆ หรือจากการเพาะปลูก สมุนไพรชนิดเดียวกันที่มาจากต่างแหล่งอาจพบแตกต่างกันทั้งลักษณะภายนอกและสารประกอบในพืช ทั้งนี้เป็นผลมาจากอิทธิพลของดินฟ้าอากาศ สิ่งแวดล้อม การบำรุงรักษา และวิธีการเก็บเกี่ยว ปัจจัยต่างๆเหล่านี้มีผลต่อการสร้างสารประกอบในพืช สารประกอบในพืชแบ่งออกเป็นสองกลุ่มใหญ่ คือ สารปฐมภูมิ (primary metabolite) เป็นสารที่มีอยู่ในพืชชั้นสูง โดยทั่วไปพบ ในพืชทุกชนิดได้จากกระบวนการสังเคราะห์แสง สารปฐมภูมิที่พบ ได้แก่ คาร์โบไฮเดรต ไขมัน โปรตีน เม็ดสี (pigment) และเกลืออินทรีย์ (organic salt) เป็นต้น และสารทุติยภูมิ (secondary metabolite) เป็นสารที่พืชสร้างขึ้นจากสารปฐมภูมิ มักพบต่างกันในพืชแต่ละชนิด การสร้างสารทุติยภูมิมีความสัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อมซึ่งเกี่ยวข้องกับการอยู่รอดของพืช (สถาบันวิจัยสมุนไพร, 2554)

สารทุติยภูมิที่มีสรรพคุณทางยา มีกลุ่มสำคัญได้แก่

2.4.1 กลุ่ม Alkaloids

เป็นสารที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบอยู่ใน Heterocyclic ring พบประมาณร้อยละ 20 ของพืชลำเลียง Alkaloids อยู่ในส่วนต่างๆของพืช เช่น ใบ ดอก ผล ราก เปลือกต้น เปลือกราก สารในกลุ่ม Alkaloids ได้แก่ Aspartic acid, Lysine, Tyrosine และ Tryptophan สารที่นำมาใช้ประโยชน์ทางยา เช่น Pyrrolizidine alkaloids (PAs) มีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์และป้องกันไวรัสบางสายพันธุ์ (Pearce และคณะ, 1991)

2.4.2 กลุ่ม Glycosides

เป็นสารประกอบอินทรีย์กลุ่มสำคัญที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบ ถูกนำมาใช้ประโยชน์ทางยาอย่างกว้างขวาง เช่น ยาฆ่าแมลง ยาระบาย ยาลดการอักเสบ เช่น Cardiac Glycosides มีฤทธิ์ต่อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ระบบหัวใจและหลอดเลือด พบได้ในอัลมอนด์ เชอรี่ และพีช Anthraquinone Glycosides สามารถใช้เป็นยาระบายและเป็นสารต้านเชื้อรา (Ballhorn และคณะ, 2009)

2.4.3 กลุ่ม Tannins

เป็นกลุ่มสารที่พบได้ทั่วไปในพืชแต่ละชนิด มีโมเลกุลใหญ่สลับซับซ้อน มีรสขมและฝาด มีฤทธิ์เป็นกรดอ่อน แยกให้บริสุทธิ์ได้ยากเพราะไม่ตกผลึก แบ่งออกเป็น 2 ชนิด คือ Condensed tannins พบในส่วนของพืชที่ลักษณะเนื้อแข็ง เช่น เปลือกลำต้น เปลือกราก และ Hydrolysable tannins พบในส่วนของพืชที่ลักษณะเนื้ออ่อน เช่น ใบ ก้าน และเมล็ด Tanninsส่วนมากมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ รักษาโรคท้องเสียและโรคกระเพาะอาหารได้ (Strack, 1997)

2.4.4 น้ำมันหอมระเหย (Volatile oil หรือ Essential oil)

พบได้ในส่วนต่างๆของเนื้อเยื่อพืช เช่น ดอก ใบ ผล หัว และราก น้ำมันหอมระเหยส่วนใหญ่ใช้เป็นสารให้กลิ่นในอุตสาหกรรมอาหาร เครื่องสำอางและยา ใช้เป็นยาปฏิชีวนะเนื่องจากมีฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์โดยสามารถยับยั้งได้ทั้งเชื้อแบคทีเรียและเชื้อรา (Salamci และคณะ, 2007)

2.4.5 กลุ่ม Steroids

เป็นกลุ่มของคอเลสเตอรอลที่ได้จาก Lipophilic มีสูตรโครงสร้าง มวลโมเลกุลต่ำ สารในกลุ่มนี้มักใช้เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ยาต้านการอักเสบ พบในพืชในรูปของ Steroids alcohols เช่น β-Sitosterol มีฤทธิ์ลดคอเลสเตอรอล นอกจากนี้สารกลุ่ม Steroids ใช้เป็นส่วนผสมในยาหลายชนิด สามารถยับยั้งการทำงานของฮอร์โมน ยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็ง และลดอาการหอบหืดได้ (Thao และคณะ, 2015)

2.4.6 กลุ่ม Terpenoids

เป็นกลุ่มสารธรรมชาติที่พบมากที่สุดในพืช โครงสร้างโมเลกุลมีหลากหลายแบบตั้งแต่คาร์บอน 5 อะตอม คือ Isoprene (C_5) เป็นสารที่ให้กลิ่นรส เช่น Menthol, Linalool, Geraniol และ Caryophyllene คาร์บอน 10 อะตอม คือ Monoterpenes (C_{10}) ประกอบไปด้วย Isoprene สองโมเลกุลต่อกัน และคาร์บอน 15 อะตอม คือ Sesquiterpenes (C_{15}) มี Isoprene สามโมเลกุลต่อกัน นอกจากนี้ยังมีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพอื่น ๆ เช่น Diterpenes (C_{20}), Triterpenes (C_{30}) และ Tetraterpenes (C_{40}) (Mahmoud และคณะ, 2002)

2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ปัจจุบันมีการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับสารสกัดจากพืชสมุนไพรไทยมากมาย เพื่อใช้ทดแทนการใช้สารเคมีหรือยาปฏิชีวนะที่มีความเป็นพิษกับร่างกายผู้บริโภคซึ่งอาจสะสมทำให้กลายเป็นสารก่อมะเร็งได้และลดเป็นการสะสมสิ่งตกค้างในสิ่งแวดล้อม (ทัศนีย์และจิตรา, 2559)

จาณียา และคณะ (2555) ได้การศึกษาผลของสารสกัดสมุนไพรพื้นบ้านในการรักษาโรคที่เกิดจากเชื้อราในยางพารา พบว่าสารสกัดจากขมิ้น กระชาย ดองดึง หนอนตายหยาก และประคำดีควาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สามารถยับยั้งเชื้อ *Phytophthora palmivora* Butl. บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ผสมสารสกัดที่ความเข้มข้น 10,000 พีพีเอ็ม ได้ร้อยละ 58 85, 14, 28 และ 53 ตามลำดับ และที่ความเข้มข้น 20,000 พีพีเอ็ม สามารถยับยั้งได้ร้อยละ 63, 95, 15 39และ60 ตามลำดับ

Amini และคณะ (2016) ได้ศึกษาการควบคุมเชื้อรา *Phytophthora* spp. โดยใช้น้ำมันหอมระเหยที่ได้จาก *Cymbopogon citratus* และ *Ocimum basilicum* และใช้สารกำจัดเชื้อรา 2 ชนิด คือ Mancozeb และ Metalaxyl-Mancozeb ในระดับความเข้มข้น 6 ระดับ โดยทดสอบกับ *Phytophthora* spp. 3 สายพันธุ์คือ *P. capsici P. drechsleri* และ *P. melonis* พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยได้ร้อยละ 31.473, 33.097 และ 69.112 ตามลำดับ

รัตติยา (2535) ได้ศึกษาประสิทธิภาพของสารเคมี eridiazole, fosetyl-Al และ phosphonic acid ในการควบคุมโรคผลเน่าของทุเรียนหมอนทอง ที่เกิดจากเชื้อรา *Phytophthora palmivora* ซึ่งผ่านการปลูกเชื้อด้วยเส้นใยและบ่มเชื้อเป็นระยะเวลา 21 ชั่วโมง พบว่าการจุ่มผลทุเรียนในสารละลาย fosetyl-Al อัตราความเข้มข้น 4,000 ไมโครกรัมต่อ มิลลิลิตร เป็นระยะเวลา 3 นาที สามารถควบคุมโรคผลเน่าได้ดี และเมื่อระยะเวลาในการบ่มเชื้อลดลงเป็น 14 ชั่วโมง และลดอัตราความเข้มข้นของสารเคมี fosetyl-Al เป็นอัตราความเข้มข้น 2,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยจุ่มผล ทุเรียนเป็นเวลา 1 นาที พบว่าสามารถควบคุมโรคผลเน่าของทุเรียนหมอนทองได้

Ferrin และ Wadsworth (1992) พบว่าเชื้อรา *P. palmivora* 2 ไอโซเลทจาก *Catharathus roseus* ทางตอนใต้ของ California เกิดการต้านทานต่อสารเคมี metalaxyl ทั้งในระดับห้องปฏิบัติการและ ในแปลงปลูกพืช เนื่องมาจากการใช้สารเคมีเพิ่มขึ้นของเกษตรกร

วนิดา (2542) ทำการศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ของน้ำมันหอมระเหย และสาร curcuminoids จากขมิ้นชัน พบว่า สามารถให้ผลยับยั้งเชื้อ *Streptococcus pyogenes* ได้ดี และในน้ำมันหอมระเหยจากขมิ้นชันสามารถยับยั้งแบคทีเรีย ยีสต์ และราได้ โดยส่วนประกอบดังกล่าวน่าจะเป็นส่วนสำคัญในการออกฤทธิ์ต่อเชื้อแบคทีเรีย ซึ่งกลไกการออกฤทธิ์ต่อแบคทีเรียนั้น จะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางโครงสร้างของแบคทีเรีย และสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียได้

วิชัย และ ชัยณรงค์ (2548) ได้ศึกษาผลของพืชสมุนไพร 12 ชนิด ได้แก่ ว่านน้ำ เร่วหอม เทียนกิ่ง กระทือ พลู ขมิ้นชัน กระเทียม มังคุด ทองพันชั่ง ขิง โป๊ยกั๊ก และไพล ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรกโนสของมะม่วงหลังการเก็บเกี่ยว พบว่าที่ความเข้มข้น 15,000 พีพีเอ็ม สารสกัดหยาบจากขมิ้นชันสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ดีเทียบเท่ากับสารกำจัดเชื้อราเบนโนมิล

Wilson และคณะ (2005) ได้ศึกษาการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์จากการสกัดขมิ้น 2 สายพันธุ์ คือ *Curcuma malabarica* และ *Curcuma zedoaria* โดยยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย 6 สายพันธุ์ ได้แก่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Bacillus subtilis NCIM2603, *S. aureus* NCIM2127, *Micrococcus luteus* NCIM2103, *E. coli* NCIM2574, *Proteus mirabilis* NCIM2300 และ *Klebsiella pneumoniae* NCIM2957 และยับยั้งเชื้อรา 2 สายพันธุ์ ได้แก่ *Candida albican* NCIM3102 และ *Aspergillus niger* NCIM596 ทำการสกัดโดยใช้ตัวทำละลาย 5 ชนิด คือ Petroleum ether, Hexane, Chloroform, Acetone และ Ethanol ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากขมิ้นด้วยตัวทำละลาย Acetone และ Hexane สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้ดีกว่าตัวทำละลายอื่น โดยสารสกัดจาก *C. malabarica* และ *C. zedoaria* มีค่า MIC อยู่ในช่วง 0.01 – 0.15 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ0.01 – 0.94 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 เชื้อรา

เชื้อราก่อโรคที่แยกได้จากเปลือกลำต้นทุเรียนที่เป็นแผล และผลทุเรียนที่เป็นโรคจากแปลงทุเรียน อำเภอขลุง จังหวัดจันทบุรี อำเภอบ่อไร่ จังหวัดตราดและจากแปลงเกษตรทดลอง อำเภอปะทิว จังหวัดชุมพร

3.2 สมุนไพร

1. กระชาย (Finger root ; *Boesenbergia rotunda* (L.) Mansf.)
2. ขมิ้นชัน (Turmeric ; *Curcuma longa* Linn.)
3. หัวแห้วหมู (Nut grass ; *Cyperus rotundus* Linn.)
4. สบู่เลือด (Bellyache bush ; *Jatropha gossypifolia*)
5. ว่านอัคคีทวาร (Bharangi ; *Clerodendrum serratum* Moon var. *wallichii* Clarke)
6. เปลือกมังคุด (Mangosteen peel ; *Garcinia mangostana*)
7. เมล็ดมะรุม (Drumstick seed ; *Moringa Oleifera* Lam.)
8. ไพล (Cassumunar ginger ; *Zingiber cassumunar* Roxb.)

แหล่งที่มาของกระชายและไพล จากตลาดหัวตะเข้ เขตลาดกระบัง กรุงเทพมหานครฯ ขมิ้นชัน หัวแห้วหมู สบู่เลือด ว่านอัคคีทวาร เปลือกมังคุด และเมล็ดมะรุม จากกลุ่มผู้ปลูกและแปรรูปสมุนไพร หมู่บ้าน กม.28 สวนสำราญจิตต์ ตำบลดงขุย อำเภอชนแดน จังหวัดเพชรบูรณ์

3.3 อุปกรณ์ สารเคมีและอาหารเลี้ยงเชื้อ

3.3.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

1. หลอดทดลอง (Test tube) จากบริษัท Pyrex ประเทศสหรัฐอเมริกา
2. บีกเกอร์ (Beaker) จากบริษัท Pyrex ประเทศสหรัฐอเมริกา
3. จานเพาะเชื้อ (Petri-dishs) จากบริษัท Pyrex ประเทศสหรัฐอเมริกา
4. ขวดรูปชมพู่ (Erlenmeryer flask) จากบริษัท Pyrex ประเทศสหรัฐอเมริกา
5. ขวดเตรียมอาหาร (Duran flask) จากบริษัท Duran ประเทศอังกฤษ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6. เข็มเขี่ย (Needle)

7. ผ้าขาวบาง (Gauze)

8. สำลี (Cotton)

9. ตู้ปลอดเชื้อ (Laminar air flow)

10. ปากคีบ (Forceps)

11. ไมโครปิเปตต์ (Micropipette) จากบริษัท Band ประเทศสหรัฐอเมริกา

12. กระบอกตวง (Cylinder) จากบริษัท Pyrex ประเทศสหรัฐอเมริกา

13. กล้องจุลทรรศน์ (Microscope) จากบริษัท Nikon ประเทศญี่ปุ่น

14. เครื่องชั่งสาร (Balance) จากบริษัท Mettler รุ่น ML6002T ประเทศสวิตเซอร์แลนด์

15. หม้อนึ่งความดันไอ (Autoclave) จากบริษัท Hirayama รุ่น HVE-50 ประเทศญี่ปุ่น

16. เวอร์เนียดิจิตอล (Digital vernier caliper) จากบริษัท Hilda ประเทศจีน

17. เครื่องระเหยสุญญากาศ (Rotary evaportor) จากบริษัท Heidolph รุ่น Hei-Vap ประเทศเยอรมัน

18. ตู้บ่มควบคุมอุณหภูมิ (Incubator) จากบริษัท Contherm ประเทศนิวซีแลนด์

19. เครื่องเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม (PCR machine) จากบริษัท Biometra รุ่น TProfassional ประเทศเยอรมัน

20. เครื่องถ่ายภาพเจล (Gel documentation) จากบริษัท Biometra ประเทศเยอรมัน

21. เครื่องแยกขนาดสารพันธุกรรม (Electrophoresis) จากบริษัท Labnet ประเทศสหรัฐอเมริกา

3.3.2 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

1. เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 (Ethanol 95% ; C_2H_6O) จากองค์การสุรา ประเทศไทย
2. กลีเซอรอล (Glycerol ; $C_3H_8O_3$) ยี่ห้อ Scharlau ประเทศอินเดีย
3. เมทาแลกซิล (Metalaxyl) จากบริษัทครอบไซน์ ประเทศไทย
4. แคลเซียมคาร์บอเนต (Calcium carbonate ; $CaCO_3$) ยี่ห้อ Ajax ประเทศออสเตเรีย
5. โซเดียมไฮโปคลอไรท์ (Sodium hypochlorite ; NaClO) ยี่ห้อ Ajax ประเทศออสเตเรีย
6. ไดเมททิลซัลฟอกไซด์ (Dimethyl sulfoxide, DMSO ; C_2H_6OS) ยี่ห้อ Merck ประเทศเยอรมัน
7. ทีอี บัฟเฟอร์ (TE Buffer)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

8. แทค บัฟเฟอร์ (*Taq* buffer) ยี่ห้อ Invitrogen ประเทศสหรัฐอเมริกา

9. ดีเอ็นทีพี (dNTP) ยี่ห้อ Invitrogen ประเทศสหรัฐอเมริกา

10. ไพรเมอร์ (Primer ITS5 / ITS4) ยี่ห้อ Invitrogen ประเทศสหรัฐอเมริกา

11. อะกาโรส เจล (Agarose gel) ยี่ห้อ Invitrogen ประเทศสหรัฐอเมริกา

12. สีย้อม SYBR safe ยี่ห้อ Invitrogen ประเทศสหรัฐอเมริกา

13. น้ำผักผลไม้ V8 (V8 juce) ประเทศสหรัฐอเมริกา

3.3.3 อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการทดลอง

1. Potato Dextrose Agar (PDA) ยี่ห้อ Scharlau ประเทศอินเดีย

2. Water Agar (WA)

3.4 การเก็บตัวอย่างและคัดแยกเชื้อราก่อโรค

เก็บตัวอย่างที่แปลงทุเรียน อำเภอขลุง จังหวัดจันทบุรี อำเภอบ่อไร่ จังหวัดตราดและจากแปลงเกษตรทดลอง อำเภอปะทิว จังหวัดชุมพร โดยทำการเก็บตัวอย่างในส่วนของเปลือกลำต้นที่เป็นแผล (รูปที่ 3.1) และผลทุเรียนที่เป็นโรค (รูปที่ 3.2) จากนั้นนำส่วนของทุเรียนที่เป็นโรคมาคัดแยกเชื้อราก่อโรค โดยใช้วิธีการที่ดัดแปลงจากวิธีของ Tuite (1969) ตัดชิ้นส่วนพืชที่เป็นโรคให้มีขนาด 5 × 5 มิลลิเมตร แช่ในโซเดียมไฮโปคลอไรท์ความเข้มข้นร้อยละ 6 นาน 2 - 4 นาที จากนั้นนำไปล้างในน้ำกลั่นปราศจากเชื้อ 2 ครั้ง ใช้ปากคีบ คีบชิ้นส่วนที่ทำการฟอกฆ่าเชื้อแล้วลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Water Agar (WA) จากนั้นบ่มที่ 25 องศาเซลเซียส นาน 7 วัน หลังจากนั้นใช้เข็มเขี่ย (needle) เขี่ยเส้นใยเชื้อรา วางบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Agar (PDA) บ่มที่ 25 องศาเซลเซียส นาน 7 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 3.1 ตัวอย่างลำต้นทุเรียนที่นำมาคัดแยกเชื้อราก่อโรค

รูปที่ 3.2 ตัวอย่างผลทุเรียนที่นำมาคัดแยกเชื้อราก่อโรค

3.5 การเก็บรักษาเชื้อรา *Phytopthora* spp.

ทำการเก็บรักษาเชื้อราที่แยกได้โดยนำเชื้อราที่แยกได้เลี้ยงลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA บ่มที่ 25 องศาเซลเซียส นาน 7 วัน จากนั้นตัดชิ้นส่วนเชื้อราในบริเวณขอบนอกของโคโลนีใส่ลงในกลีเซอรอล 10 เปอร์เซ็นต์ เก็บในตู้แช่แข็งอุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส (Tolley , 1993)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

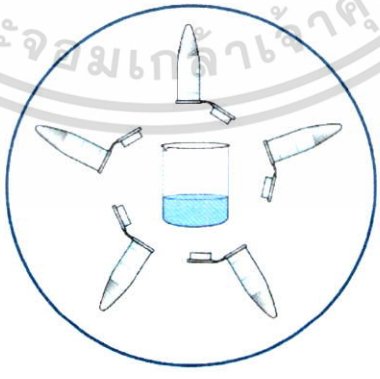
3.6 การจัดจำแนกเชื้อรา *Phytopthora* spp.โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา

เลี้ยงเชื้อราในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA บ่มที่ 25 องศาเซลเซียส นาน 7 วัน เพื่อศึกษาการลักษณะการงอกของเส้นใย ความยาวเส้นใย สี และลักษณะของโคโลนีและเลี้ยงเชื้อราในอาหารเลี้ยงเชื้อ V8 Selective Medium Agar บ่มที่ 25 องศาเซลเซียส นาน 7 วัน เพื่อศึกษาการสร้าง ลักษณะและขนาดของสปอร์แรงเจียม (Sporangium) (Cory และคณะ, 2008)

3.7 การจัดจำแนกเชื้อรา *Phytopthora* spp. โดยใช้ลักษณะทางอณูวิทยา

3.7.1 การสกัดดีเอ็นเอ (DNA Extraction)และการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ

เลี้ยงเชื้อราในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA บ่มที่ 25 องศาเซลเซียส นาน 7 วัน เขี่ยเส้นใยเชื้อราบนผิวอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA บริเวณประมาณ 2 x 2 เซนติเมตร ลงในหลอดปั่นเหวี่ยงขนาด 1.5 มิลลิลิตร นำไปเข้าเตาอบไมโครเวฟพร้อมกับบีกเกอร์ใส่น้ำดังรูปที่ 3.3 เปิดด้วยกำลังไฟ 500 วัตต์ นาน 5 - 7 นาที จากนั้นเติม TE Buffer ปริมาตร 50 ไมโครลิตรและผสมให้เข้ากัน จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 3,000 รอบต่อนาที นาน 3 นาที (Koichiro และคณะ, 2003) นำส่วนใสที่ได้ไปเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ โดยใช้เทคนิค Polymerase Chain Reaction PCR เป็นการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอบริเวณ Internal Transcribed Spacer (ITS) โดยมีปริมาตรทั้งหมด (Reaction Volume) 25 ไมโครลิตร ประกอบด้วย 1x *Taq* buffer (ผสม Mg^{2+}), 0.2 mM dNTP, 0.2 µM Primer (ITS5 : 5'-GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG–3'/ ITS4 : 5'-TCCTCCGCTTATTGATAT GC–3') และ 5 Unit *Taq* DNA polymerase กำหนดอุณหภูมิ Denaturation ที่ 94 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที Annealing ที่ 48 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที และ Extension 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที เป็นจำนวน 35 รอบ และที่ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที (Ishii และคณะ, 2001)



รูปที่ 3.3 การวางหลอดปั่นเหวี่ยงที่มีเส้นใยเชื้อราในเตาอบไมโครเวฟ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.7.2 Gel electrophoresis และ DNA Sequencing

ตรวจหาดีเอ็นเอผลผลิตด้วยเทคนิค Agarose Gel Electrophoresis โดยใช้ Agarose gel ความเข้มข้นร้อยละ 1 ผสมสีย้อม SYBR safe จากนั้นตรวจหาดีเอ็นเอภายใต้แสงอัลตร้าไวโอเลทช่วงความยาวคลื่น 302 นาโนเมตร และตรวจหาลำดับเบสโดยใช้เครื่อง DNA sequencer และทำการวิเคราะห์ลำดับเบสที่ได้ด้วยโปรแกรม Bioedit และเทียบกับในฐานข้อมูลของ GenBank (Tamura และคณะ, 2011)

3.8 การเตรียมสารสกัดสมุนไพร

นำสมุนไพร 8 ชนิด ได้แก่ กระชาย ขมิ้นชัน หัวแห้วหมู สบู่เลือด ว่านอัคคีทวาร เปลือกมังคุด เมล็ดมะรุม และไพล หั่นเป็นชิ้นเล็กๆขนาดประมาณ 2 x 2 เซนติเมตร หนาประมาณ 3 มิลลิเมตร อบแห้งด้วยตู้อบลมร้อน ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซสเซียส จากนั้นบดให้ละเอียด นำผงสมุนไพรแต่ละชนิดมาแช่ในเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ในอัตราส่วนสมุนไพร 1 กรัมต่อปริมาณเอทานอล 10 มิลลิลิตร เป็นระยะเวลา 3 วัน กรองด้วยกระดาษกรอง whatman No.1 นำส่วนใสที่ได้ไปทำแห้งด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศและชั่งน้ำหนักสารสกัดสมุนไพรที่ได้ (Chien และคณะ, 1988)

3.9 การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Phytopthora* sp.

ทำการทดสอบด้วยวิธี Poisoned Food Technique (Pundir และ Jain, 2010) โดยใช้สมุนไพร 8 ชนิด ที่เตรียมไว้ ที่ระดับความเข้มข้นของสารสกัด 5 ระดับ ได้แก่ 5,000, 10,000, 15,000, 20,000 และ 25,000 พีพีเอ็ม

เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ผ่านการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ทิ้งไว้จนอุณหภูมิลดลงอยู่ที่ประมาณ 50 องศาเซลเซียส จึงนำสารสกัดจากสมุนไพรที่ละลายใน DMSO ผ่านการกำจัดเชื้อด้วยการกรองผ่านกระดาษกรอง 0.22 ไมครอน มาผสมในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA จนได้ระดับความเข้มข้นของสารสกัดที่กำหนด จากนั้นเทอาหารเลี้ยงเชื้อลงในจานเพาะเชื้อปริมาตร 20 มิลลิลิตร ทิ้งไว้จนอาหารแข็ง นำเชื้อรา *Phytopthora* spp. ที่เลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA นาน 7 วัน ตัดด้วย Cork Borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3 มิลลิเมตร ที่ผ่านการฆ่าเชื้อ โดยเลือกตัดบริเวณขอบนอกของโคโลนี และนำชิ้นส่วนเชื้อราที่ได้มาวางบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ผสมสารสกัดจากสมุนไพรแต่ละชนิดที่ระดับความเข้มข้นต่างๆที่เตรียมไว้ นำไปบ่มที่ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน จากนั้นทำการตรวจผลการทดสอบโดยการวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีเชื้อราที่เจริญบนอาหาร โดยใช้เวอร์เนียแบบดิจิตอล ซึ่งมีชุดควบคุมเชิงลบเป็นเชื้อรา *Phytopthora* sp. ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ ที่ไม่ผสมสารสกัดจากสมุนไพรและมีชุดควบคุมเชิงบวกเป็นเชื้อรา *Phytopthora* sp. ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ ดัดแปลง เผยแพร่ หรือแสวงหาประโยชน์ทางการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผสมเมทาแลกซิล (Metalaxyl) ที่ความเข้มข้น 3 กรัมต่อลิตร และนำค่าที่ได้มาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อราดังสมการ

$$P = \frac{(A-B)}{A} \times 100$$

เมื่อ P คือ เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อรา

A คือ ค่าเฉลี่ยของเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่ผสมสารสกัดจากสมุนไพร (มิลลิเมตร)

B คือ ค่าเฉลี่ยของเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมสารสกัดจากสมุนไพร (มิลลิเมตร)

3.10 การวิเคราะห์ทางสถิติ

วางแผนการทดลองแบบแบบ 8 x 5 factorial in CRD ทำการทดลอง 3 ซ้ำ โดยปัจจัยแรก คือ ชนิดของสารสกัดจากพืชสมุนไพร 8 ชนิด และปัจจัยที่สอง คือ ระดับความเข้มข้นของสารสกัดสมุนไพร 5 ระดับ วิเคราะห์ข้อมูลโดยหาค่าความแปรปรวน (Analysis of variance, ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยด้วยวิธีของทูกีย์ (Tukey Pairwise Comparison Test) ที่ระดับนัยสำคัญ 5 เปอร์เซ็นต์ ($P \leq 0.05$) (Montgomery, 2001)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

4.1 ผลการเก็บตัวอย่างและคัดแยกเชื้อราก่อโรค

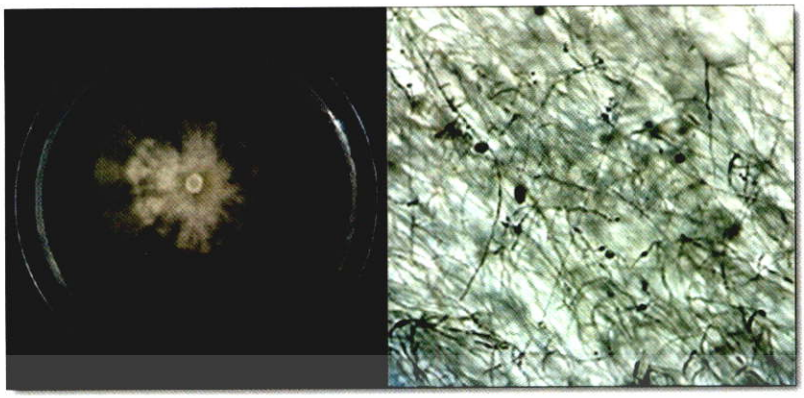
จากเก็บตัวอย่างที่แปลงทุเรียน อำเภอขลุง จังหวัดจันทบุรี โดยทำการเก็บตัวอย่างในส่วนของเปลือกลำต้นที่เป็นแผล 3 ตัวอย่าง และผลทุเรียนที่มีแผลเน่า 2 ตัวอย่าง จากแปลงทุเรียนอำเภอบ่อไร่ จังหวัดตราด ซึ่งเป็นส่วนของเปลือกลำต้นที่เป็นแผล 2 ตัวอย่าง และผลทุเรียนที่มีแผลเน่า 2 ตัวอย่าง โดยให้รหัสตัวอย่างที่แยกได้จากจังหวัดตราดขึ้นต้นด้วยรหัส PD1 และตัวอย่างที่แยกได้จากจังหวัดจันทบุรีให้ขึ้นต้นด้วยรหัส PD2 ดังตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 แหล่งที่มาและประเภทตัวอย่างของต้นทุเรียนที่เกิดโรค

แหล่งที่มา	รหัส	ประเภทชิ้นส่วน	จำนวน (ตัวอย่าง)
อำเภอบ่อไร่ จังหวัดตราด	PD1	ลำต้น	2
		ผล	2
อำเภอขลุง จังหวัดจันทบุรี	PD2	ลำต้น	3
		ผล	2

จากนั้นทำการคัดแยกเชื้อราก่อโรคจากตัวอย่างทั้ง 9 ตัวอย่างโดยใช้วิธีการที่ดัดแปลงจากวิธีของ Tuite (1969) นั้น ผลปรากฏว่าสามารถคัดแยกเชื้อราก่อโรคได้จำนวน 8 ไอโซเลท ดังตารางที่ 4.2 และได้รับความอนุเคราะห์เชื้อราก่อโรคจำนวน 3 ไอโซเลท จากภาควิชาพืชสวน สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง วิทยาเขตชุมพรเขตรอุดมศักดิ์ จังหวัดชุมพร ซึ่งเป็นเชื้อราก่อโรคที่เข้าทำลายต้นทุเรียนในแปลงเกษตรทดลองของสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระลาดกระบัง วิทยาเขตชุมพรเขตรอุดมศักดิ์ อำเภอปะทิว จังหวัดชุมพร รวมเป็นเชื้อราก่อโรคจำนวน 11 ไอโซเลท

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

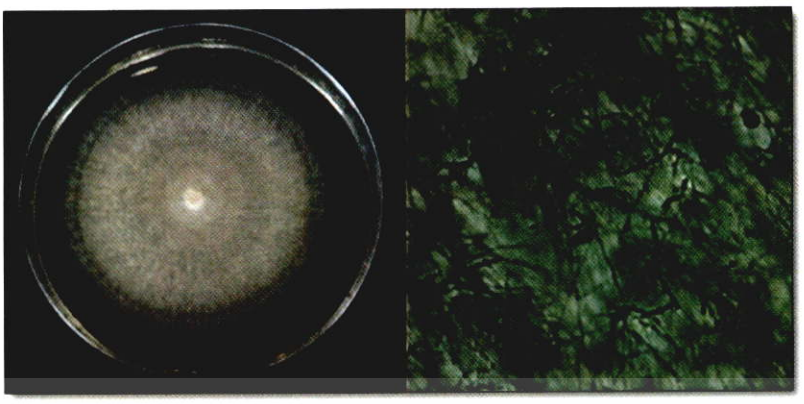


รูปที่ 4.1 ลักษณะโคโลนีของเชื้อรา *Phytopthora* sp. ไอโซเลท PD2-2 (ซ้าย) และลักษณะเส้นใยของเชื้อรา *Phytopthora* sp. ไอโซเลท PD2-2 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 100 เท่า (ขวา)

รูปที่ 4.2 การสร้าง Chlamydospore ของเชื้อรา *Phytopthora* sp. ไอโซเลท PD2-2 (ซ้าย) และลักษณะ Sporangium ของเชื้อรา *Phytopthora* sp. ไอโซเลท PD2-2 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 400 เท่า (ขวา)

Phytopthora sp. ไอโซเลท PD2-4 ที่แยกได้จากตัวอย่างผลทุเรียน อำเภอขลุง จังหวัดจันทบุรี ที่เลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA มีลักษณะโคโลนีกลม เส้นใยสีขาว ไม่มีผนังกั้น ขนาดประมาณ 2.5-4 ไมโครเมตร ผนังเรียบ ดังรูปที่ 4.3 และเมื่อเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ V8 Selective Medium Agar พบว่ามีการสร้างอวัยวะสืบพันธุ์คือ sporangium และ chlamydospore ซึ่งบริเวณปลายเส้นใยสร้าง chlamydospore รูปร่างกลมขนาด 25 - 42 ไมโครเมตร ผนังเรียบ มี sporangium รูปร่าง แบบ elongate elliptical ขนาดประมาณ 52 x 32 ไมโครเมตร สัดส่วนความยาวต่อความกว้างของ sporangium เป็น 1.6 : 1 ดังรูปที่ 4.4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



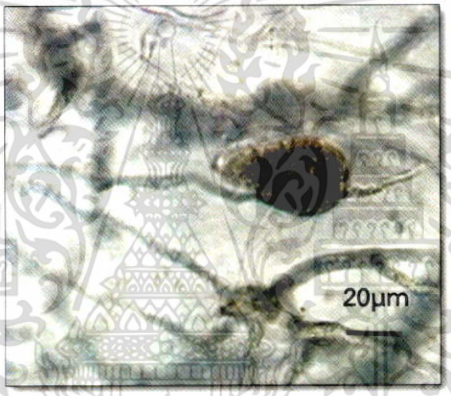
รูปที่ 4.3 ลักษณะโคโลนีของเชื้อรา *Phytopthora* sp. ไอโซเลท PD2-4 (ซ้าย) และลักษณะเส้นใยของเชื้อรา *Phytopthora* sp. ไอโซเลท PD2-4 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 100 เท่า (ขวา)

รูปที่ 4.4 การสร้างChlamydospore ของเชื้อรา *Phytopthora* sp. ไอโซเลท PD2-4 (ซ้าย) และลักษณะ Sporangium ของเชื้อรา *Phytopthora* sp. ไอโซเลท PD2-4 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 400 เท่า (ขวา)

Phytopthora sp. ไอโซเลท PD2-16 ที่แยกได้จากบริเวณลำต้นที่เป็นแผลของต้นทุเรียน อำเภอขลุง จังหวัดจันทบุรี ที่เลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA มีลักษณะโคโลนีกลม เส้นใยสีขาวไม่มีผนังกั้นขนาดประมาณ 3-5 ไมโครเมตร ผนังเรียบ ดังรูปที่ 4.5 และเมื่อเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ V8 Selective Medium Agar พบว่ามีการสร้างอวัยวะสืบพันธุ์คือ sporangium รูปร่าง แบบ elongate elliptical ขนาดประมาณ 35 x 20 ไมโครเมตร สัดส่วนความยาวต่อความกว้างของ sporangium เป็น 1.75 : 1 ดังรูปที่ 4.6

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 4.5 ลักษณะโคโลนีของเชื้อรา *Phytopthora* sp. ไอโซเลท PD2-16 (ซ้าย) และลักษณะเส้นใยของเชื้อรา *Phytopthora* sp. ไอโซเลท PD2-16 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 100 เท่า (ขวา)

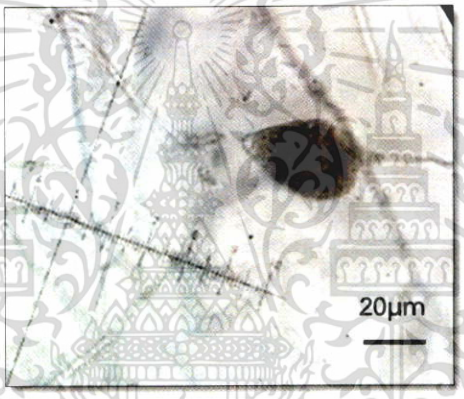


รูปที่ 4.6 ลักษณะ Sporangium ของเชื้อรา *Phytopthora* sp. ไอโซเลท PD2-16 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 400 เท่า

Phytopthora sp. ไอโซเลท DF008 ที่แยกได้จากตัวอย่างผลทุเรียน อำเภอปะทิว จังหวัดชุมพร ที่เลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA มีลักษณะโคโลนีกลม เส้นใยสีขาว ไม่มีผนังกั้น ขนาดประมาณ 3.5-5 ไมโครเมตร ผนังเรียบ ดังรูปที่ 4.7 และเมื่อเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ V8 Selective Medium Agar พบว่ามีการสร้างอวัยวะสืบพันธุ์คือ sporangium รูปร่าง แบบ elongate elliptical ขนาดประมาณ 50 x 30 ไมโครเมตร สัดส่วนความ ยาวต่อความกว้างของ sporangium เป็น 1.8: 1 ดังรูปที่ 4.8

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

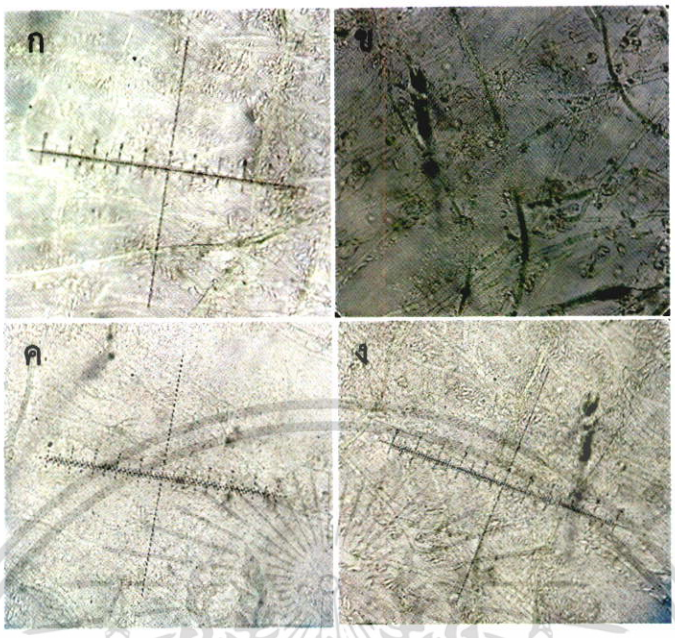
รูปที่ 4.7 ลักษณะโคโลนีของเชื้อรา *Phytopthora* sp. ไอโซเลท DF008 (ซ้าย) และลักษณะเส้นใยของเชื้อรา *Phytopthora* sp. ไอโซเลท DF008 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 100 เท่า(ขวา)



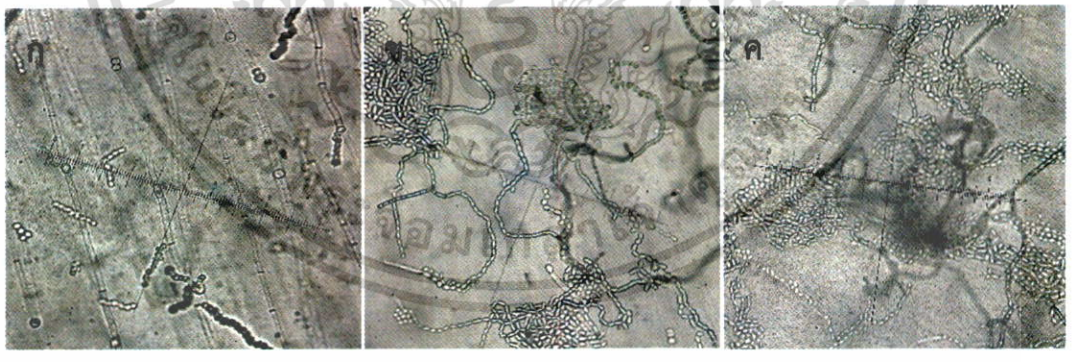
รูปที่ 4.8 ลักษณะ Sporangium ของเชื้อรา *Phytopthora* sp. ไอโซเลท DF008 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 400 เท่า

นอกจากนี้มีเชื้อราก่อโรคอีก 7 ไอโซเลท ที่ไม่มีการสร้าง Sporangium โดยแบ่งออกเป็น 2 ลักษณะ ลักษณะแรกมีเส้นใยสีขาว มีผนังกั้น มีการสร้างโคนิเดีย (conidia) บนกลุ่มเส้นใย แบบมาโครโคนิเดีย (macroconidia) รูปร่างยาวรี มี 4 ไอโซเลท ได้แก่ DS115, PD1-8, PD2-1 และ PD2-6 ดังรูปที่ 4.9 สำหรับลักษณะที่ 2 เส้นใยสีขาว เป็นท่อนสั้นต่อกันเป็นเส้นยาว มี 3 ไอโซเลท ได้แก่ P1, PD1-5 และ PD1-11 ดังรูปที่ 4.10

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.9 ลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อรา ไอโซเลท DS115(ก), PD1-8(ข), PD2-1(ค) และ PD2-6(ง) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 400 เท่า

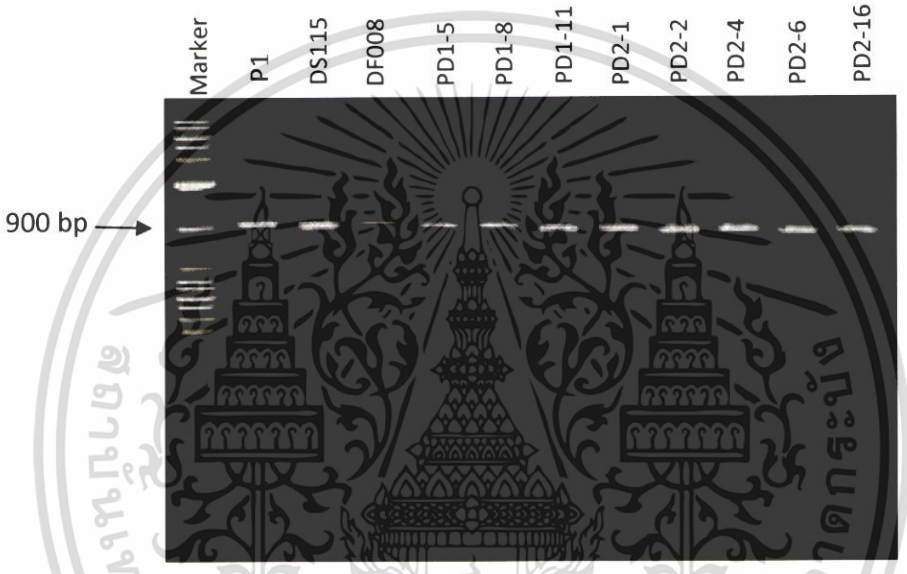


รูปที่ 4.10 ลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อรา ไอโซเลท P1(ก), PD1-5(ข) และ PD1-11(ค) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 400 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 ผลการจัดจำแนกเชื้อราก่อโรคโดยใช้ลักษณะทางอณูวิทยา

จากการสกัดดีเอ็นเอและเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ โดยใช้เทคนิค Polymerase Chain Reaction (PCR) การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอบริเวณ Internal Transcribed Spacer (ITS) โดยใช้ไพรเมอร์ ITS4 และ ITS5 จากนั้นตรวจหาดีเอ็นเอผลผลิตด้วยเทคนิค Agarose Gel Electrophoresis โดยใช้ Agarose gel ความเข้มข้นร้อยละ 1 ผสมสีย้อม SYBR safe จากนั้นตรวจหาดีเอ็นเอภายใต้แสงอัลตร้าไวโอเลทช่วงความยาวคลื่น 302 นาโนเมตร โดยเทียบลำดับช่วงดีเอ็นเอที่ได้กับเครื่องหมายดีเอ็นเอ (DNA Marker) พบว่าขนาดของ ITS ที่มีขนาดประมาณ 900 คู่เบส ดังรูปที่ 4.9



รูปที่ 4.11 แถบดีเอ็นเอที่แยกบนแผ่น Agarose gel ด้วยเทคนิค Agarose Gel Electrophoresis

การตรวจหาลำดับเบสโดยใช้เครื่อง DNA sequencer โดยส่งไปวิเคราะห์ที่บริษัท First base ประเทศมาเลเซีย และทำการวิเคราะห์ลำดับเบสที่ได้ด้วยโปรแกรม Bioedit และเทียบกับในฐานข้อมูลของ GenBank โดยนำลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้มา BLAST พบว่าเชื้อราก่อโรคที่แยกได้มี 3 สายพันธุ์คือ *Phytophthora plamivola, Galactomycetes candidum* และ *Fusarium solani* เชื้อรา *P. plamivola* ที่แยกได้มี 4 ไอโซเลท คือ ไอโซเลท PD2-2 ไอโซเลท PD2-4 ไอโซเลท PD2-16 และไอโซเลท DF008 ซึ่งไอโซเลท PD2-2 ไอโซเลท PD2-4 และไอโซเลท PD2-16 มีความคล้ายคลึงกับ *P. plamivola* มากที่สุดที่ 100 เปอร์เซ็นต์ และไอโซเลท DF008 มีความคล้ายคลึงกับ *P. plamivola* มากที่สุดที่ 99.87 เปอร์เซ็นต์ ดังตารางที่ 4.3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3 สายพันธุ์ของเชื้อราก่อโรคที่คัดแยกได้

ลำดับ	ไอโซเลท	สายพันธุ์	ร้อยละของความคล้ายคลึง
1.	PD1-5	*G. candidum*	99
2.	PD1-8	*F. solani*	100
3.	PD1-11	*G. candidum*	99
4.	PD2-1	*F. solani*	98
5.	PD2-2	*P. plamivola*	100
6.	PD2-4	*P. plamivola*	100
7.	PD2-6	*F. solani*	100
8.	PD2-16	*P. plamivola*	100
9.	P1	*G. candidum*	100
10.	DS115	*F. solani*	99
11.	DF008	*P. plamivola*	99

4.4 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Phytopthora* spp.

จากผลการจัดจำแนกเชื้อราในข้อ 4.3 ได้คัดเลือกเฉพาะเชื้อรา *Phytopthora* 4 ไอโซเลท มาศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากสมุนไพรที่สกัดด้วยเอทานอล 8 ชนิด ด้วยวิธี Poisoned Food Technique ที่ระดับความเข้มข้นของสารสกัดที่ 5 ระดับ ได้แก่ 5,000, 10,000, 15,000, 20,000 และ 25,000 พีพีเอ็ม ซึ่งมีชุดควบคุมเชิงลบเป็นเชื้อรา *P. palmivora* ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ ที่ไม่ผสมสารสกัดจากสมุนไพร และมีชุดควบคุมเชิงบวกเป็นเชื้อรา *P. palmivora* ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมเมทาแลกซิล (Metalaxyl) พบว่าสารสกัดสมุนไพรทุกชนิดสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Phytopthora* sp. ในแต่ละไอโซเลทได้ โดยแตกต่างกันไปตามชนิดของสมุนไพรและระดับความเข้มข้นต่างๆ และพบว่ามีปัจจัยร่วมระหว่างชนิดสารสกัดสมุนไพรและระดับความเข้มข้นสารสกัดสมุนไพร (ตารางที่ 4.4 – 4.7 และ รูปที่ 4.12 - 4.15)

จากการศึกษาผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. palmivora* ไอโซเลท PD2-2 พบว่าสารสกัดที่สามารถยับยั้งไอโซเลท PD2-2 ได้ 100 เปอร์เซ็นต์ คือ สารสกัดจากขมิ้นชัน และสบู่เลือด ตั้งแต่

เอกสารนี้มีลิขสิทธิ์ สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้ทำซ้ำ ดัดแปลง เผยแพร่ หรือนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความเข้มข้นต่ำสุด 15,000 พีพีเอ็ม ขึ้นไป สารสกัดจากกระชายและไพล ที่ความเข้มข้น 25,000 พีพีเอ็ม โดยพบว่าสารสกัดจากกระชายที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 15,000 พีพีเอ็ม จนถึง 25,000 พีพีเอ็ม มีค่าการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. palmivora* ไอโซเลท PD2-2 ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 และสารสกัดจากขมิ้นชันที่ความเข้มข้น 5,000 พีพีเอ็ม จนถึง 25,000 พีพีเอ็ม มีค่าการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. palmivora* ไอโซเลท PD2-2 ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 เช่นกัน (ตารางที่ 4.4)

ตารางที่ 4.4 ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. palmivora* ไอโซเลท PD2-2 โดยสารสกัดจากสมุนไพรที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

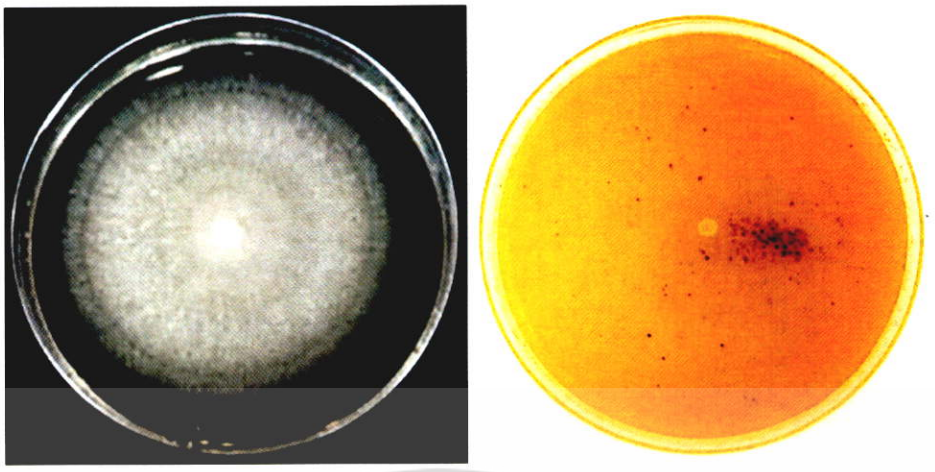
สารสกัด	ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. palmivora* ไอโซเลท PD2-2 ระดับความเข้มข้น(พีพีเอ็ม)				
	5,000	10,000	15,000	20,000	25,000
1. กระชาย	84.05^{hi}	90.17^{efgh}	95.02^{abcdef}	99.33^{ab}	100.00^{a}
2. ขมิ้นชัน	96.51^{abcde}	96.92^{abcd}	100.00^{a}	100.00^{a}	100.00^{a}
3.หัวแห้วหมู	29.51^{o}	30.49^{o}	46.43^{m}	55.36^{l}	85.93^{gh}
4.สบู่เลือด	75.69^{j}	88.93^{fgh}	100.00^{a}	100.00^{a}	100.00^{a}
5.ว่านอัคคีทวาร	1.47^{q}	18.74^{p}	28.87^{o}	37.99^{n}	44.78^{m}
6.เปลือกมังคุด	62.50^{k}	77.67^{ij}	89.72^{fgh}	97.57^{abc}	98.12^{abc}
7.เมล็ดมะรุม	41.66^{mn}	47.27^{m}	63.54^{k}	77.37^{j}	78.30^{ij}
8.ไพล	90.88^{defg}	91.99^{cdefg}	93.39^{bcdef}	98.43^{bcdef}	100.00^{a}
ชุดควบคุมเชิงบวก	100.00				
ชุดควบคุมเชิงลบ	0.00				

หมายเหตุ ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันหมายถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$)

ชุดควบคุมเชิงบวก คือ เชื้อ *P. palmivora* ไอโซเลท PD2-2 ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ผสม Metalaxyl

ชุดควบคุมเชิงลบ คือ เชื้อ *P. palmivora* ไอโซเลท PD2-2 ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.12 เชื้อรา *P. palmivora*. ไอโซเลท PD2-2 ที่เจริญบนอาหาร PDA (ซ้าย) และอาหาร PDA ผสมสารสกัดจากขมิ้นชัน ความเข้มข้น 10,000 พีพีเอ็ม (ขวา)

จากการศึกษาผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. palmivora* ไอโซเลท PD2-4 พบว่าสารสกัดที่สามารถยับยั้งไอโซเลท PD2-4 ได้ 100 เปอร์เซ็นต์ คือ สารสกัดจากขมิ้นชันและสบู่เลือดที่ความเข้มข้นต่ำสุด 20,000 พีพีเอ็ม และสารสกัดจากกระชายที่ความเข้มข้น 25,000 พีพีเอ็ม โดยที่สารสกัดจากกระชายที่ความเข้มข้น 5,000 พีพีเอ็ม จนถึง 25,000 พีพีเอ็ม มีค่าการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. palmivora* ไอโซเลท PD2-4 ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 สารสกัดจากขมิ้นชันที่ความเข้มข้น 15,000 พีพีเอ็ม จนถึง 25,000 พีพีเอ็ม มีค่าการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. palmivora* ไอโซเลท PD2-4 ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 และสารสกัดจากสบู่เลือดที่ความเข้มข้น 15,000 พีพีเอ็ม จนถึง 25,000 พีพีเอ็ม มีค่าการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. palmivora* ไอโซเลท PD2-4 ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 (ตารางที่ 4.5)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.5 ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. palmivora* ไอโซเลท PD2-4 โดยสารสกัดจากสมุนไพรที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

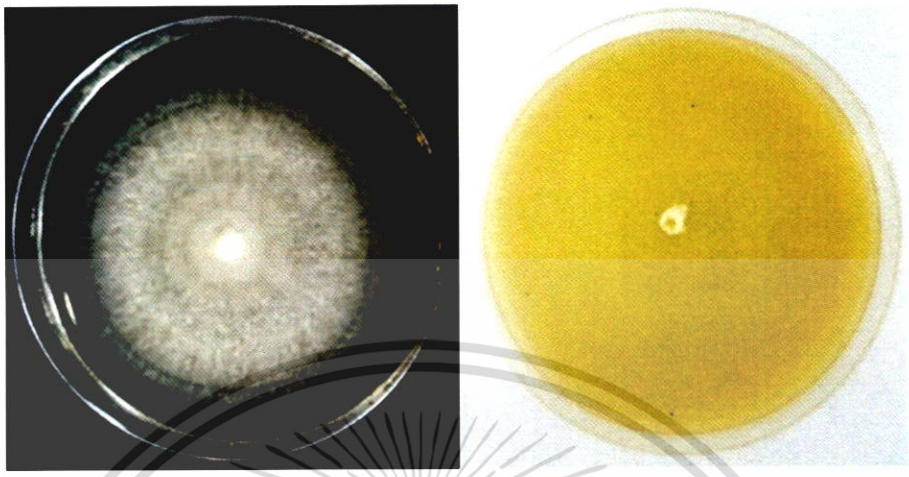
สารสกัด	ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. palmivora* ไอโซเลท PD2-4				
	ระดับความเข้มข้น(พีพีเอ็ม)				
	5,000	10,000	15,000	20,000	25,000
1. กระชาย	94.74^{abcd}	94.44^{abcd}	96.55^{abc}	98.38^{ab}	100.00^{a}
2. ขมิ้นชัน	85.83^{fgh}	87.83^{fg}	95.99^{abc}	100.00^{a}	100.00^{a}
3.หัวแห้วหมู	36.46^{op}	41.92^{no}	51.32^{m}	80.27^{hi}	91.44^{cdef}
4.สบู่เลือด	56.79^{lm}	88.53^{efg}	96.32^{abc}	100.00^{a}	100.00^{a}
5.ว่านอัคคีทวาร	16.26^{q}	21.71^{q}	32.70^{p}	42.41^{n}	51.99^{m}
6.เปลือกมังคุด	75.87^{ij}	76.17^{ij}	84.91^{gh}	93.89^{bcde}	99.24^{ab}
7.เมล็ดมะรุม	33.29^{p}	36.67^{op}	60.56^{l}	69.36^{k}	71.87^{jk}
8.ไพล	81.50^{hi}	89.96^{defg}	95.15^{abcd}	97.29^{ab}	97.96^{ab}
ชุดควบคุมเชิงบวก	100.00				
ชุดควบคุมเชิงลบ	0.00				

หมายเหตุ ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันหมายถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$)

ชุดควบคุมเชิงบวก คือ เชื้อ *P. palmivora* ไอโซเลท PD2-4 ที่เจริญบนอาหารเลี้ยง PDA ผสม Metalaxyl

ชุดควบคุมเชิงลบ คือ เชื้อ *P. palmivora* ไอโซเลท PD2-4 ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.13 เชื้อรา *P. palmivora.* ไอโซเลท PD2-4 ที่เจริญบนอาหาร PDA (ซ้าย) และอาหาร PDA ผสมสารสกัดจากกระชาย ความเข้มข้น 20,000 พีพีเอ็ม (ขวา)

จากการศึกษาผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. palmivora* ไอโซเลท PD2-16 พบว่าสารสกัดที่สามารถยับยั้งไอโซเลท PD2-16 ได้ 100 เปอร์เซ็นต์ คือ สารสกัดจากสบู่เลือดและไพลที่ความเข้มข้นต่ำสุด 20,000 พีพีเอ็ม สารสกัดจากกระชาย ขมิ้นชันและเปลือกมังคุดที่ความเข้มข้น 25,000 พีพีเอ็ม โดยที่สารสกัดจากกระชาย สบู่เลือดและไพลที่ความเข้มข้น 15,000 พีพีเอ็ม จนถึง 25,000 พีพีเอ็ม มีค่าการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. palmivora* ไอโซเลท PD2-16 ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ส่วนสารสกัดจากขมิ้นชันและเปลือกมังคุดที่ความเข้มข้น 20,000 พีพีเอ็ม จนถึง 25,000 พีพีเอ็ม มีค่าการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. palmivora* ไอโซเลท PD2-16 ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 (ตารางที่ 4.6)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.6 ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. palmivora* ไอโซเลท PD2-16 โดยสารสกัดจากสมุนไพรที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

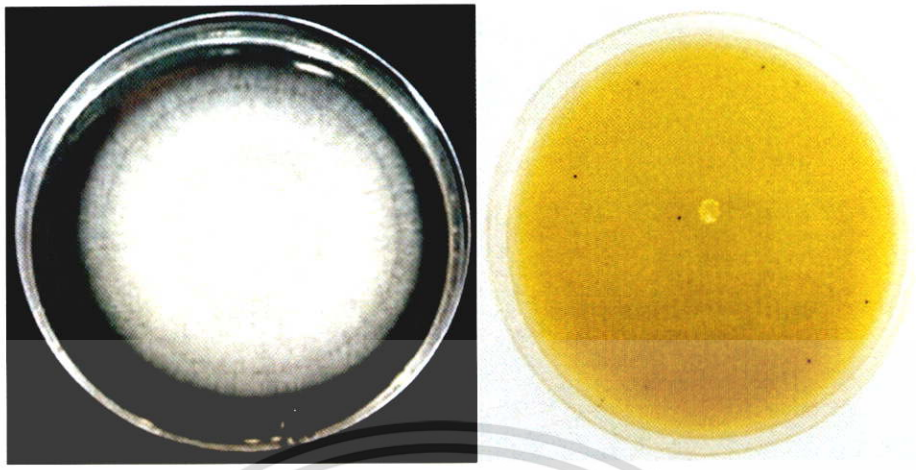
สารสกัด	ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. palmivora* ไอโซเลท PD2-16				
	ระดับความเข้มข้น(พีพีเอ็ม)				
	5,000	10,000	15,000	20,000	25,000
1. กระชาย	90.02^{defgh}	93.50^{bcde}	96.88^{abc}	99.09^{ab}	100.00^{a}
2. ขมิ้นชัน	85.03^{ghi}	87.41^{fghi}	91.92^{cdef}	95.78^{abcd}	100.00^{a}
3.หัวแห้วหมู	43.03^{o}	51.76^{n}	70.22^{jkl}	89.08^{efghi}	93.40^{bcdef}
4.สบู่เลือด	84.45^{hi}	90.99^{cdefg}	99.15^{ab}	100.00^{a}	100.00^{a}
5.ว่านอัคคีทวาร	13.21^{q}	27.53^{p}	47.37^{no}	66.07^{lm}	73.21^{jk}
6.เปลือกมังคุด	7.78^{jkl}	75.84^{j}	83.96^{i}	95.15^{abcd}	100.00^{a}
7.เมล็ดมะรุม	27.82^{p}	47.88^{no}	60.27^{m}	69.35^{kl}	75.66^{j}
8.ไพล	84.47^{hi}	87.93^{efghi}	96.30^{abc}	100.00^{a}	100.00^{a}
ชุดควบคุมเชิงบวก	100.00				
ชุดควบคุมเชิงลบ	0.00				

หมายเหตุ ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันหมายถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$)

ชุดควบคุมเชิงบวก คือ เชื้อ *P. palmivora* ไอโซเลท PD2-16 ที่เจริญบนอาหารเลี้ยง PDA ผสม Metalaxyl

ชุดควบคุมเชิงลบ คือ เชื้อ *P. palmivora* ไอโซเลท PD2-16 ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.14 เชื้อรา *P. palmivora*. ไอโซเลท PD2-16 ที่เจริญบนอาหาร PDA (ซ้าย) และอาหาร PDA ผสมสารสกัดจากกระชาย ความเข้มข้น 20,000 พีพีเอ็ม (ขวา)

จากการศึกษาผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. palmivora* ไอโซเลท DF008 พบว่าสารสกัดที่สามารถยับยั้งไอโซเลท DF008 ได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ได้แก่ สารสกัดจากขมิ้นชัน และสบู่เลือด ตั้งแต่ความเข้มข้นต่ำสุดที่ 15,000 พีพีเอ็ม ขึ้นไป สารสกัดจากกระชายและไพลตั้งแต่ความเข้มข้นต่ำสุดที่ 20,000 พีพีเอ็ม ขึ้นไป แต่พบว่าสารสกัดจากกระชายที่ความเข้มข้น 10,000 พีพีเอ็ม จนถึง 25,000 พีพีเอ็ม มีค่าการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. palmivora* ไอโซเลท DF008 ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 และสารสกัดจากไพลที่ความเข้มข้น 15,000 พีพีเอ็ม จนถึง 25,000 พีพีเอ็ม มีค่าการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. palmivora* ไอโซเลท DF008 ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 เช่นกัน (ตารางที่ 4.7)

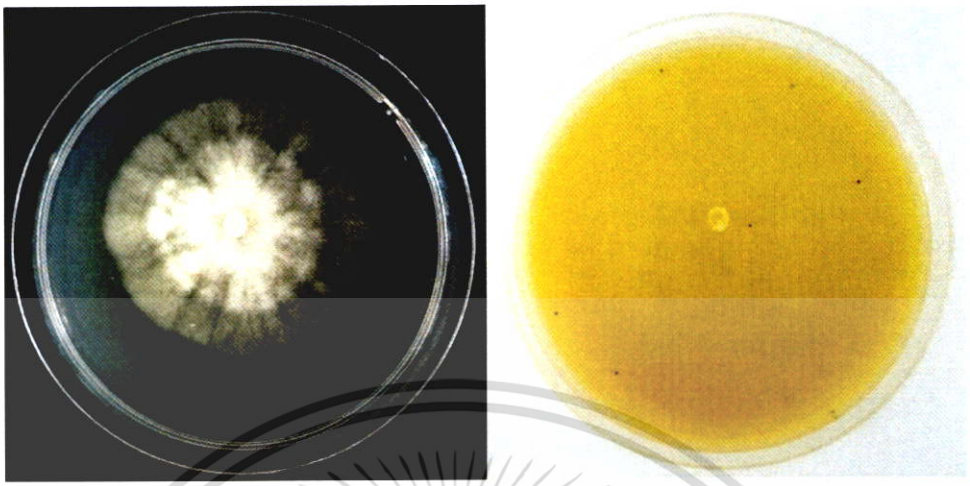
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.7 ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. palmivora* ไอโซเลท DF008 โดยสารสกัดจากสมุนไพรที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

สารสกัด	ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. palmivora* ไอโซเลท DF008				
	ระดับความเข้มข้น(พีพีเอ็ม)				
	5,000	10,000	15,000	20,000	25,000
1. กระชาย	92.59^{def}	95.29^{abcd}	98.99^{ab}	100.00^{a}	100.00^{a}
2. ขมิ้นชัน	89.23^{fg}	94.35^{bcde}	100.00^{a}	100.00^{a}	100.00^{a}
3.หัวแห้วหมู	27.34^{n}	30.62^{n}	37.36^{m}	56.12^{k}	77.17^{h}
4.สบู่เลือด	48.99^{l}	77.85^{h}	100.00^{a}	100.00^{a}	100.00^{a}
5.ว่านอัคคีทวาร	0.88^{q}	6.74^{p}	19.21^{o}	26.15^{n}	36.84^{m}
6.เปลือกมังคุด	65.59^{ij}	69.59^{i}	84.47^{g}	93.62^{cdef}	99.01^{ab}
7.เมล็ดมะรุม	21.03^{o}	11.04^{p}	39.21^{m}	54.45^{k}	64.15^{j}
8.ไพล	90.38^{ef}	92.09^{def}	98.13^{abc}	100.00^{a}	100.00^{a}
ชุดควบคุมเชิงบวก	100.00				
ชุดควบคุมเชิงลบ	0.00				

หมายเหตุ ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันหมายถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$)
ชุดควบคุมเชิงบวก คือ เชื้อ *P. palmivora* ไอโซเลท DF008 ที่เจริญบนอาหารเลี้ยง PDA ผสม Metalaxyl
ชุดควบคุมเชิงลบ คือ เชื้อ *P. palmivora* ไอโซเลท DF008 ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.15 เชื้อรา *P. palmivora*. ไอโซเลท DF008 ที่เจริญบนอาหาร PDA (ซ้าย) และอาหาร PDA ผสมสารสกัดจากกระชาย ความเข้มข้น 15,000 ppm (ขวา)

จากการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติในตารางที่ 4.4 - 4.7 พบว่าทุกตารางมีค่า $P \leq 0.05$ แสดงให้เห็นว่าปัจจัยร่วมระหว่างชนิดของสารสกัดสมุนไพรกับระดับความเข้มข้นต่างๆ มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. palmivora* ทั้ง 4 ไอโซเลทที่เปลี่ยนแปลงไป และแสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากสมุนไพรที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. palmivora* ได้ดีที่สุดคือ สารสกัดจากกระชาย โดยสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. palmivora* ไอโซเลท DF008, PD2-4 และ PD2-16 และรองต่อมาคือ สารสกัดจากขมิ้นชัน โดยสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. palmivora* ไอโซเลท PD2-2 ได้ดีที่สุด

จากผลการทดลองพบว่าสายพันธุ์เชื้อรา *Phytopthora palmivora* ที่แยกได้จากงานวิจัยนี้เป็นสายพันธุ์เดียวกันกับที่ Drenth และ Guest (2004) ได้เคยรายงานไว้ว่าเชื้อรา *Phytopthora* sp. ที่เข้าทำลายในทุเรียนเขตเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ส่วนใหญ่จะพบเป็นเชื้อรา *Phytopthora palmivora* มากที่สุด โดยลักษณะของเชื้อรา *P. palmivora* ที่แยกได้จากการทดลองมีลักษณะของโคโลนี sporangium และสัดส่วนของความกว้างและความยาวของ sporangium ในอัตรา 1.6-2.0 ซึ่งเป็นลักษณะทั่วไปของเชื้อรา *P. palmivora* ซึ่งเป็นไปในลักษณะใกล้เคียงกับที่ Suzui และคณะ (1976) ได้เคยรายงานไว้ แต่บางไอโซเลทอาจจะมีขนาดของโคโลนีต่างกันออกไปบ้างใน เนื่องจากเชื้อรา *Phytopthora* sp. มีความผันแปรของลักษณะทางสัณฐานวิทยาค่อนข้างมาก ขึ้นกับแหล่งที่มาและสภาวะต่างๆ ตามที่ Mannon และ Chuanxue (2008) ได้รายงานไว้ การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากสมุนไพรที่ยับยั้งการเจริญของ *Phytopthora* sp. พบว่าสารสกัดจากสมุนไพรแต่ละชนิดสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแต่ละไอโซเลทได้แตกต่างกัน เนื่องจากแต่ละไอโซเลทคัดแยกมาจากแหล่งที่มาและชิ้นส่วนที่เกิดโรคต่างกัน รวมทั้งผลการจัดจำแนกสายพันธุ์ทาง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อณูวิทยา พบว่า *P. palmivora* คนละสายพันธุ์กัน ทำให้มีความทนต่อสารสกัดสมุนไพรที่แตกต่างกัน นอกจาก *P. palmivora* แล้วยังพบเชื้อก่อโรคในทุเรียนที่คล้ายคลึงกันทั้งในภาคใต้และภาคตะวันออก คือ *G. candidum* และ *F. solani* ซึ่งสอดคล้องกับที่ Ploetz (2003) เคยรายงานไว้ว่า *F. solani* เป็นเชื้อราที่สำคัญก่อให้เกิดโรครากเน่าในพืชผลเขตร้อน

จากการทดลองที่ว่าสารสกัดจากไพลสามารถยับยั้งเชื้อรา *P. palmivora* ได้ดีในทุกไอโซเลท ซึ่งสอดคล้องกับที่วรรณีและคณะ (2559) ได้เคยกล่าวไว้ว่า สารสกัดจากไพลประกอบไปด้วยสารออกฤทธิ์สำคัญได้แก่ Sabinene, Terpinen-4-ol, Terpinene และ Pinene มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียและเชื้อราหลายชนิด อีกทั้งสารสกัดจากขมิ้นชันและกระชาย ที่ความเข้มข้น 10,000 พีพีเอ็ม มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเชื้อรา *P. palmivora* ได้เฉลี่ย 93 เปอร์เซ็นต์และ 91 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ซึ่งสูงกว่าผลการทดลองของจาณียาและคณะ (2555) ที่ทดสอบการยับยั้งการเจริญเชื้อรา *P. palmivora* ด้วยสารสกัดจากขมิ้นชันและกระชายที่ความเข้มข้นเดียวกันคือ 10,000 พีพีเอ็ม สามารถยับยั้งการเจริญเชื้อรา *P. palmivora* ได้ 58 เปอร์เซ็นต์และ 85 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ นอกจากนั้นสารสกัดจากขมิ้นชันที่สกัดได้สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. palmivora* ไอโซเลท DF008 และ ไอโซเลท PD2-2 ได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ที่ความเข้มข้น 15,000 พีพีเอ็ม ซึ่งเป็นระดับความเข้มข้นที่น้อยกว่า วรัญญูและปราณี (2556) เคยใช้ที่ความเข้มข้น 20,000 พีพีเอ็มถึงจะยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. palmivora* ได้ 100 เปอร์เซ็นต์ การทดสอบการยับยั้งเชื้อรา *P. palmivora* ด้วยสารสกัดจากเปลือกมังคุด ให้ผลการทดลองที่สอดคล้องกับอุดมลักษณ์และคณะ (2552) เคยทำการสกัดสารจากเปลือกมังคุดด้วยตัวทำละลายเอทานอล มาทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อรา พบว่าความเข้มข้นสารต่ำสุดที่ยับยั้งการเจริญของของเชื้อราได้ อยู่ที่ 8192 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร รวมทั้งสารสกัดจากสบู่เลือด ให้ผลการทดลองไปในทางเดียวกับที่ Makarasen และคณะ (2011) ที่พบว่าการทดสอบการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ด้วยสารอัลคาลอยด์ (Alkaloids) ที่สกัดจากหัวและใบของต้นสบู่เลือด สามารถยับยั้งจุลินทรีย์ได้หลายชนิดและสามารถยับยั้งเซลล์มะเร็งได้ดีอีกด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

จากการคัดแยกเชื้อราก่อโรคบริเวณลำต้นและผลของทุเรียนที่ได้จาก อำเภอบ่อไร่ จังหวัดตราดและ อำเภอขลุง จังหวัดจันทบุรี และเชื้อก่อโรคจากแปลงเกษตรทดลอง อำเภอปะทิว จังหวัดชุมพร สามารถคัดแยกได้ทั้งหมด 11 ไอโซเลท และจากการจัดจำแนกด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยาและลักษณะทางอณูวิทยา พบว่ามีความคล้ายคลึงกับ 3 สายพันธุ์ คือ *Phytophthora palmivola, Galactomycese candidum* และ *Fusarium solani* เมื่อนำเชื้อรา *P. palmivora* ที่แยกได้ 4 ไอโซเลท มาศึกษาประสิทธิภาพของสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *P. palmivora* ที่คัดแยกได้ด้วยวิธี Poisoned Food Technique โดยใช้สารสกัดสมุนไพร 8 ชนิดได้แก่ กระชาย ขมิ้นชัน หัวแห้วหมู สบู่เลือด ว่านอัคคีทวาร เปลือกมังคุด เมล็ดมะรุม และไพล ที่เตรียมไว้ ที่ระดับความเข้มข้นของสารสกัด 5 ระดับ ได้แก่ 5,000, 10,000, 15,000, 20,000 และ 25,000 พีพีเอ็ม โดยทำการเปรียบเทียบกับสารกำจัดเชื้อรา Metalaxyl พบว่าสารสกัดจากสมุนไพรทุกชนิดที่ใช้ในการทดสอบสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. palmivora* ได้ โดยเฉพาะสารสกัดจากกระชาย ขมิ้นชัน สบู่เลือด ไพลและเปลือกมังคุด สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. palmivora* ได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ในการทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. palmivora* ไอโซเลท DF008 ไอโซเลท PD2-4 และไอโซเลท PD2-16 สารสกัดจากกระชายสามารถยับยั้งการเจริญได้ดีที่สุด และสารสกัดจากขมิ้นชันสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. palmivora* ไอโซเลท PD2-2 ได้ดีที่สุด ส่วนสารสกัดจากว่านอัคคีทวารสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. palmivora* ได้น้อยที่สุดในทุกไอโซเลท

5.2 ข้อเสนอแนะ

1. เนื่องจากเชื้อรา *P. palmivora* ในปัจจุบันมีปัญหาการต้านทานต่อสารกำจัดเชื้อราจำนวนมาก ดังนั้นควรทดสอบการต้านทานต่อสารกำจัดเชื้อรา เช่น Azoxystrobin หรือ Mancozeb เป็นต้น

2. ศึกษาทดลองเพิ่มเติมสำหรับการใช้สารสกัดจากพืชสมุนไพร เพื่อยับยั้งการเจริญเชื้อรา *P. palmivora* กับต้นทุเรียนในลักษณะ *in vivo* เพื่อศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชสมุนไพรแต่ละชนิด ในสภาพแปลงทุเรียนจริง

3. เนื่องจากสารสกัดจากพืชสมุนไพรที่ใช้ในการทดสอบนี้ เป็นสารที่สกัดจากตัวทำละลายชนิดเดียวคือเอทานอล เพื่อให้ได้ประสิทธิภาพที่ดีมากขึ้นควรศึกษาทดลองกับตัวทำละลายชนิดอื่นๆ เพิ่มเติม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

จาณียา ขันชะลี, ศศิประภา คำหงส์, สง่า ผลอ้อ, ศิรประภา การันต์, อนุสรา ถามะพันธ์ และวรพล สุรพัฒน์. 2555. “การศึกษาผลของสารสกัดสมุนไพรพื้นบ้านในการรักษาโรคที่เกิดจากเชื้อราในยางพารา.” หน้า214 - 221. ใน **การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 50**. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

จินตน์กานต์ งามสุทธา. 2557. “จุดเปลี่ยนทุเรียนไทย.” *จดหมายข่าวผลิใบ*. กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 67-69.

ทัศนีย์ นวลชัย และ จิตรา ดวงแก้ว. 2559. “ผลของสารสกัดสมุนไพรไทยต่อการยับยั้งเจริญเติบโต ของเชื้อ *Aromonas hydrophila.*” *Khon Kaen Agir. J.* 44 : 124-129.

ปัญจมา กวางติ๊ด. 2546. “การจัดการโรคโคนเน่าและผลเน่าของทุเรียน (*Durio zibethinus* murr.) ที่เกิดจากเชื้อรา *phytophthora palmivora* (butl.) butl.” วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาโรคพืช มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

เยาวมาลย์ ค้าเจริญ. 2547. “ยุคใหม่ของตัวอย่างในการเสริมยาสมุนไพรเป็นวัตถุที่เติมในอาหารสัตว์ใน การผลิตสัตว์ในสมุนไพรไทย.” รายงานสัมมนาวิชาการโอกาสและทางเลือกใหม่ของ อุตสาหกรรมการผลิตสัตว์ ครั้งที่ 2 วันที่ 15-16 มกราคม 2547. ณ โรงแรมสยามซิตี้ กรุงเทพมหานคร.

รัตติยา พงศ์พิสุทธา. 2535. “โรคผลเน่าของทุเรียนหมอนทองที่เกิดจากเชื้อรา *Phytophthora palmivora* (Butl.)Butl. และการควบคุม.” วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร) มหาบัณฑิต สาขาโรคพืช มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

วรรณี สมัปปิโต, ศุภชัย สมัปปิโต และลือชัย บุตคุป. 2559. “ผลของสารสกัดจากเปลือกมังคุดไพลและน้ำมันไพลต่อการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรค.” *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม*. 36(1) : 53-60.

วรัญญู แก้วดวงตา และปราณี เริ่มกระโทก. 2556. “ทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืชสมุนไพรไทยในการควบคุม โรคเน่าดำของกล้วยไม้หวายเอียสกุล.” *สารวิจัยเพื่อชุมชน*. 4(1) : 45-49.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วนิดา ไทรชมพู. 2542. “ฤทธิ์ต้านจุลชีพของน้ำมันหอมระเหยและสารเคอร์คูมินอยด์จากขมิ้นชัน.” วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.

วิชัย ก่อประดิษฐ์สกุล และชัยณรงค์ รัตนกรีฑากุล. 2553. “ฤทธิ์ของสาระสำคัญจากพืชสมุนไพรในการควบคุมโรคแอนแทรกโนสในมะม่วง.” วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาโรคพืช คณะเกษตรกำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กำแพงแสนนครปฐม.

วิทย์ เที่ยงบูรณธรรม. 2532. **พจนานุกรมสมุนไพรไทย (ฉบับสรรพคุณยาไทย)**. พิมพ์ครั้งที่1. กรุงเทพมหานคร : โรงพิมพ์บำรุงสาส์น.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2557. สถิติการเกษตรประเทศไทย 2557: ทุเรียน. [Online] . Avalible: http://www.oae.go.th/download/download.pdf.

สถาบันวิจัยสมุนไพร. 2554. **การวิเคราะห์คุณภาพสมุนไพรด้วยวิธีทีแอลซี.** พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร. กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข.

หิรัญ หิรัญประดิษฐ์, สุขวัฒน์ จันทรปรรณิก และเสริมสุข สลักเพ็ชร์. 2546. **เทคโนโลยีการผลิตทุเรียน.** กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

อุดมลักษณ์ สุขอัตตะ, อุไรวรรณ ดิลกคุณานันท์, ประภัสสร รักถาวร, สิริพร ศิริวรรณ และ พจมาน พิศเพียงจันทร์. 2552. การสกัดและการออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดจากเปลือกมังคุด. สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตผลทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

Amini, J., Farhang, V., Javadi, T., and Nazemi, J. 2016. “Antifungal effect of plant essential oils on controlling *Phytophthora* Species.” *Plant Pathol. J.* 32(1) : 16-24.

Ballhorn, D.J., Kautz, S., Heil, M. and Hegeman, A.D. 2009. “Cyanogenesis of wild lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) is an efficient direct defence in nature.” *Plant Signaling and Behavior*. 4(8) : 735-745.

Carmichael, J. W. 1956. “Frozen storage for stock cultures of fungi.” *Mycologia*. 48(3), 378-381.

Chien, J.T., Hoff, J.E. and Chien, L.F. 1988. “Simultaneous dehydration of 95% ethanol and extraction of crude oil from dried ground corn.” *Cereal Chem*. 65(6) : 484-486.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Chuakul, W. and Boonpleng, A. 2003. "Ethnomedical uses of Thai Zingiberaceousplant." *J. Med.* 10(1) : 33–39.

Cory, R.K., Patricia, O.B., Steven, S.G. and Christina, M.H. 2008. "Formulation of a defined V8 medium for induction of sexual development of *Cryptococcus neoformans*." *App. Env. Microbiol.* 74(20) : 6248–6253.

Cousins, M. 2006. "Antioxidant capacity of fresh and dried rhizomes from four clones of turmeric (*Curcuma longa* L.) grown *in vitro*." *Ind. Crops Prod.* 25 : 129-135.

Drenth, A. and Guest, D.I. 2004. "Diversity and Management of *Phytophthora* in Southeast Asia." ACIAR Monograph No. 114. Melbourne. Australia.

Ferrin, D.M. and M.L. Wadsworth. 1992. "Effect of metalaxyl on sporulation and growth of metalaxyl resistance and metalaxyl sensitive isolates of *Phytophthora parasitica in vitro*." *Plant Dis.* 76: 492-495.

Gupta, A.K., Tandon, N. and Sharma, M. 2008 "Review on Indian Medicinal Plants." *J. Pharma. Res.* 7 : 110-111.

Hong, C., Gallegly, M., Richardson, P., Kong, P., Moorman, G., Lea-Cox, J. and Ross, D. 2008. "*Phytophthora irrigata* and *Phytophthora hydropathica* two new species from irrigation water at ornamental plant nurseries." *Phytopathol.* 98(6) : 356-361.

Ishii, H., Fraaije, B.A., Sugiyama, T., Noguchi, K., Nishimura, K., Takeda, T., Amano, T., and Hollomon, D.W. 2001. "Occurrence and molecular characterization of strobilurin resistance in cucumber powdery mildew and downy mildew." *Phytopathol.* 91: 1166-1171.

Koichiro, K., Makiichi, T., Tsutomu, S. and Kozo, N. 2003. "Rapid report diagnosis of dehydratase inhibitors in melanin biosynthesis inhibitor (MBI-D) resistance by primer-introduced restriction enzyme analysis in scytalone dehydratase gene of *Magnaporthe grisea*." *Pest. Manag. Sci.* 59 : 843-846.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Mahmoud, S.S. and Croteau, R.B. 2002. "Strategies for transgenic manipulation of monoterpene biosynthesis in plants." *Trends Plant. Sci.* 7 : 366-373.

Makarasen, A., Sirithana, W., Mogkhuntod, S., Khunnawutmanotham, N., Chimnoi, N. and Techasakul S. 2011. "Cytotoxic and antimicrobial activities of aporphine alkaloids isolated from *Stephania venosa* (Blume) Spreng." *Planta Med.* 77(13) : 1519-1524.

Mannon, E. G. and Chuanxue, H. 2008. ***Phytophthora* : Identifying Species by Morphology and DNA Fingerprints.** Minnesota : The American Phytopathological Society Publishing.

Montgomery, D.C, 2001. **Design and Analysis of Experiments.** 5th ed. New York : John Wily & Sons, Inc.

Pearce, G., Strydom, D., Johnson, S. and Ryan, C.A. 1991. "A polypeptide from tomato leaves induces wound inducible protienase inhibitor proteins." *J. Sci.* 253 : 895-898.

Pietta, P.G. 2000. "Flavonoids as antioxidants." *J. Nat. Prod.* 63(7) : 1035-42

Ploetz, R.C. 2003. **Diseases of Tropical Fruit Crops.** University of Florida, USA. CABI Publishing.

Pundir, R.K. and Jain, P. 2010. "Antifungal activity of twenty two ethanolic plant extracts against food associated fungi." *J. Pharma. Res.* 3(1) : 506-510.

Puratuchikody, A., Nithya, D.C. and Nagalakshmi, G. 2006. "Wound Healing Activity of *Cyperus rotundus* Linn." *Indian J. Pharm. Sci.* 68 : 97-101.

Ristaino, J.B. and Gumpertz, M.L. 2000. "New frontiers in the study of dispersal and spatial analysis of epidemics caused by species in the genus Phytophthora." *Ann. Rev. Phytopathol.* 38 : 541-576.

Salamci, E., Kordali, S., Kotan, R., Cakir, A. and Kaya, Y. 2007. "Chemical compositions, antimicrobial and herbicidal effects of essential oils isolated from Turkish *Tanacetum aucheranum* and *Tanacetum chiliophyllum* var. *chiliophyllum*." *Biochem. Sys. Ecol.* 35 : 569-581.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Samuel, A.J.S.J., Kalusalingam, A., Chellappan, D.K., Gopinath, R., Radhamani, S., Husain, H. A., Muruganandham, V., Promwichit, P. 2010. "Ethnomedical survey of plants used by the orang asli in kampong bawong, Perak, West Malaysia." *J. Ethnobiol. Ethnomed.* 6(5) : 241-247.

Strack, D. 1997. **Phenolic metabolism**. London : Academic Press.

Suzui, T., Kueprakonr, U. and Kamhangridthirong, T. 1976. *"Phytophthora* Disease on some Economic Plants in Thailand." *J. Plant. Pathol.* 113 : 126-131.

Tamura, K., Peterson, D., Peterson, N., Stecher, G., Nei, M. and Kumar, S. 2011. "MEGA5 : molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods." *Mol Biol Evol.* 28 : 2731–2739.

Thao, N.P., Luyen, B.T., Kim, E.J., Kang, J.I. and Kang, H.K. 2015. "Steroidal constituents from the edible sea urchin Diadema savignyi Michelin induce apoptosis in human cancer cells." *J. Med. Food.* 18: 45-53.

Theilade, I. 1999. "A synopsis of the genus *Zingiber* (Zingiberaceae) in Thailand." *Nord J Bot.* 19(4) : 389-410.

Tjosvold, S. A., Koike, S. T., and Chambers, D. L. 2008. "Evaluation of Fungicides for the control of *Phytophthora ramorum* infecting *Rhododendron*, *Camellia*, *Pieris*, and *Viburnum*." *Plant Health Progress*, 10 : 1094-1098.

Tolley, P.W. 1993. "Simple Liquid Nitrogen Storage Method update for *Phytophthora* species." *Phytophthora Newlettler.* 19(13) : 14-16.

Tuite, J. 1969. **Plant Pathological Methods: Fungi and Bacteria**. Minnesota : Burgess Publishing Company.

Vawdrey, L.L., Martin, T.M. and Faveri, J. 2005. "A detached leaf bioassay to screen Durain cultivers for susceptibility to *Phytophthora palmivora*." *Aust. Plant. Pathol.* 34 : 251-254.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Wilson, B., Abraham, G., Manju, V.S., Mathew, M., Vimala, B., Sundaresan, S. and Nambisan, B. 2005. "Antimicrobial activity of *Curcuma malabarica* and *Curcuma zedoaria* tuber." *J. Ethnopharmacol*. 99 : 147-151.

Xie, H. and Preast, V. 2011. **Xie's Chinese Veterinary Herbology**. Illustrated. New York : John Wily & Sons, Inc.

Zentmyer, G.A. 1988. "Origin and distribution of four species of *Phytophthora*." *Mycol. Soc.* 91 : 367-378.

Zhang, M., Zhang, L., Su, X., Huo, C., and Shi, Q.w. 2009. "Chemical constituents of the plants from genus Jatropha," *Mol Biol Evol*. 6(12) : 2166– 2183.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อและการเตรียมสารเคมี

Potato Dextrose Agar : PDA

Potato	200	กรัม
Dextrose	20	กรัม
Agar	15	กรัม
น้ำกลั่น	765	มิลลิลิตร

อาหารเลี้ยงเชื้อเมื่อเตรียมเรียบร้อยแล้วจะต้องนำไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันไอที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

Water Agar : WA

Agar	15	กรัม
น้ำกลั่น	985	มิลลิลิตร

อาหารเลี้ยงเชื้อเมื่อเตรียมเรียบร้อยแล้วจะต้องนำไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันไอที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

V8 selective media Agar

เตรียมน้ำผักผลไม้ V8 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ผสมแคลเซียมคาร์บอเนต 1 กรัม จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 4000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที จะได้ส่วนใสน้ำผักผลไม้ V8

น้ำผักผลไม้ V8	50	มิลลิลิตร
Agar	15	กรัม
น้ำกลั่น	950	มิลลิลิตร

อาหารเลี้ยงเชื้อเมื่อเตรียมเรียบร้อยแล้วจะต้องนำไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันไอที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1M TE buffer

1M Tris-Cl buffer	10	มิลลิลิตร
0.5M EDTA	2	มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	988	มิลลิลิตร
pH	7.4 - 8.0	

เมื่อเตรียมเรียบร้อยแล้วจะต้องนำไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันไอที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

การจัดจำแนกเชื้อในระดับอณูชีววิทยา (Molecular genetic)

1. ลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อราก่อโรคที่คัดแยกได้

ลำดับนิวคลีโอไทด์ในช่วง Internal Transcribed Spacer (ITS) บางส่วนของไอโซเลท PD1-5

ATTCGGGGAGACCAATACCAAACATCAATCATACAATCAAATACATATAA
ATAAATTAAAACTTTTAACAATGGATCTCTTGGTTCTCGTATCGATGAAGAACGCAGC
GAAACGCGATATTTCTTGTGAATTGCAGAAGTGAATCATCAGTTTTTGAACGCACATT
GCACTTTGGGGTATCCCCCAAAGTATACTTGTTTGAGCGTTGTTTCTCTCTTGGAATT
GCTTTGCTCTTCTAAAATTTCGAATCAAATTCGTTTGAAAAACAACACTATTCAACCT
CAGATCAAGTAG

ลำดับนิวคลีโอไทด์ในช่วง Internal Transcribed Spacer (ITS) บางส่วนของไอโซเลท PD1-8

TTATTGACCACCTCGAATCAGGTAGGAATACCCGCTGAACTTAAGCATATCAATAAG
CGGAGGAAAAGAAACCAACAGGGATTGCCCCAGTAACGGCGAGTGAAGCGGCAACA
GCTCAAATTTGAAATCTGGCTCTCGGGCCCGAGTTGTACCAATTTGTAGAGGATGCTT
TTGGTGAGGTGCCTTCCGAGTTCCCTGGAACGGGACGCCATAGAGGGTGAGAGCCCC
GTCTGGTTGGACGCCGAACCTCTGTAAAGCTCCTTCGACGAGTCGAGTAGTTTGGGA
ATGCTGCTCTAAATGGGAGGTATATGTCTTCTAAAGCTAAATACCGGCCAGAGACCG
ATAGCGCACAAGTAGATGATCGAAAGATGAAAAGAACCTCTTTGAAAAGAGAGTTA
AACAGTACGTGAAATTGTTGAAAGGGAAGCGCTGTGACCAGACTTGGGCTTGGTTGA
TCATCCGGGGTTCTCCCCGGTGCACTCTTCCGGCCCAGGCCAGCATCAGTTCGCCCTG
GGGGACAAAGGCTTCGGGAACGTGGCTCTCTCCGGGGAGTGTTATAGCCCGTTGCGT
AATACCCTGTGGCGGACTGAGGTTCGCGCATTCGCAAGGATGCTGGCGTAATGGTCA
GGGTCA

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลำดับนิวคลีโอไทด์ในช่วง Internal Transcribed Spacer (ITS) บางส่วนของไอโซเลทPD1-11

CATGGACAACAAACACCTTCAATCATACAATCAATAATTAAAAAATTAAA
ACTTTTAACAATGGATCTCTTGGTTCTCGTATCGATGAAGAACGCAGCTTGGAAACGC
GATATTTCTTGTGAATTGCAGAAGTGAATCATCAGAACTTTTTGAAGCACATTGCACT
TTCCCGGGGTATCCCCCAAAGTATACTTGTTTGAGCGTTGTTTCTCTCTTGGAATTGCT
TTGCTCTTCTAAAATTTCGAATCAAATTCGTTTGAAAAACAACACTATTCAATTTCCT
CAGATCAAGAACTAG

ลำดับนิวคลีโอไทด์ในช่วง Internal Transcribed Spacer (ITS) บางส่วนของไอโซเลท PD2-1

AGTTATACAACTCCCAAACCCCTGTGAACTTACCTATAACGTTGCTTCGGCGGGAAA
CCGACGGCCCCGTAAGACGGGCCGCCCCCGCCAGAGGACCCCCTAACTCTTGTTATA
TCCTGCTTCTCTGAGTACAACAAGCAAATAAATTAAAACTTTCAACAACGGATCTCTT
GGCTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAACGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGA
ATTTAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGCCAGTATTCTGGCGGGC
ATGCCTGTCCGAGCGTCATTACAACCCTCAGGCCCCCGGGCCTGGTGTTGGGGATCG
GCGGAGCCCTCCGGGGCACACGCCGTCCCCCAAATTCAGTGGCGGTCTCGCTGCAGC
CTCCATTGCGTAGTAGCTAACACCTCGCAACTGGAAGGCGGCGCGGCCACGCCGTAA
AACCCCCCAACTTCTGAATGTTGACCTCGGATCAGGTAGGAATACCCGCTGAACTTA
AGCATATCAATAAGCGGAGGAAAAGAAACCAACAGGGATTGCCTCAGTAACGGCGA
GTGAAGCGGCAACAGCTCAAATTTGAAATCTGGCTCTCGGGCCCGAGTTGTAATTTG
TAGAGGATGCTTTTGGTGCGGTGCCTTCCGAGTTCCCTGGAACGGGACGCCATAGAG
GGTGAGAGCCCCGTCTGGTTGGATGCCAATCCTCTGTAAAGCTCCTTCGACGAGTCG
AGTAGTTTGGGAATGCTGCTCTAAATGGGAGGTATATGTCTTCTAAAGCTAAATACC
GGCCAGAGACCGATAGCGCACAAGTAGAGTGATCGAAAGATGAAAAACTTTGAAAA
GAGAGTTAAAAAGTACGTGAAATTGTTGAAAGGGAAGCGCTTGTGACCAGACTTGG
GCTTGGTTGATCATCCAGGGTTCTCCCTGGTGCACTCTTCCGGCCCAGGCCAGCATCA
GTTTGCCCCGGGGGATAAAGGCGTCGGGAATGTGGCTCCCTCCGGGGAGTGTTATAG

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลำดับนิวคลีโอไทด์ในช่วง Internal Transcribed Spacer (ITS) บางส่วนของไอโซเลท PD2-2

CCACACCTAAAAACTTTCCCCGTGAACCGTATCAAAACTTAGTTGGGGGTCTCTTTCG
GCGGCGGCTGCTGGCTTCATTGCTGGCGGCTGCTGTTGGGAGAGCTCTATCATGGCG
AGCGTTTGGGCTTCGGTCTGAACTAGTAGCTTTTTTAAACCCATTCTTTATAACTGATT
ATACTGTAGGGACGAAAGTCTCTGCTTTTAACTAGATAGCAACTTTCAGCAGTGGAT
GTCTAGGCTCGCACATCGATGAAGAACGCTGCGAACTGCGATACGTAATGCGAATTG
CAGGATTCAGTGAGTCATCGAAATTTTGAACGCATATTGCACTTCCGGGTTAGTCCTG
GGAGTATGCCTGTATCAGTGTCCGTACATCAAACTTGGTTTTCTTCCTTCCGTGTAGT
CGGTGGTGGATGTGCCAGATGTGAAGTGTCTTGCGGCTGGTCTTCGGATCGGCTGTG
AGTCCTTTGAAATGTACTGAACTGTACTTCTCTTTGCTCCAAAAGCGTGGCGTTGCTG
ATTGTGGAGGCTGCTTGCGTAGCCAGTCTGGCGACCAGTTTGTCTGCTGTGGCATTAA
TGGAGGAGTGTTCGATTCGCGGTATGGTTGGCTTCGGCTGAACAGACGCTTATTAAA
TATTTCTTCAGCTGTGGTGGTATGAGTTGGTGAACCGTAGCTATGTGAGCTTGGCTTT
TGAATTGGCTTTGCTGTTGCGAAGTAGAGTGGCGGCTTCGGCTGTCGAGGGTCGATC
CATTTGGGAACTTGTGTATGCTTCGGCATGCATCTCAA

ลำดับนิวคลีโอไทด์ในช่วง Internal Transcribed Spacer (ITS) บางส่วนของไอโซเลท PD2-4

CAAAACTTAGTTGGGGGTCTCTTTCGGCGGCGGCTGCTGGCTTCATTGCTGGCGGCTG
CTGTTGGGAGAGCTCTATCATGGCGAGCGTTTGGGCTTCGGTCTGAACTAGTAGCTTT
TTTAAACCCATTCTTTATAACTGATTATACTGTAGGGACGAAAGTCTCTGCTTTTAAC
TAGATAGCAACTTTCAGCAGTGGATGTCTAGGCTCGCACATCGATGGAGGACGCTGC
GAACTGCGATACGTAATGCGAATTGCAGGATTCAGTGAGTCATCGAAATTTGGAACG
CATATTGCACTTCCGGGTTAGTCCTGGGAGTATGCCTGTATCAGTGTCCGTACATCAA
ACTTGGTTTTCTTCCTTCCGTGTAGTCGGTGGTGGATGTGCCAGATGTGAAGTGTCTT
GCGGCTGGTCTTCGGATCGGCTGTGAGTCCTTTGAAATGTACTGAACTGTACTTCTCT
TTGCTCCAAAAGCGTGGCGTTGCTGATTGTGGAGGCTGCTTGCGTAGCCAGTCTGGC
GACCAGTTTGTCTGCTGTGGCGTTAATGGAGGAGTGTTCGATTCGCGGTATGGTTGGC
TTCGGCTGAACAGACGCTTATTGAATATTTCTTCACCTGTGGTGGTATGATTGGTGAA
CCGTACCTATGTGAGCTTGGCTTTTGAATTGGCTTTGCTGTTGCGAAGTAGAGTGGCG
GCTTCGGCTGTCGAGGGTCGATCCATTTGGGAACTTGTGTATGCTTCGGCATGCATCT
CAATTGGACCTGATATCAG

เอกสารนี้มีลิขสิทธิ์ สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลำดับนิวคลีโอไทด์ในช่วง Internal Transcribed Spacer (ITS) บางส่วนของไอโซเลท PD2-6

GGCCCCGTAAGACGGGCCGCCCCCGCCAGAGGACCCCCTAACTCTTGTTATATCCTG
TTTCTCTGAGTACAACAAGCAAATAAATTAAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGCTC
TGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAACGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTTA
GTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGCCAGTATTCTGGCGGGCATGC
CTGTCCGAGCGTCATTACAACCCTCAGGCCCCCGGGCCTGGTGTTGGGGATCGGCGG
AGCCCTCCGGGGCACACGCCGTCCCCCAAATTCAGTGGCGGTCTCGCTGCAGCCTCC
ATTGCGTAGTAGCTAACACCTCGCAACTGGAAGGCGGCGCGGCCACGCCGTAAAACC
CCCCAACTTCTGAATGTTGACCTCGGATCAGGTAGGAATACCCGCTGAACTTAAGCA
TATCAATAAGCGGAGGAAAAGAAACCAACAGGGATTGCCTCAGTAACGGCGAGTGA
AGCGGCAACAGCTCAAATTTGAAATCTGGCTCTCGGGCCCGAGTTGTAATTTGTAGA
GGATGCTTTTGGTGCGGTGCCTTCCGAGTTCCCTGGAACGGGACGCCATAGAGGGTG
AGAGCCCCGTCTGGTTGGATGCCAACTAAAGCTAAATACCGGCCAGAGACCGATAGC
GCACAAGTAGAGTGATCGAAAGATGAAAAGAACTTTGAAAAGAGAGTTAAAAAGTA
CGTGAAATTGTTGAAAGGGAAGCGCTTGTGACCAGACTTGGGCTTGGTTGATCATCC
AGGGTTCTCCCTGGTGCACTCTTCCGGCCCAGGCCAGCATCAGTTTGCCCCGGGGGA
TAAAGGCGTCGGGAATGTGGC

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลำดับนิวคลีโอไทด์ในช่วง Internal Transcribed Spacer (ITS) บางส่วนของไอโซเลท D2-16

AAACTTAGTTGGGGGTCTCTTTCGGCGGCGGCTGCTGGCTTCATTGCTGGCGGCTGCT
GTTGGGAGAGCTCTATCATGGCGAGCGTTTGGGCTTCGGTCTGAACTAGTAGCTTTTT
TAAACCCATTCTTTATAACTGATTATACTGTAGGGACGAAAGTCTCTGCTTTTAACTA
GATAGCAACTTTCAGCAGTGGATGTCTAGGCTCGCACATCGATGAAGAACGCTGCGA
ACTGCGATACGTAATGCGAATTGCAGGATTCAGTGAGTCATCGAAATTTTGAACGCA
TATACTTCCGGGTTAGTCCTGGGAGTATGCCTGTATCAGTGTCCGTACATCAAACTTG
GTTTTCTTCCTTCCGTGTAGTCGGTGGTGGATGTGCCAGATGTGAAGTGTCTTGCGGC
TGGTCTTCGGATCGGCTGTGAGTCCTTTGAAATGTACTGAACTGTACTTCTCTTTGCTC
CAAAAGCGTGGCGTTGCTGATTGTGGAGGCTGCTTGCGTAGCCAGTCTGGCGACCAG
TTTGTCTGCTGTGGCATTAATGGAGGAGTGTTCGATTCGCGGTATGGTTGGCTTCGGC
TGAACAGACGCTTATTGGATATTTCTTCAGCTGTGGTGGTATGAGTTGGTGAACCGTA
GCTATGTGAGCTTGGCTTTTGAATTGGCTTTGCTGTTGCGAAGTAGAGTGGCGGCTTC
GGCTGTCGAGAGTCGATCCATTTGGG

ลำดับนิวคลีโอไทด์ในช่วง Internal Transcribed Spacer (ITS) บางส่วนของไอโซเลท P1

ACACCCATAAATAACGATACGGGGCCTATTAGGTCTCGTAATTGGAATGAG
AACAATTTAAATACCTTAACGAGGAACAATTAGAGGGCAAGTCTGGTGCCAGCAGCC
GCGGTAATTCCAGCTCTGATAGTATATATTAAAGTTGTTGCAGTTAAAAAGCTCGTAG
GAGTTGAAACTTGGGTGCGTAGGGGCGGTCTCTTTTAGAGTACTACCCTGAAACATC
TTTCTTTGGTGTAAACTTTCTATTTATTTAGGAAGTGTAAACCAAACATTTACTTTGAA
AAAATTAGAGTGTTCAAAGCAGGCCTTTGCTCGTTAAATATATTAGCATGGAATAAT
AGAATAGGACGTATGGTTCTATTTTGTTGGTTTCTAGGACCGTCGTAATGATTAATAG
GGACGGTCGGGGGCATCAGTATTCAGTTGTCAGAGGTGAAATTCTTGGATTTACTGA
AGACTAACTACTGCGAAAGCATTTGCCAAGGACGTTTTCATTAATCAAGAACGAAAG
TTAGGGGATCGAAGACGATCAGATACCGAATTCG

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลำดับนิวคลีโอไทด์ในช่วง Internal Transcribed Spacer (ITS) บางส่วนของไอโซเลท DS115

CACGTGAACCAGCGGAGGGATCATTACCGAGTTATTCAACTCATCAACCCTGTGAAC
TTACCTATACGTTGCTTCGGCGGGAATAGACGGCCCCGTAAAACGGGCCGCCCCCGC
CAGAGGACCCTTAATTCTGTTTCTTTTAGTGTATCTTCTGAGTAAAACAAGCAAATAA
ATTAAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGCTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAA
ATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCAC
ATTGCGCCCGCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTTCGAGCGTCATTACAACCCTCAG
GCCCCCGGGCCTGGCGTTGGGGATCGGCGGAGCCCCCCGTGGGCACACGCCGTCCCT
CAAATACAGTGGCGGTCCCGCCGCAGCTTCCATCGCGTAGTAGCTAACACCTCGCGA
CTGGAGAGCGGCGCGGCCACGCCGTAAAACACCCAACTCTTCTGAAGTTGACCTCGA
ATCAGGTAGGAATACCCGCTGAAC

ลำดับนิวคลีโอไทด์ในช่วง Internal Transcribed Spacer (ITS) บางส่วนของไอโซเลท DF008

TCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTACCACACCTAAAAACTTTCCACGTGAAC
CGTATCAAAACTTAGTTGGGGGTCTCTTTCGGCGGCGGCTGCTGGCTTCATTGCTGGC
GGCTGCTGTTGGGAGAGCTCTATCATGGCGAGCGTTTGGGCTTCGGTCTGAACTAGT
AGCTTTTTTAAACCCATTCTTTATAACTGATTATACTGTAGGGACGAAAGTCTCTGCT
TTTAACTAGATAGCAACTTTCAGCAGTGGATGTCTAGGCTCGCACATCGATGAAGAA
CGCTGCGAGCTGCGATACGTAATGCGAATTGCAGGATTCAGTGAGTCATCGAAATTT
TGAACGCATATTGCACTTCCGGGTTAGTCCTGGGAGTATGCCTGTATCAGTGTCCGTA
CATCAAACTTGGTTTTCTTCCTTCCGTGTAGTCGGTGGTGGATGTGCCAGATGTGAAG
TGTCTTGCGGCTGGTCTTCGGATCGGCTGGAGTCCTTTGAAATGTACTGAACTGTACT
TCTCTTTGCTCCAAAAGCGTGGCGTTGCTGATTGTGGAGGCTGCTTGCGTAGCCAGTC
TGGCGACCAGTTTGTCTGCTGTGGCGTTAATGGAGGAGTGTTCGATTCGCGGTATGGT
TGGCTTCGGCTGAACAGACGCTTATTGAATATTTCTTCAGCTGTGGTGGTATGATTGG
TGAACCGTAGCTATGTGAGCTTGGCTTTTGAATTGGCTTTGCTGTTGCGAAGTAGAGT
GGCGGCTTCGGCTGTCGAGGGTCGATCCATTTGGGAACTTGTGTATGCTTCGGCATGC
ATCTCAATTGGACCTGATATCAGGCAAGATTACCCGCTGAACTTAAGCATATCAATA
AGCGGAGGA

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. เปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์

ตาราง ข-1 เปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อราก่อโรคที่คัดแยกได้จากฐานข้อมูล GenBank

Isolate	Description	Max score	Total score	Query cover	Ident	Accession
PD1-5	*Galactomyces candidum* genes for ITS1, 5.8S rRNA, ITS2, partial and complete sequence, isolate: MS2-AS	510	510	99%	100%	LC032055.1
PD1-8	*Fusarium solani* isolate NPF 1 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence	1094	1094	100%	99%	KY022522.1
PD1-11	*Galactomyces candidum* isolate Tom1 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	424	424	99%	99%	KF298071.1
PD2-1	*Fusarium solani* f. sp. phaseoli (NRRL 22275) DNA, internal transcribed spacer and 28S ribosomal RNA (28S rRNA) gene	1884	1884	98%	99%	L36634.1
PD2-2	*Phytophthora palmivora* clone WPC7090B305 internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence	1454	1454	100%	100%	FJ801962.1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง ข-1(ต่อ) เปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อราก่อโรคที่คัดแยกได้จากฐานข้อมูล GenBank

Isolate	Description	Max score	Total score	Query cover	Ident	Accession
PD2-4	*Phytophthora palmivora* (isolate P80) 18S ribosomal RNA (18S rRNA), 5.8S ribosomal RNA (5.8S rRNA), and 28S ribosomal RNA (28S rRNA) genes	1423	1423	100%	100%	L41384.1
PD2-6	*Fusarium solani* genes for 18S rRNA, ITS1, 5.8S rRNA, ITS2, 28S rRNA, partial and complete sequence, strain: MAFF 239038	1203	1616	100%	100%	AB587014.1
PD2-16	*Phytophthora palmivora* isolate Ph110 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and internal transcribed spacer 2, partial sequence	1330	1330	100%	100%	MF992173.1
P1	*Galactomyces candidum* gene for 18S rRNA, partial sequence, isolate: MS2-AS	946	946	100%	99%	LC032043.1
DS115	*Fusarium solani* strain CL12 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	979	979	99%	99%	KX497027.1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง ข-1(ต่อ) เปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อราก่อโรคที่คัดแยกได้จากฐานข้อมูล GenBank

Isolate	Description	Max score	Total score	Query cover	Ident	Accession
DF008	*Phytophthora palmivora* strain CBS 1113.46, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	1609	1609	99%	99%	KY475633.1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค

ข้อมูลดิบผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. palmivora*

ตารางที่ ค-1 ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. palmivora* ไอโซเลท PD2-2 โดยสารสกัดจากสมุนไพรที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

สารสกัด	จำนวนซ้ำ	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อ *P. palmivora* ไอโซเลท PD2-2 (มิลลิเมตร)				
		ระดับความความเข้มข้น (พีพีเอ็ม)				
		5,000	10,000	15,000	20,000	25,000
1.กระชาย	1	10.50	7.31	5.2	4.01	3.00
	2	11.07	8.11	5.66	3.00	3.00
	3	10.89	8.06	5.47	3.00	3.00
	ค่าเฉลี่ย	10.82	7.82	5.44	3.33	3.00
2.ขมิ้นชัน	1	4.06	4.36	3.00	3.00	3.00
	2	5.12	4.67	3.00	3.00	3.00
	3	4.96	4.51	3.00	3.00	3.00
	ค่าเฉลี่ย	4.71	4.51	3.00	3.00	3.00
3.หัวแห้วหมู	1	37.26	38.02	32.17	24.30	10.25
	2	38.01	36.15	31.36	25.61	9.57
	3	37.44	37.11	24.30	24.77	9.88
	ค่าเฉลี่ย	37.57	37.09	29.27	24.89	9.90
4.สบู่เลือด	1	15.44	8.17	3.00	3.00	3.00
	2	14.3	8.77	3.00	3.00	3.00
	3	15.02	8.36	3.00	3.00	3.00
	ค่าเฉลี่ย	14.92	8.43	3.00	3.00	3.00

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค-1(ต่อ) ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. palmivora* ไอโซเลท PD2-2 โดยสารสกัดจากสมุนไพรที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

สารสกัด	จำนวนซ้ำ	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อ *P. palmivora* ไอโซเลท PD2-2 (มิลลิเมตร)				
		ระดับความความเข้มข้น (พีพีเอ็ม)				
		5,000	10,000	15,000	20,000	25,000
5.ว่านอัคคีทวาร	1	52.61	42.33	38.61	35.26	29.36
	2	50.20	43.67	37.73	32.41	28.67
	3	51.15	42.56	37.32	32.56	32.23
	ค่าเฉลี่ย	51.32	42.85	37.88	33.41	30.08
6.เปลือกมังคุด	1	20.67	14.32	8.79	4.41	4.75
	2	22.05	13.61	7.51	4.06	4.01
	3	21.46	13.92	7.84	4.11	3.00
	ค่าเฉลี่ย	21.39	13.95	8.04	4.19	3.92
7.เมล็ดมะรุม	1	30.61	29.36	20.67	14.36	14.3
	2	32.67	28.8	21.33	13.21	13.09
	3	31.55	28.42	20.65	14.74	13.54
	ค่าเฉลี่ย	31.61	28.86	20.88	14.10	13.64
8.ไพล	1	7.32	7.03	6.32	5.32	3.00
	2	7.79	6.93	6.67	3.00	3.00
	3	7.30	6.85	5.75	3.00	3.00
	ค่าเฉลี่ย	7.47	6.93	6.24	3.77	3.00
ชุดควบคุมเชิงบวก	1	3.00				
	2	3.00				
	3	3.00				
	ค่าเฉลี่ย	3.00				
ชุดควบคุมเชิงลบ	1	52.04				
	2	52.04				
	3	52.04				
	ค่าเฉลี่ย	52.04				

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค-2 ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. palmivora* ไอโซเลท PD2-4 โดยสารสกัดจากสมุนไพรที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

สารสกัด	จำนวนซ้ำ	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อ *P. palmivora* ไอโซเลท PD2-4 (มิลลิเมตร)				
		ระดับความความเข้มข้น (พีพีเอ็ม)				
		5,000	10,000	15,000	20,000	25,000
1.กระชาย	1	4.36	6.31	5.44	4.2	3.00
	2	6.73	5.56	4.31	3.51	3.00
	3	5.54	5.2	4.26	3.64	3.00
	ค่าเฉลี่ย	5.54	5.69	4.67	3.78	3.00
2.ขมิ้นชัน	1	10.07	8.36	5.5	3.00	3.00
	2	9.61	9.73	5.06	3.00	3.00
	3	9.87	8.56	4.25	3.00	3.00
	ค่าเฉลี่ย	9.85	8.88	4.93	3.00	3.00
3.หัวแห้วหมู	1	35.07	32.3	27.66	11.36	7.3
	2	32.67	30.37	25.6	13.7	7.52
	3	33.41	30.56	26.34	12.56	6.59
	ค่าเฉลี่ย	33.71	31.07	26.53	12.54	7.13
4.สบู่เลือด	1	22.31	8.56	4.36	3.00	3.00
	2	25.72	8.73	5.77	3.00	3.00
	3	23.64	8.35	4.21	3.00	3.00
	ค่าเฉลี่ย	23.89	8.54	4.78	3.00	3.00

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค-2 (ต่อ) ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. palmivora* ไอโซเลท PD2-4 โดยสารสกัดจากสมุนไพรที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

สารสกัด	จำนวนซ้ำ	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อ *P. palmivora.* ไอโซเลท PD2-4 (มิลลิเมตร)				
		ระดับความความเข้มข้น (พีพีเอ็ม)				
		5,000	10,000	15,000	20,000	25,000
5.ว่านอัคคีทวาร	1	45.36	41.30	35.61	31.33	27.20
	2	42.30	40.69	35.55	30.05	25.25
	3	42.78	40.55	35.44	31.14	26.17
	ค่าเฉลี่ย	43.48	40.84667	35.53333	30.84	26.20667
6.เปลือกมังคุด	1	16.13	15.01	10.22	6.31	3.00
	2	13.32	14.30	10.05	5.50	3.00
	3	14.55	14.25	10.61	6.05	4.11
	ค่าเฉลี่ย	14.66	14.52	10.29	5.95	3.37
7.เมล็ดมะรุม	1	35.67	35.02	24.37	17.38	17.67
	2	34.40	32.67	20.67	18.14	16.10
	3	35.67	33.15	21.15	17.91	16.02
	ค่าเฉลี่ย	35.24	33.61	22.06	17.81	16.59
8.ไพล	1	11.67	8.7	5.63	4.55	4.13
	2	12.71	7.32	5.23	4.12	4.05
	3	11.45	7.54	5.18	4.26	3.78
	ค่าเฉลี่ย	11.94	7.85	5.34	4.31	3.98
ชุดควบคุมเชิงบวก	1	3.00				
	2	3.00				
	3	3.00				
	ค่าเฉลี่ย	3.00				
ชุดควบคุมเชิงลบ	1	51.34				
	2	51.34				
	3	51.34				
	ค่าเฉลี่ย	51.34				

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค-3 ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. palmivora* ไอโซเลท PD2-16 โดยสารสกัดจากสมุนไพรที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

สารสกัด	จำนวนซ้ำ	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อ *P. palmivora* ไอโซเลท PD2-16 (มิลลิเมตร)				
		ระดับความความเข้มข้น (พีพีเอ็ม)				
		5,000	10,000	15,000	20,000	25,000
1.กระชาย	1	7.67	5.61	4.71	3.00	3.00
	2	7.93	6.98	4.20	3.24	3.00
	3	8.16	6.02	4.70	4.10	3.00
	ค่าเฉลี่ย	7.92	6.20	4.53	3.44	3.00
2.ขมิ้นชัน	1	10.61	9.71	7.16	5.32	3.00
	2	10.53	9.76	6.92	5.16	3.00
	3	10.01	8.15	6.87	4.76	3.00
	ค่าเฉลี่ย	10.38	9.20	6.98	5.08	3.00
3.หัวแห้วหมู	1	30.71	25.36	16.31	8.70	5.26
	2	31.61	27.18	18.71	8.55	6.63
	3	30.96	27.82	18.03	7.91	6.87
	ค่าเฉลี่ย	31.16	26.27	17.51	8.62	5.94
4.สบู่เลือด	1	10.42	7.53	3.00	3.00	3.00
	2	9.28	7.12	3.00	3.00	3.00
	3	12.31	7.68	4.26	3.00	3.00
	ค่าเฉลี่ย	10.67	7.44	3.42	3.00	3.00

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค-3 (ต่อ) ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. palmivora* ไอโซเลท PD2-16 โดยสารสกัดจากสมุนไพรที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

สารสกัด	จำนวนซ้ำ	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อ *P. palmivora* ไอโซเลท PD2-16 (มิลลิเมตร) ระดับความความเข้มข้น (พีพีเอ็ม)				
		5,000	10,000	15,000	20,000	25,000
5.ว่านอัคคีทวาร	1	46.81	38.13	29.67	21.62	17.82
	2	47.12	39.27	28.28	18.16	15.67
	3	43.46	38.81	28.90	19.42	15.14
	ค่าเฉลี่ย	45.79	38.73	28.95	19.73	16.21
6.เปลือกมังคุด	1	18.62	15.56	11.78	5.67	3.00
	2	16.05	15.97	10.89	6.31	3.00
	3	17.55	13.21	10.06	4.20	3.00
	ค่าเฉลี่ย	17.40	14.91	10.91	5.39	3.00
7.เมล็ดมะรุม	1	39.6	28.26	21.36	18.15	15.61
	2	38.12	29.7	23.4	17.33	16.17
	3	38.06	28.14	23.02	18.86	13.22
	ค่าเฉลี่ย	38.59	28.70	22.59	18.11	15.00
8.ไพล	1	10.36	9.77	5.31	3.00	3.00
	2	11.44	8.62	4.84	3.00	3.00
	3	10.17	8.46	4.32	3.00	3.00
	ค่าเฉลี่ย	10.65	8.95	4.82	3.00	3.00
ชุดควบคุมเชิงบวก	1	3.00				
	2	3.00				
	3	3.00				
	ค่าเฉลี่ย	3.00				
ชุดควบคุมเชิงลบ	1	52.31				
	2	52.31				
	3	52.31				
	ค่าเฉลี่ย	52.31				

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค-4 ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. palmivora* ไอโซเลท DF008 โดยสารสกัดจากสมุนไพรที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

สารสกัด	จำนวนซ้ำ	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อ *P. palmivora* ไอโซเลท DF008 (มิลลิเมตร)				
		ระดับความความเข้มข้น (พีพีเอ็ม)				
		5,000	10,000	15,000	20,000	25,000
1.กระชาย	1	6.6	5.21	3.40	3.00	3.00
	2	6.75	5.25	3.50	3.00	3.00
	3	6.82	5.63	3.62	3.00	3.00
	ค่าเฉลี่ย	6.72	5.36	3.50	3.00	3.00
2.ขมิ้นชัน	1	8.48	6.19	3.00	3.00	3.00
	2	8.41	5.32	3.00	3.00	3.00
	3	8.33	6.01	3.00	3.00	3.00
	ค่าเฉลี่ย	8.40	5.84	3.00	3.00	3.00
3.หัวแห้วหมู	1	39.51	37.62	34.24	25.73	17.36
	2	39.46	38.37	34	25.37	12.46
	3	39.5	37.54	35.14	24.01	13.57
	ค่าเฉลี่ย	39.49	37.84	34.46	25.03	14.46
4.สบู่เลือด	1	30.20	14.34	3.00	3.00	3.00
	2	27.44	13.95	3.00	3.00	3.00
	3	28.21	14.08	3.00	3.00	3.00
	ค่าเฉลี่ย	28.61	14.12	3.00	3.00	3.00

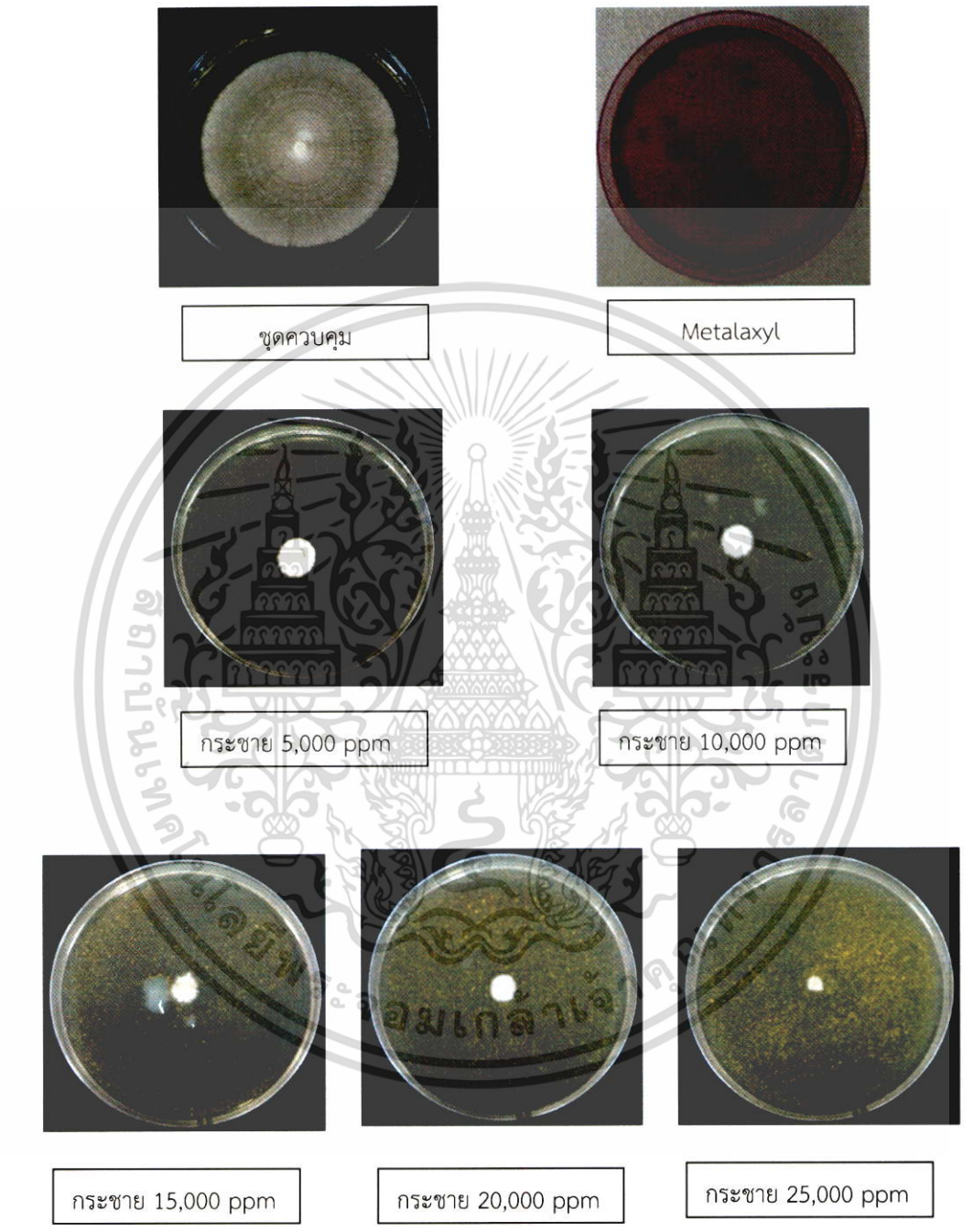
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค-4 (ต่อ) ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. palmivora* ไอโซเลท DF008 โดยสารสกัดจากสมุนไพรที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

สารสกัด	จำนวนซ้ำ	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อ *P. palmivora* ไอโซเลท DF008 (มิลลิเมตร) ระดับความความเข้มข้น (พีพีเอ็ม)				
		5,000	10,000	15,000	20,000	25,000
5.ว่านอัคคีทวาร	1	53.37	50.29	44.01	37.97	34.63
	2	52.10	49.10	43.16	41.61	36.32
	3	52.86	50.12	43.55	40.69	33.21
	ค่าเฉลี่ย	52.77	49.83	43.57	40.09	34.72
6.เปลือกมังคุด	1	20.99	18.73	10.95	6.54	3.52
	2	19.55	17.97	10.68	6.09	3.76
	3	20.31	18.12	11.03	5.98	3.21
	ค่าเฉลี่ย	20.28	18.27	10.88	6.20	3.49
7.เมล็ดมะรุม	1	41.47	47.57	34.92	25.85	21.42
	2	43.92	48.1	32.2	25.63	20.61
	3	42.58	47.36	33.46	26.14	20.98
	ค่าเฉลี่ย	42.65	47.67	33.52	25.87	21.00
8.ไพล	1	7.94	7.14	4.32	3.00	3.00
	2	7.91	6.91	3.71	3.00	3.00
	3	7.65	6.87	3.79	3.00	3.00
	ค่าเฉลี่ย	7.83	6.97	3.94	3.00	3.00
ชุดควบคุมเชิงบวก	1	3.00				
	2	3.00				
	3	3.00				
	ค่าเฉลี่ย	3.00				
ชุดควบคุมเชิงลบ	1	53.22				
	2	53.22				
	3	53.22				
	ค่าเฉลี่ย	53.22				

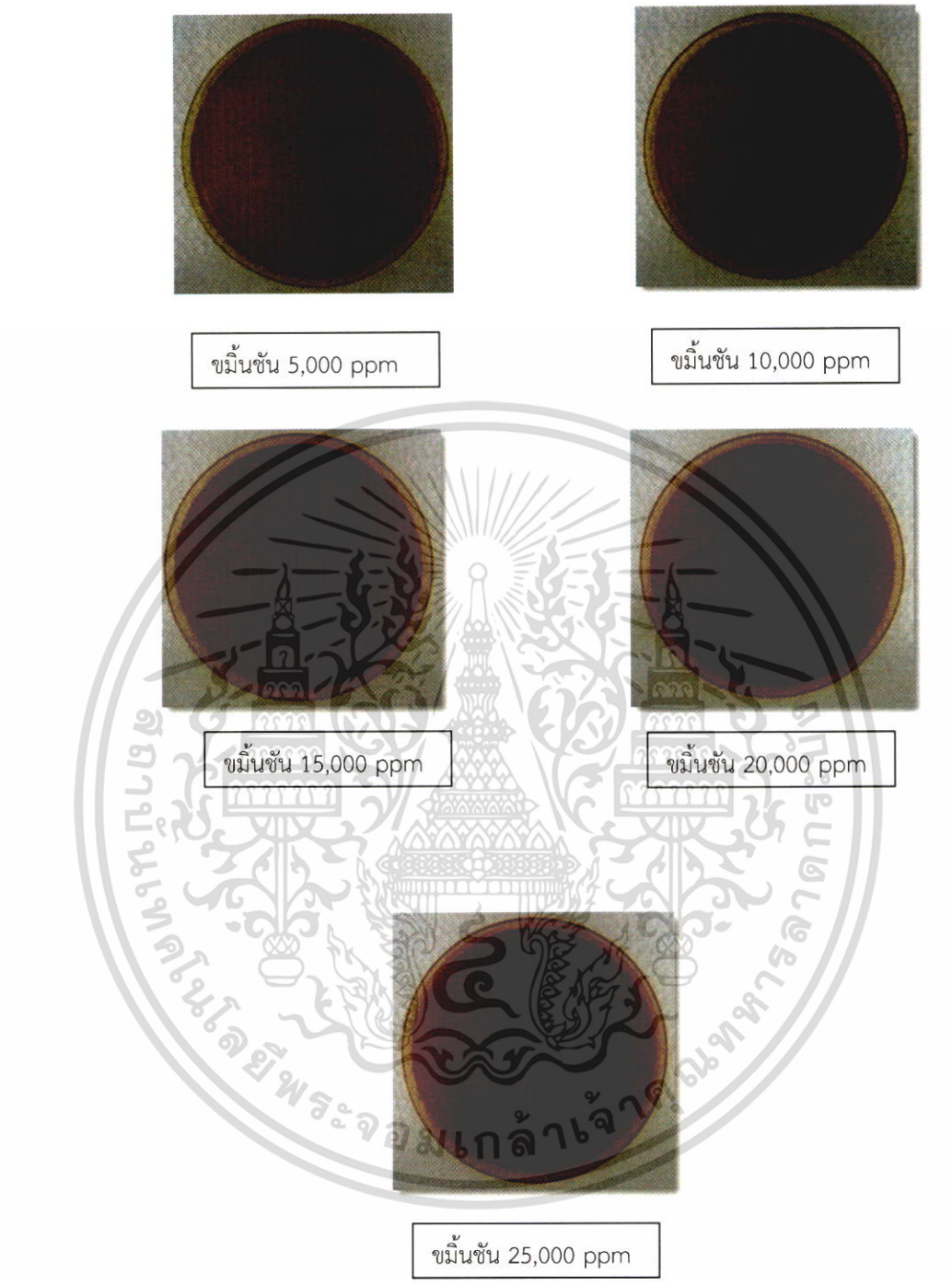
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง
รูปแสดงผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. palmivora*



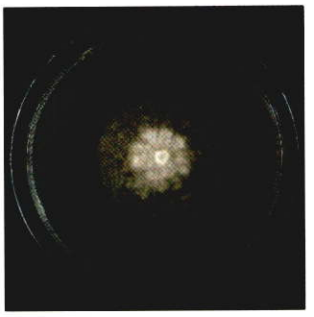
รูปที่ ง-1 ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. palmivora* ไอโซเลท PD2-2 โดยสารสกัดจากกระชายที่ระดับความเข้มข้นต่างๆและชุดควบคุม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

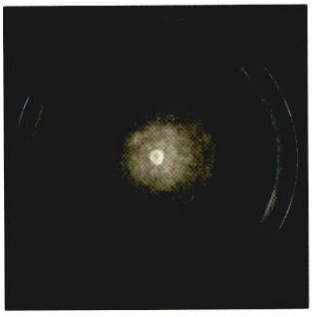


รูปที่ ง-2 ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. palmivora* ไอโซเลท PD2-2 โดยสารสกัดจากขมิ้นชันที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

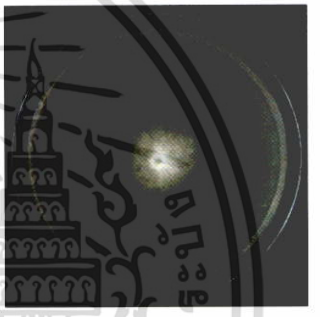


หัวแห้วหมู 5,000 ppm



หัวแห้วหมู 10,000 ppm

หัวแห้วหมู 15,000 ppm

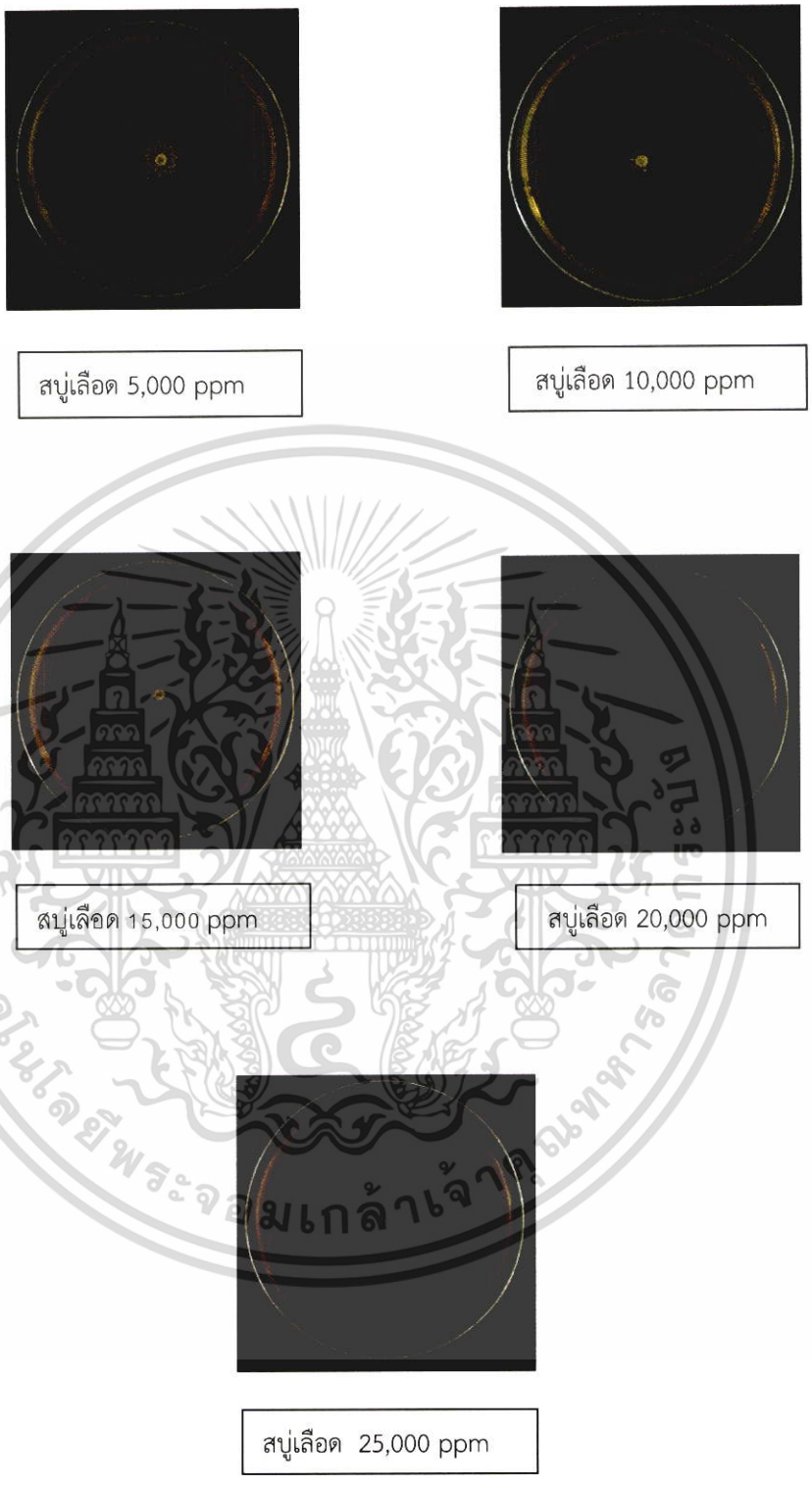


หัวแห้วหมู 20,000 ppm

หัวแห้วหมู 25,000 **ppm**

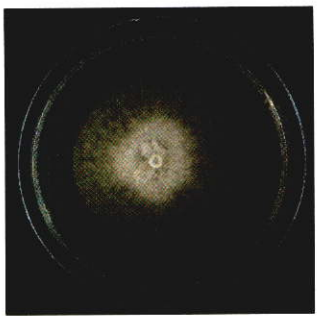
รูปที่ ง-3 ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. palmivora* ไอโซเลท PD2-2 โดยสารสกัดจากหัวแห้วหมูที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

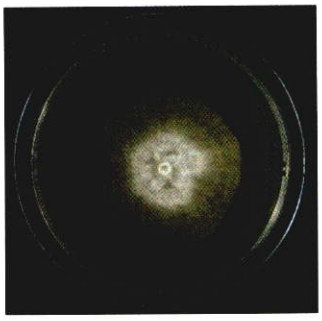


รูปที่ ง-4 ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. palmivora* ไอโซเลท PD2-2 โดยสารสกัดจากสบู่เลือดที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

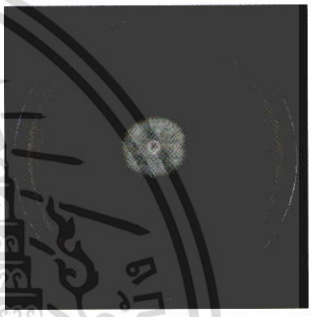


ว่านอัคคีทวาร 5,000 ppm

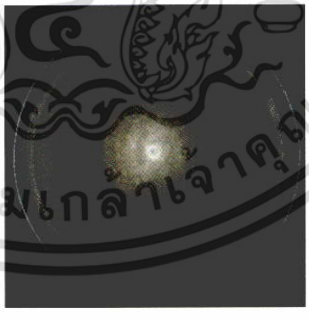


ว่านอัคคีทวาร 10,000 ppm

ว่านอัคคีทวาร 15,000 ppm



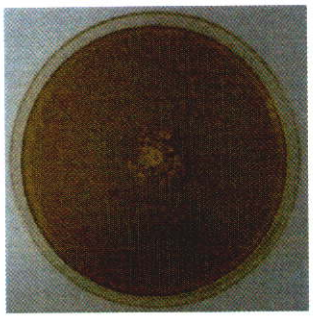
ว่านอัคคีทวาร 20,000 ppm



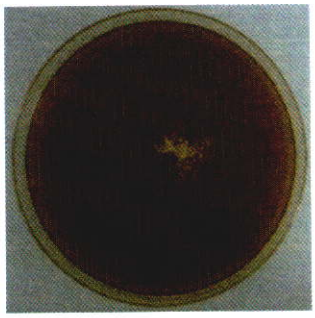
ว่านอัคคีทวาร 25,000 ppm

รูปที่ ง-5 ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. palmivora* ไอโซเลท PD2-2 โดยสารสกัดจากว่านอัคคีทวารที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

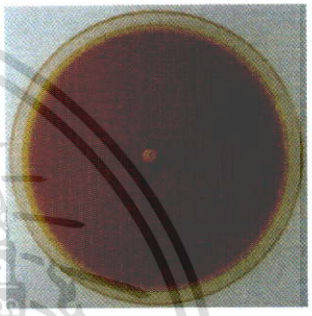


เปลือกมังคุด 5,000 ppm



เปลือกมังคุด 10,000 ppm

เปลือกมังคุด 15,000 ppm

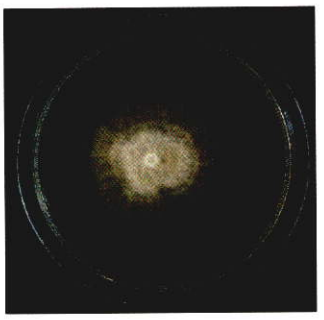


เปลือกมังคุด 20,000 ppm

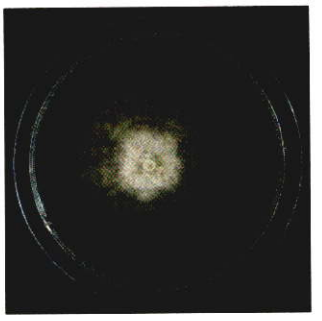
เปลือกมังคุด 25,000 ppm

รูปที่ ง-6 ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. palmivora* ไอโซเลท PD2-2 โดยสารสกัดจากเปลือกมังคุดที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

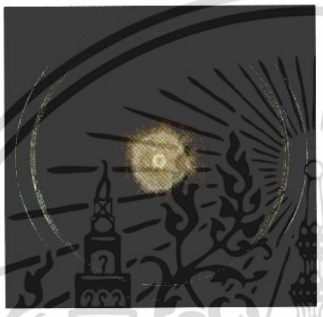
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



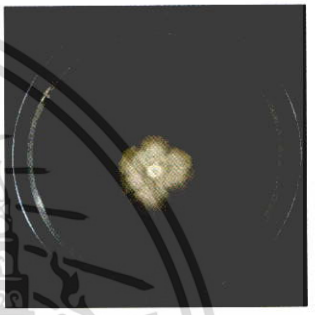
เมล็ดมะรุม 5,000 ppm



เมล็ดมะรุม 10,000 ppm



เมล็ดมะรุม 15,000 ppm



เมล็ดมะรุม 20,000 ppm

เมล็ดมะรุม 25,000 ppm

รูปที่ ง-7 ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. palmivora* ไอโซเลท PD2-2 โดยสารสกัดจากเมล็ดมะรุมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไพล 5,000 ppm

ไพล 10,000 ppm

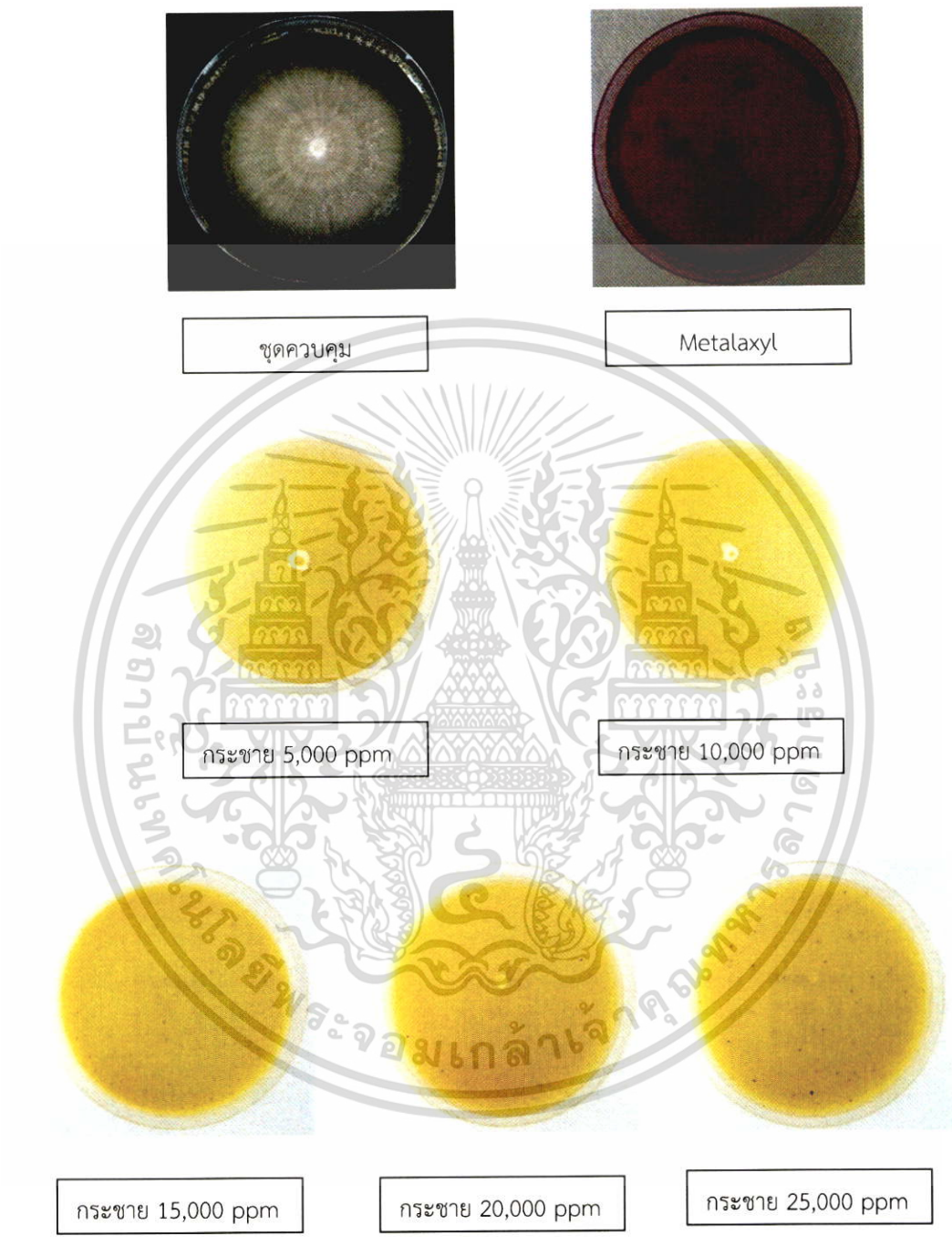
ไพล 15,000 ppm

ไพล 20,000 ppm

ไพล 25,000 ppm

รูปที่ ง-8 ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. palmivora* ไอโซเลท PD2-2 โดยสารสกัดจากไพลที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

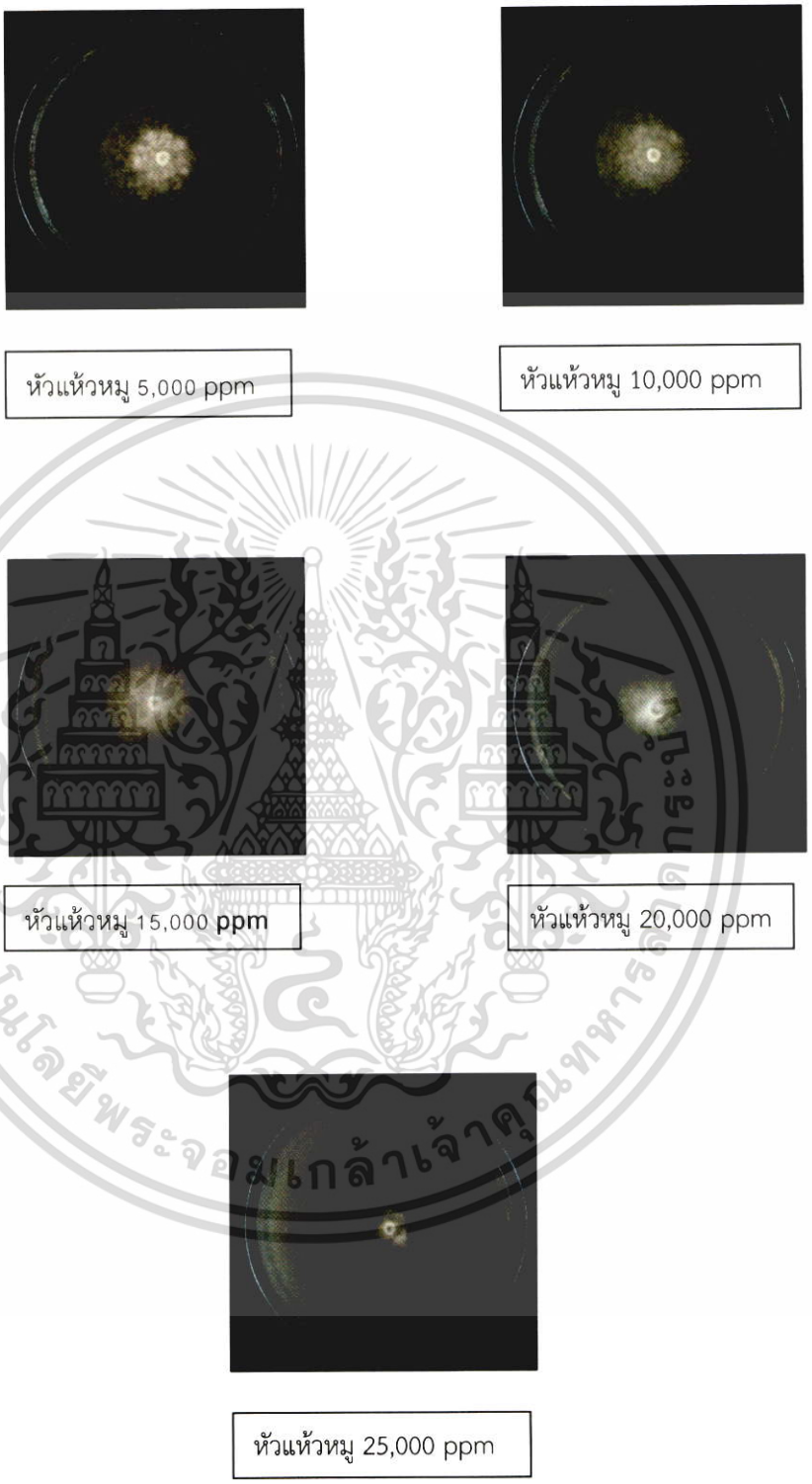


รูปที่ ง-9 ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. palmivora* ไอโซเลท PD2-4 โดยสารสกัดจากกระชายที่ระดับความเข้มข้นต่างๆและชุดควบคุม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

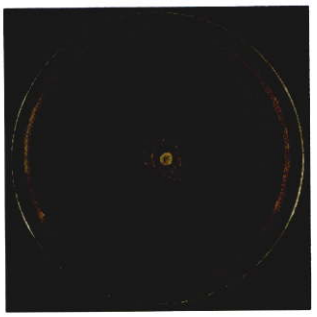
รูปที่ ง-10 ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. palmivora* ไอโซเลท PD2-4 โดยสารสกัดจากขมิ้นชันที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

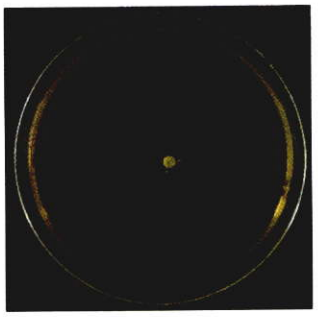


รูปที่ ง-11 ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. palmivora* ไอโซเลท PD2-4 โดยสารสกัดจากหัวแห้วหมูที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



สบู่เลือด 5,000 ppm



สบู่เลือด 10,000 ppm

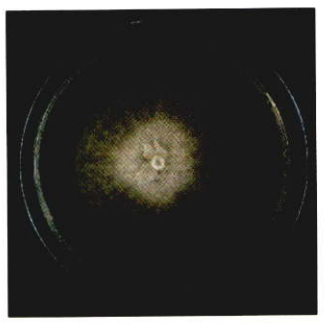
สบู่เลือด 15,000 ppm

สบู่เลือด 20,000 ppm

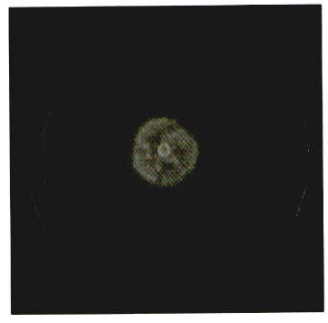
สบู่เลือด 25,000 ppm

รูปที่ ง-12 ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. palmivora* ไอโซเลท PD2-4 โดยสารสกัดจากสบู่เลือดที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

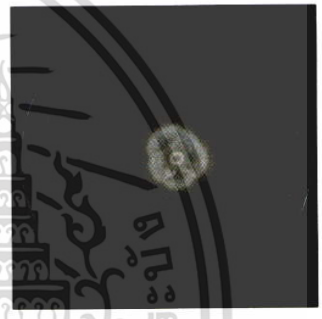


ว่านอัคคีทวาร 5,000 ppm



ว่านอัคคีทวาร 10,000 ppm

ว่านอัคคีทวาร 15,000 ppm

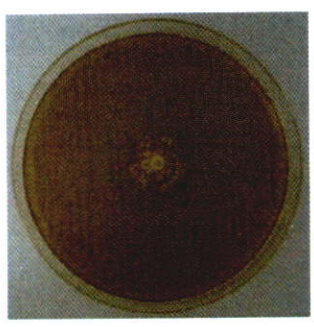


ว่านอัคคีทวาร 20,000 ppm

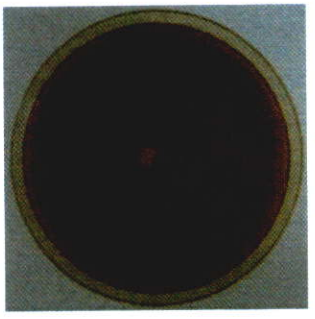
ว่านอัคคีทวาร 25,000 ppm

รูปที่ ง-13 ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. palmivora* ไอโซเลท PD2-4 โดยสารสกัดจากว่านอัคคีทวารที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เปลือกมังคุด 5,000 ppm



เปลือกมังคุด 10,000 ppm

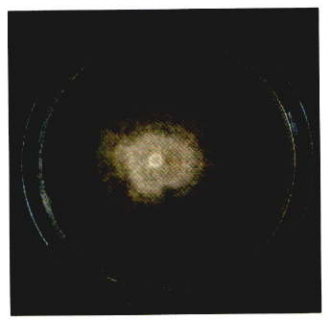
เปลือกมังคุด 15,000 ppm

เปลือกมังคุด 20,000 ppm

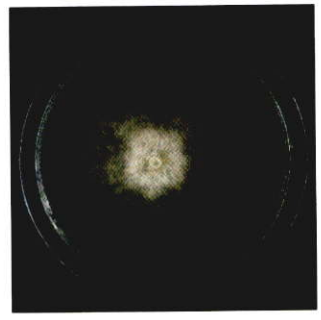
เปลือกมังคุด 25,000 ppm

รูปที่ ง-14 ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. palmivora* ไอโซเลท PD2-4 โดยสารสกัดจากเปลือกมังคุดที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

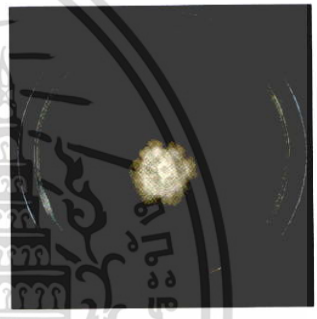


เมล็ดมะรุม 5,000 ppm

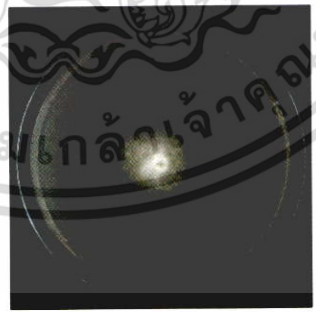


เมล็ดมะรุม 10,000 ppm

เมล็ดมะรุม 15,000 ppm



เมล็ดมะรุม 20,000 ppm

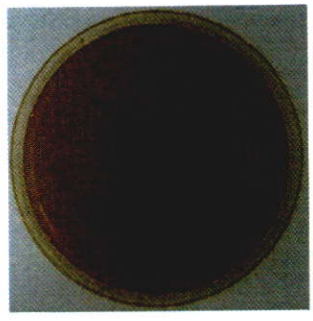


เมล็ดมะรุม 25,000 ppm

รูปที่ ง-15 ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. palmivora* ไอโซเลท PD2-4 โดยสารสกัดจากเมล็ดมะรุมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไพล 5,000 ppm



ไพล 10,000 ppm

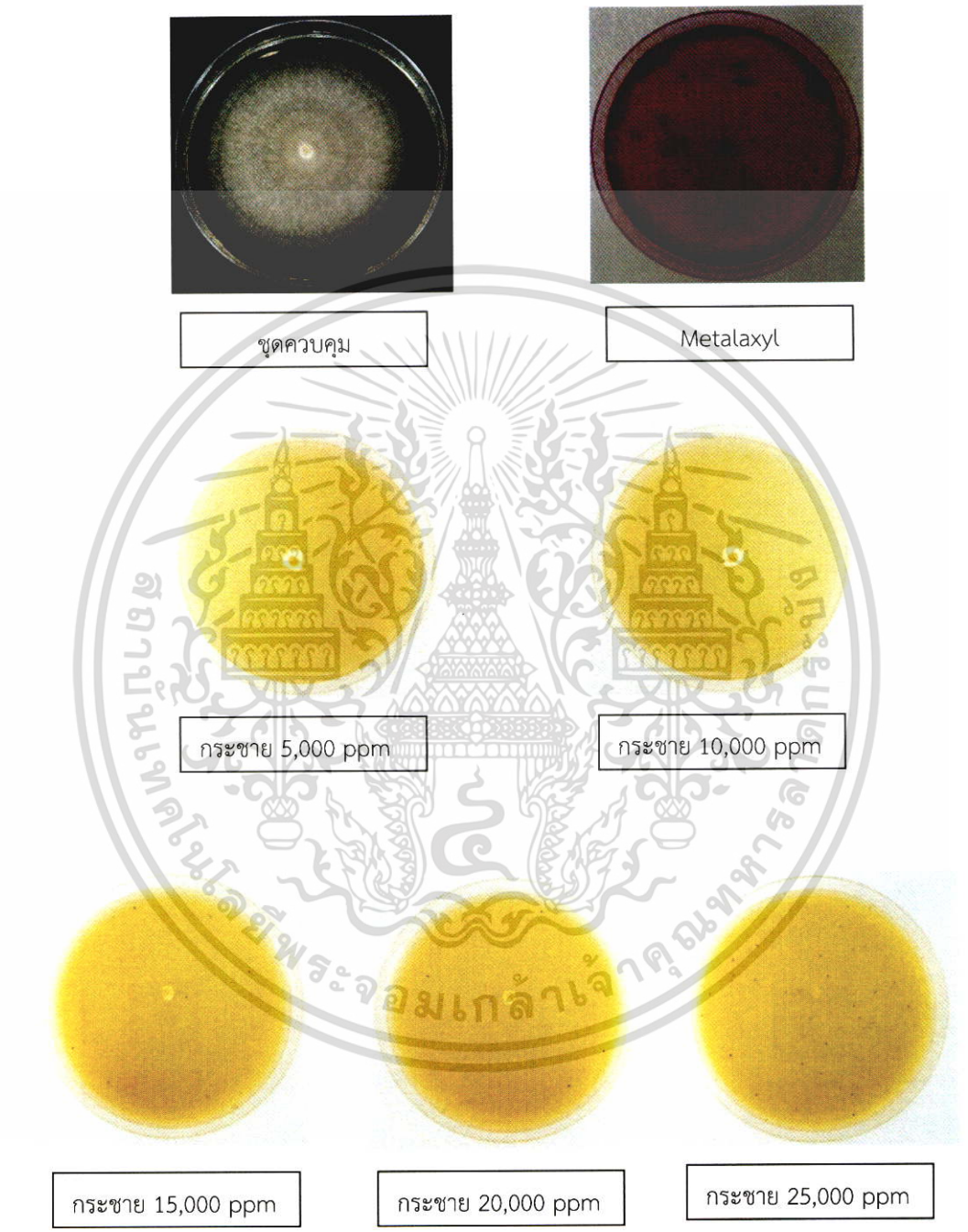
ไพล 15,000 ppm

ไพล 20,000 ppm

ไพล 25,000 ppm

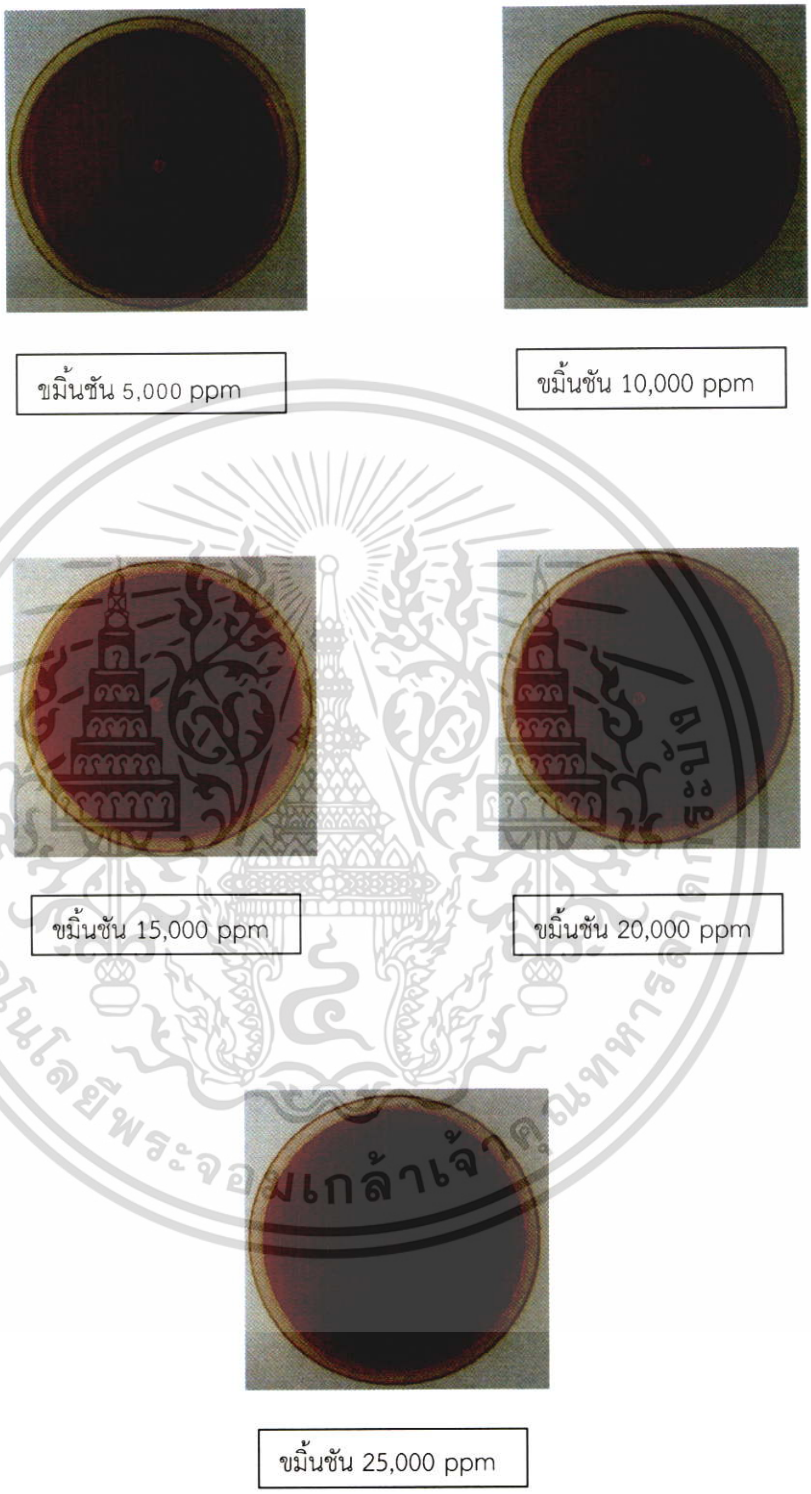
รูปที่ ง-16 ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. palmivora* ไอโซเลท PD2-4 โดยสารสกัดจากไพลที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



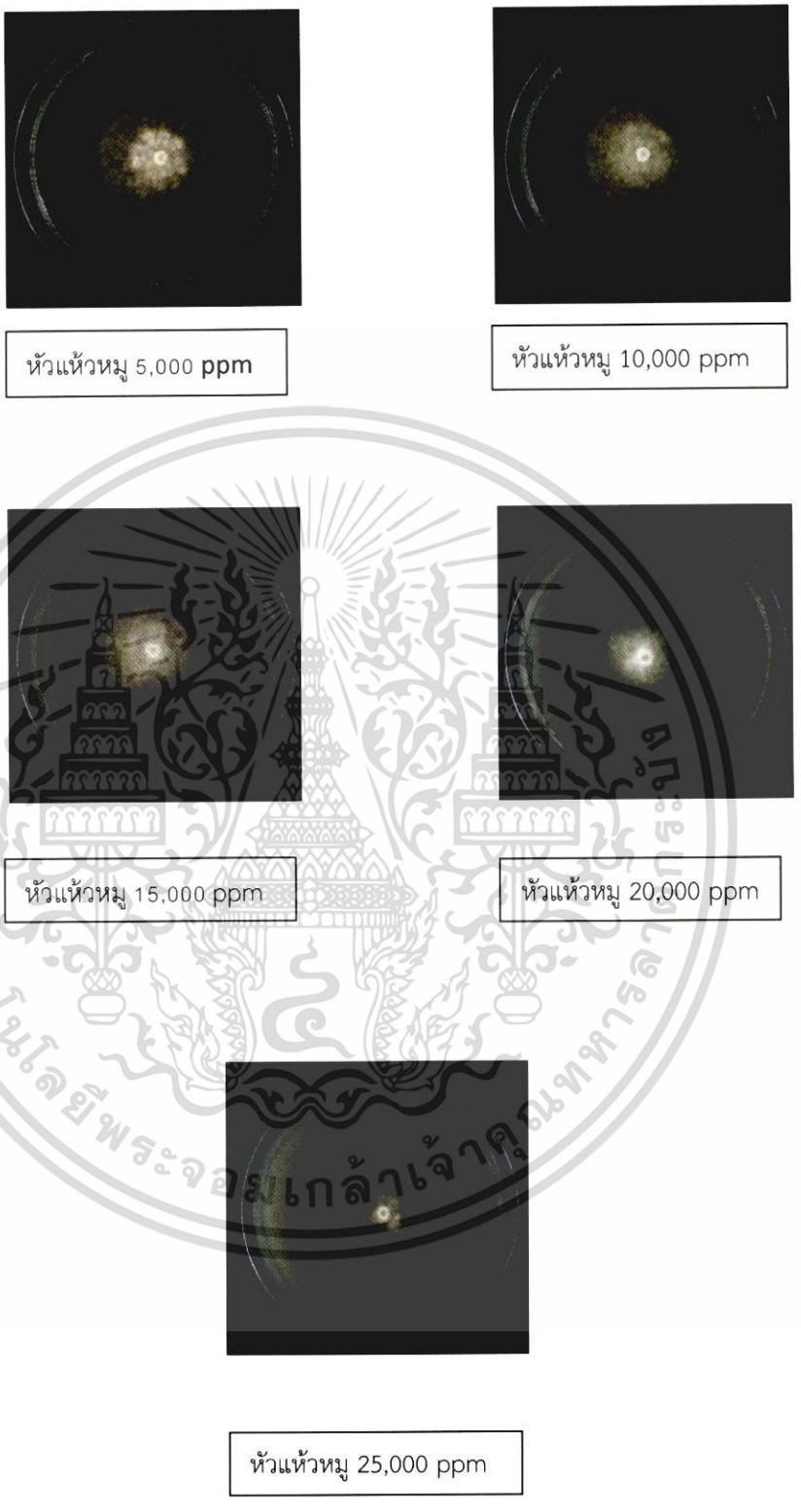
รูปที่ ง-17 ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. palmivora* ไอโซเลท PD2-16 โดยสารสกัดจากกระชายที่ระดับความเข้มข้นต่างๆและชุดควบคุม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



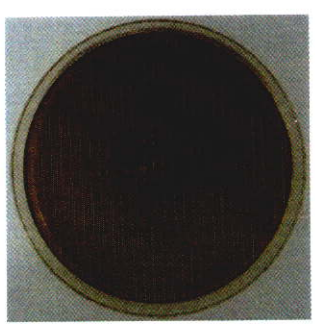
รูปที่ ง-18 ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. palmivora* ไอโซเลท PD2-16 โดยสารสกัดจากขมิ้นชันที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

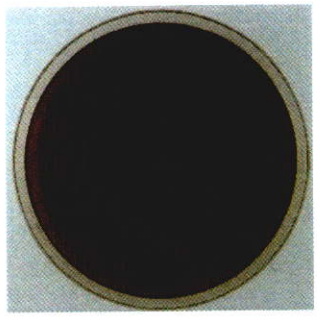


รูปที่ ง-19 ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. palmivora* ไอโซเลท PD2-16 โดยสารสกัดจากหัวแห้วหมูที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



สบู่เลือด 5,000 ppm



สบู่เลือด 10,000 ppm

สบู่เลือด 15,000 ppm

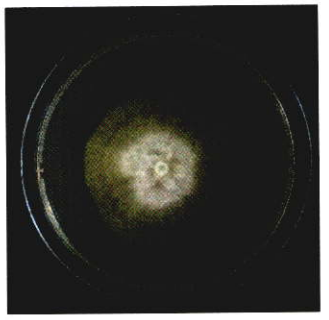
สบู่เลือด 20,000 ppm

สบู่เลือด 25,000 ppm

รูปที่ ง-20 ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. palmivora* ไอโซเลท PD2-16 โดยสารสกัดจากสบู่เลือดที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

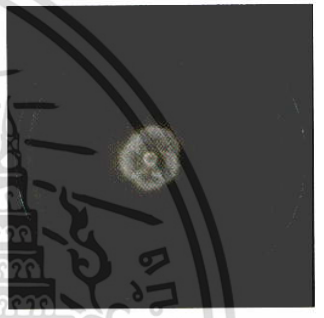
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ว่านอัคคีทวาร 5,000 ppm



ว่านอัคคีทวาร 10,000 ppm

ว่านอัคคีทวาร 15,000 ppm

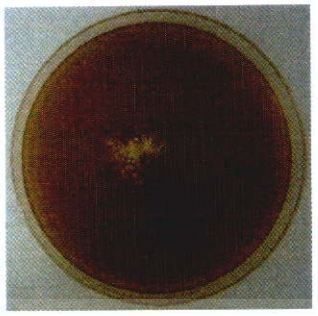


ว่านอัคคีทวาร 20,000 ppm

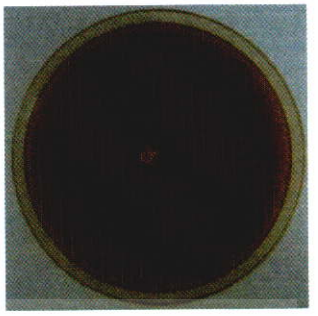
ว่านอัคคีทวาร 25,000 ppm

รูปที่ ง-21 ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. palmivora* ไอโซเลท PD2-16 โดยสารสกัดจากว่านอัคคีทวารที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เปลือกมังคุด 5,000 ppm



เปลือกมังคุด 10,000 ppm

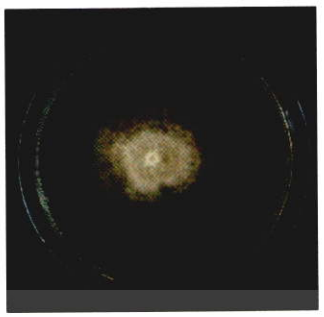
เปลือกมังคุด 15,000 ppm

เปลือกมังคุด 20,000 ppm

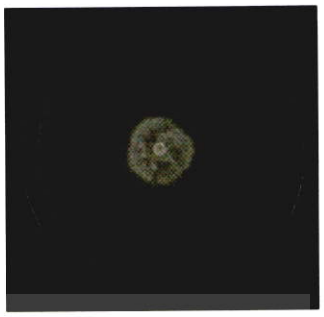
เปลือกมังคุด 25,000 ppm

รูปที่ ง-22 ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. palmivora* ไอโซเลท PD2-16 โดยสารสกัดจากเปลือกมังคุดที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

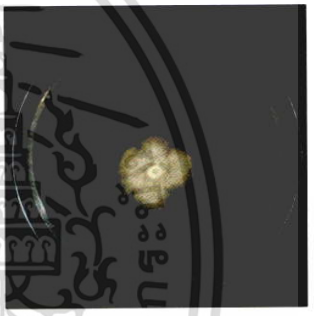


เมล็ดมะรุม 5,000 ppm

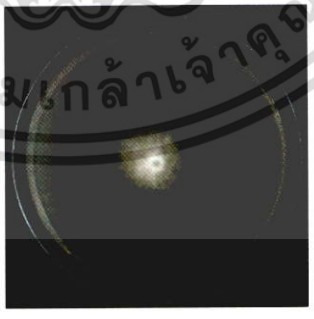


เมล็ดมะรุม 10,000 ppm

เมล็ดมะรุม 15,000 ppm



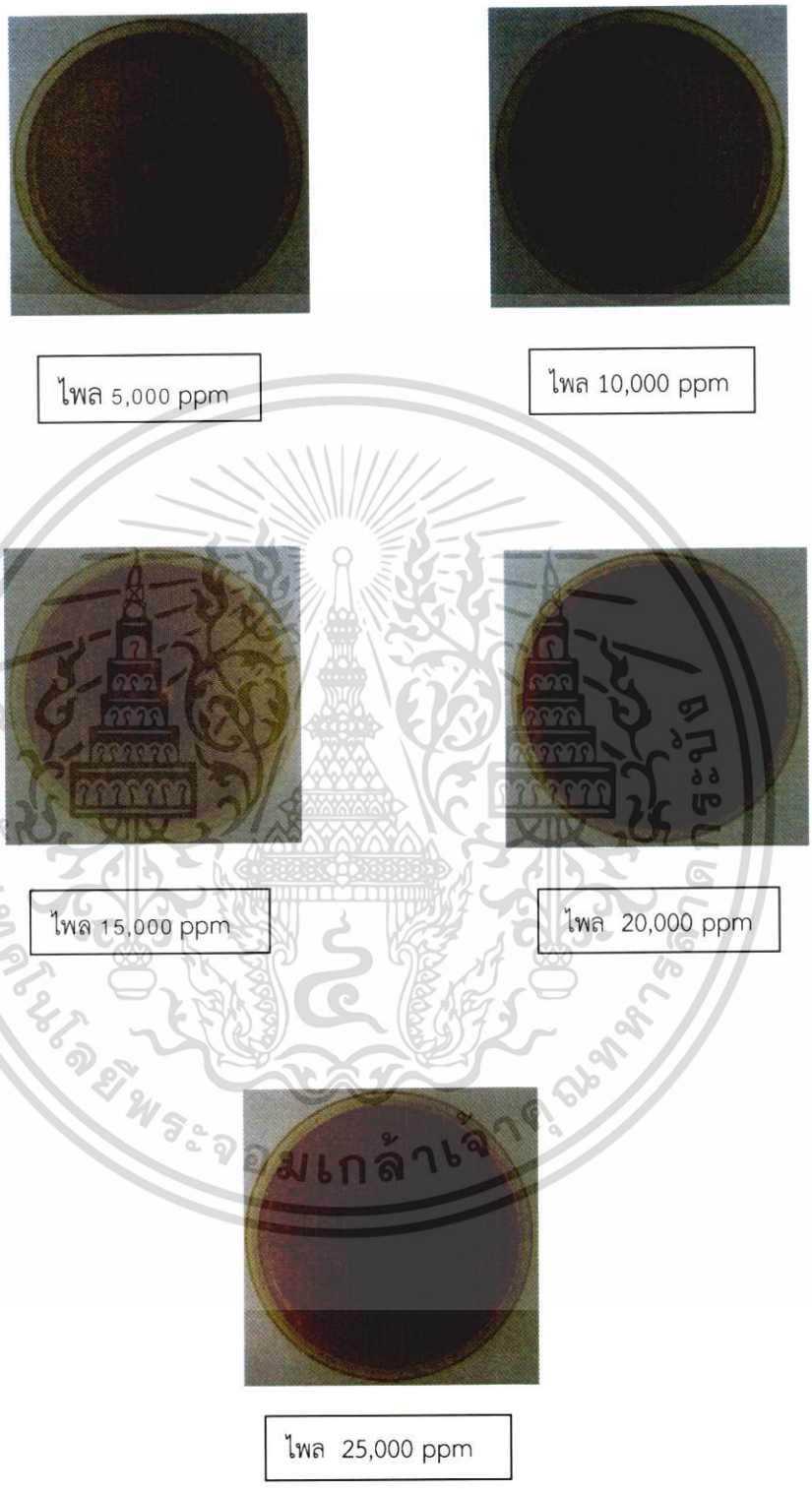
เมล็ดมะรุม 20,000 ppm



เมล็ดมะรุม 25,000 ppm

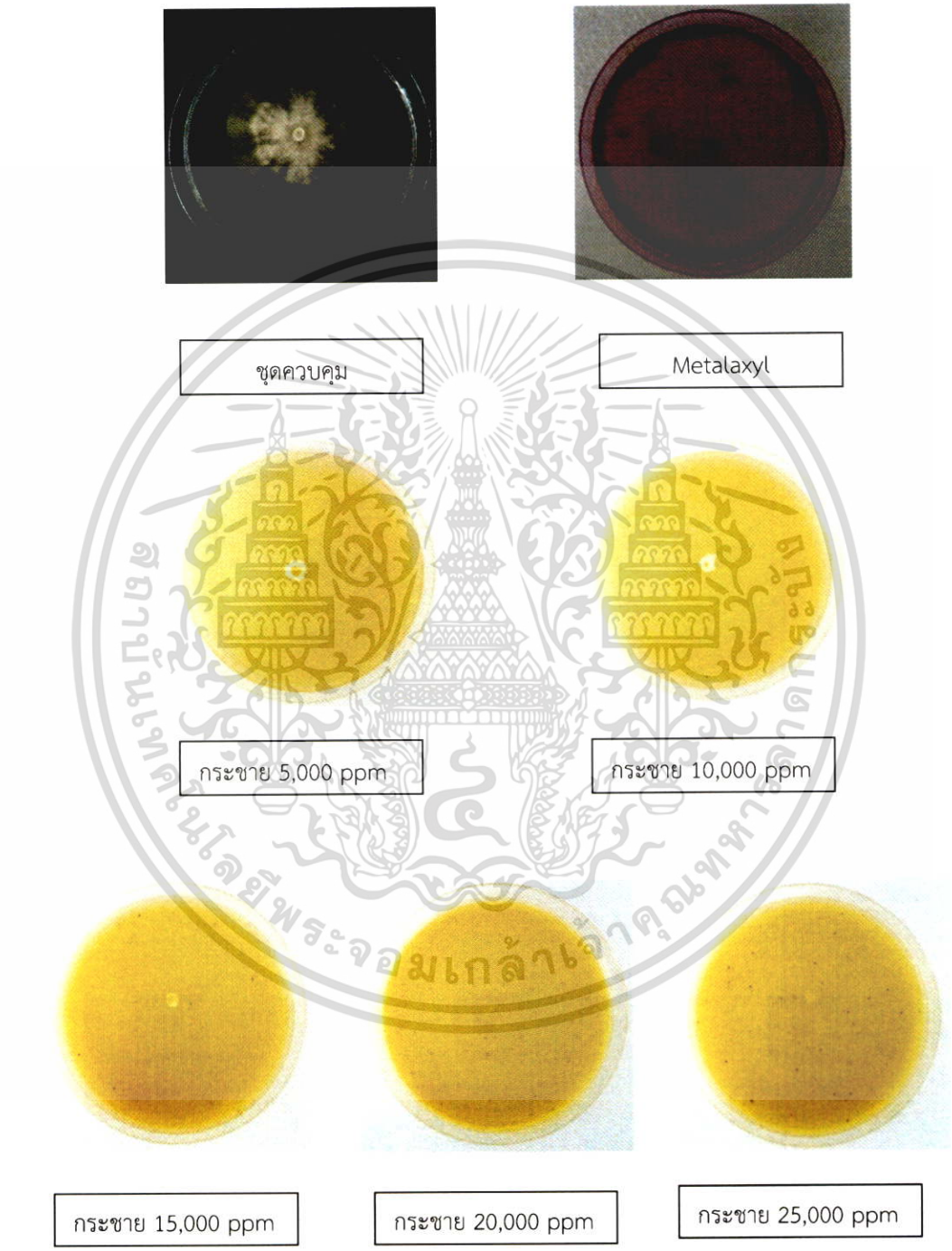
รูปที่ ง-23 ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. palmivora* ไอโซเลท PD2-16 โดยสารสกัดจากเมล็ดมะรุมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



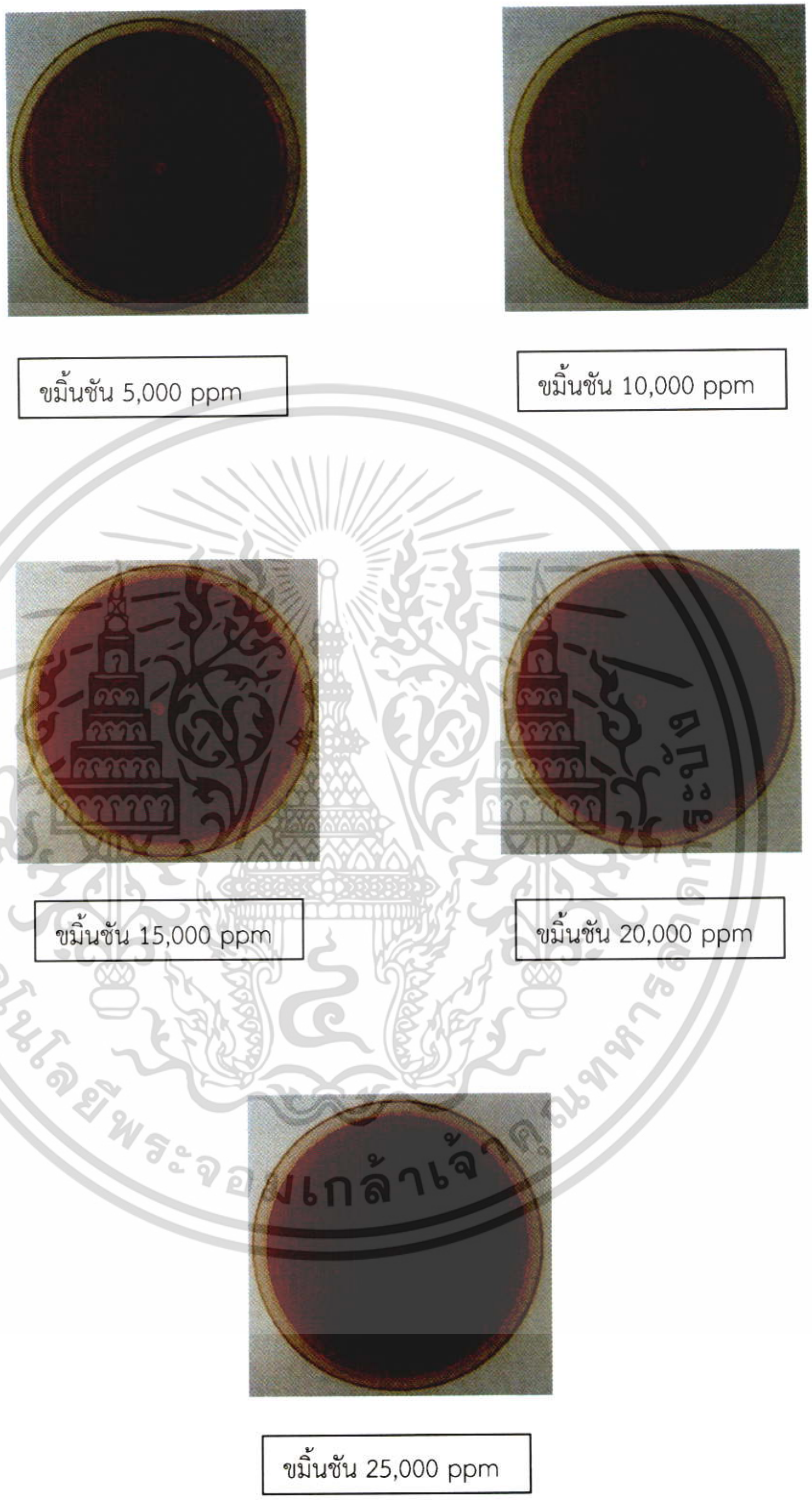
รูปที่ ง-24 ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. palmivora* ไอโซเลท PD2-16 โดยสารสกัดจากไพลที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



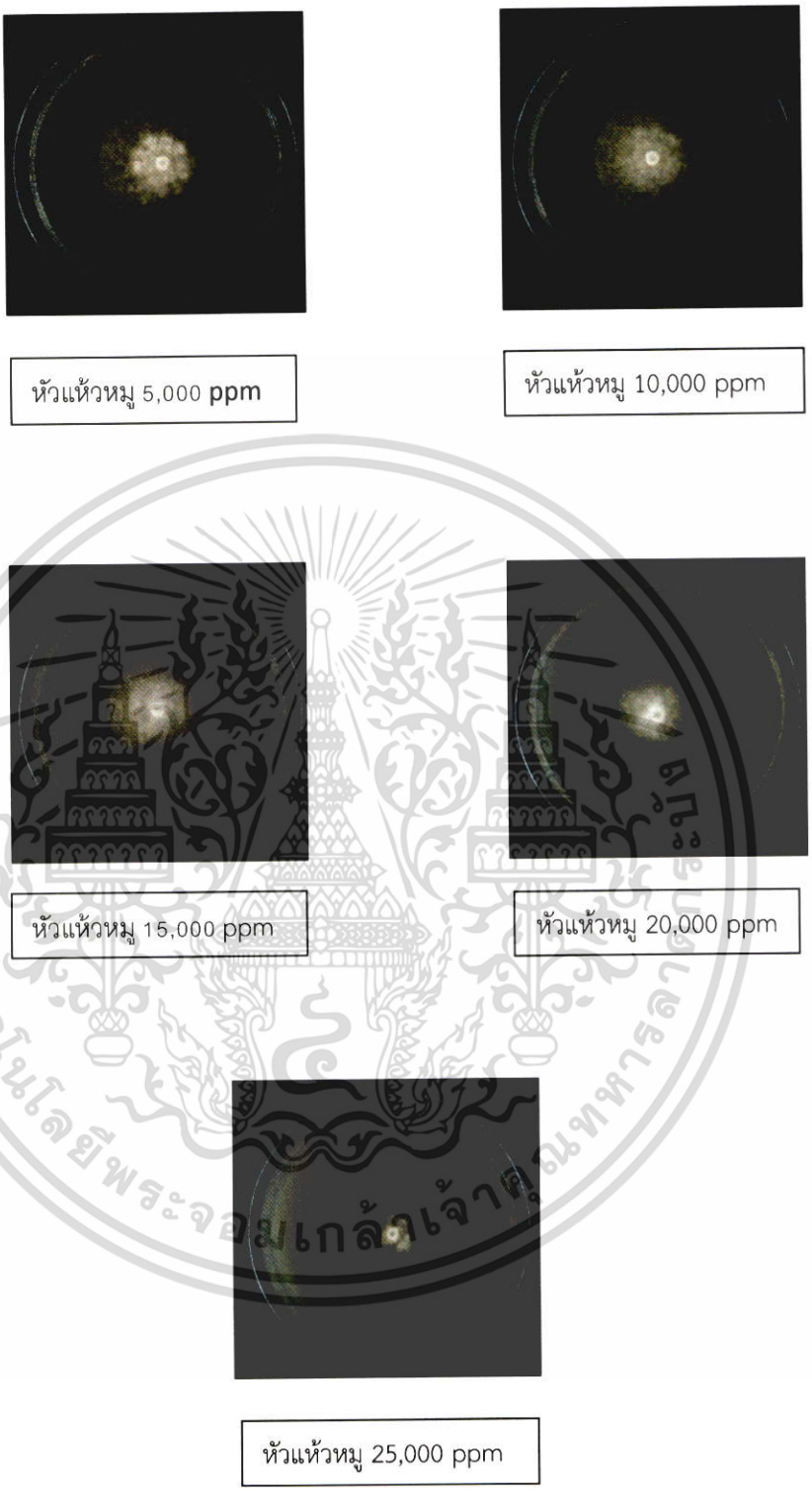
รูปที่ ง-25 ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. palmivora* ไอโซเลท DF008 โดยสารสกัดจากกระชายที่ระดับความเข้มข้นต่างๆและชุดควบคุม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ง-26 ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. palmivora* ไอโซเลท DF008 โดยสารสกัดจากขมิ้นชันที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

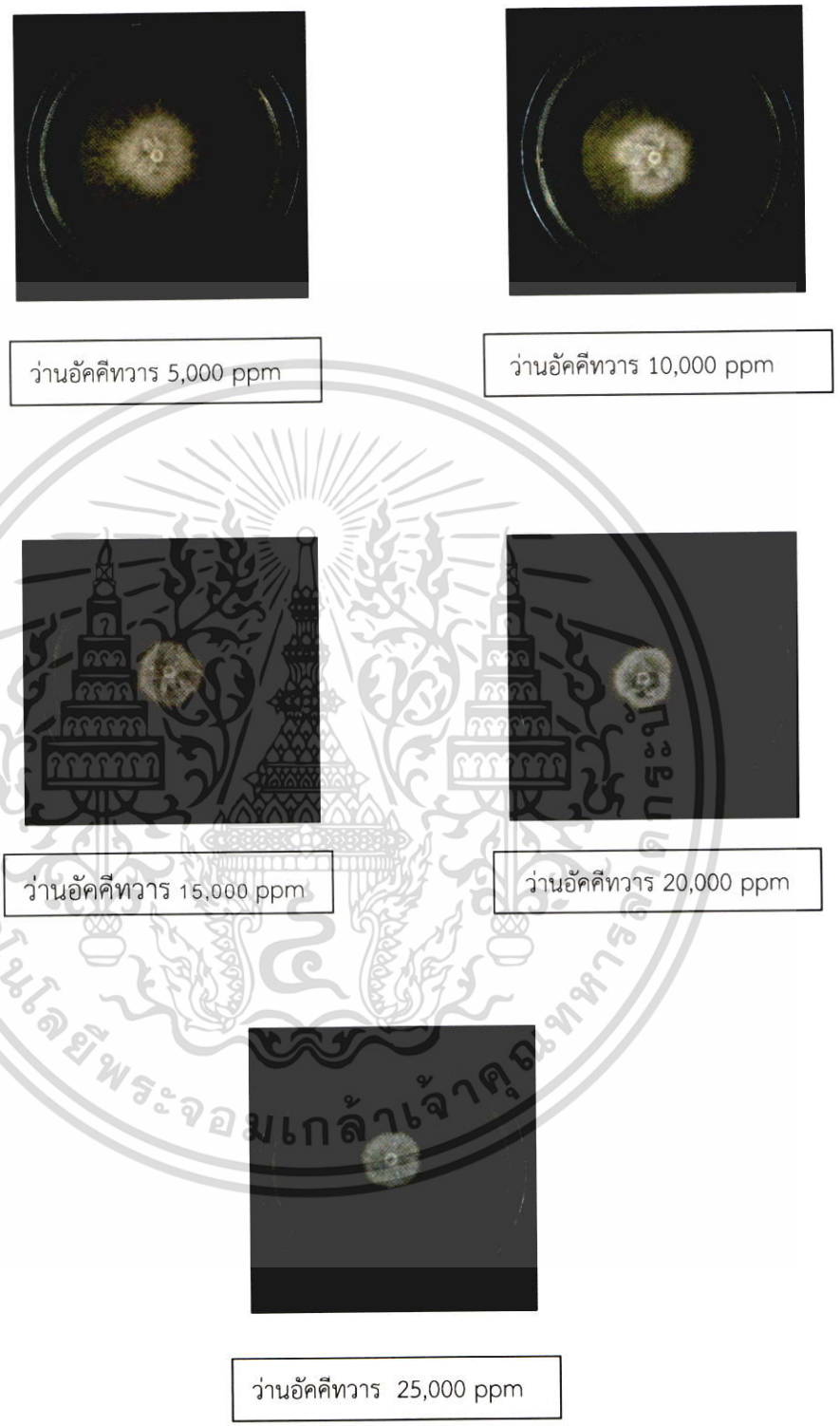


รูปที่ ง-27 ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. palmivora* ไอโซเลท DF008 โดยสารสกัดจากหัวแห้วหมูที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

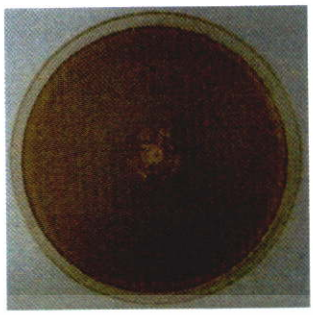
รูปที่ ง-28 ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. palmivora* ไอโซเลท DF008 โดยสารสกัดจากสบู่เลือดที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

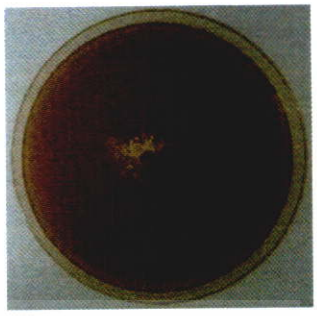


รูปที่ ง-29 ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. palmivora* ไอโซเลท DF008 โดยสารสกัดจากว่านอัคคีทวารที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เปลือกมังคุด 5,000 ppm



เปลือกมังคุด 10,000 ppm

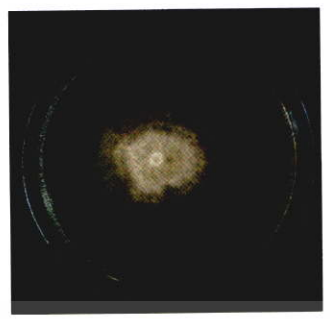
เปลือกมังคุด 15,000 ppm

เปลือกมังคุด 20,000 ppm

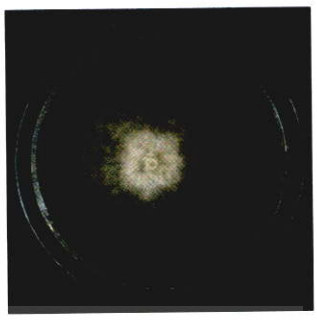
เปลือกมังคุด 25,000 ppm

รูปที่ ง-30 ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. palmivora* ไอโซเลท DF008 โดยสารสกัดจากเปลือกมังคุดที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

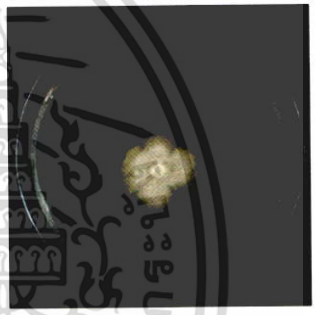


เมล็ดมะรุม 5,000 ppm

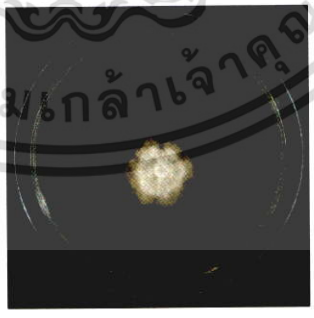


เมล็ดมะรุม 10,000 ppm

เมล็ดมะรุม 15,000 ppm



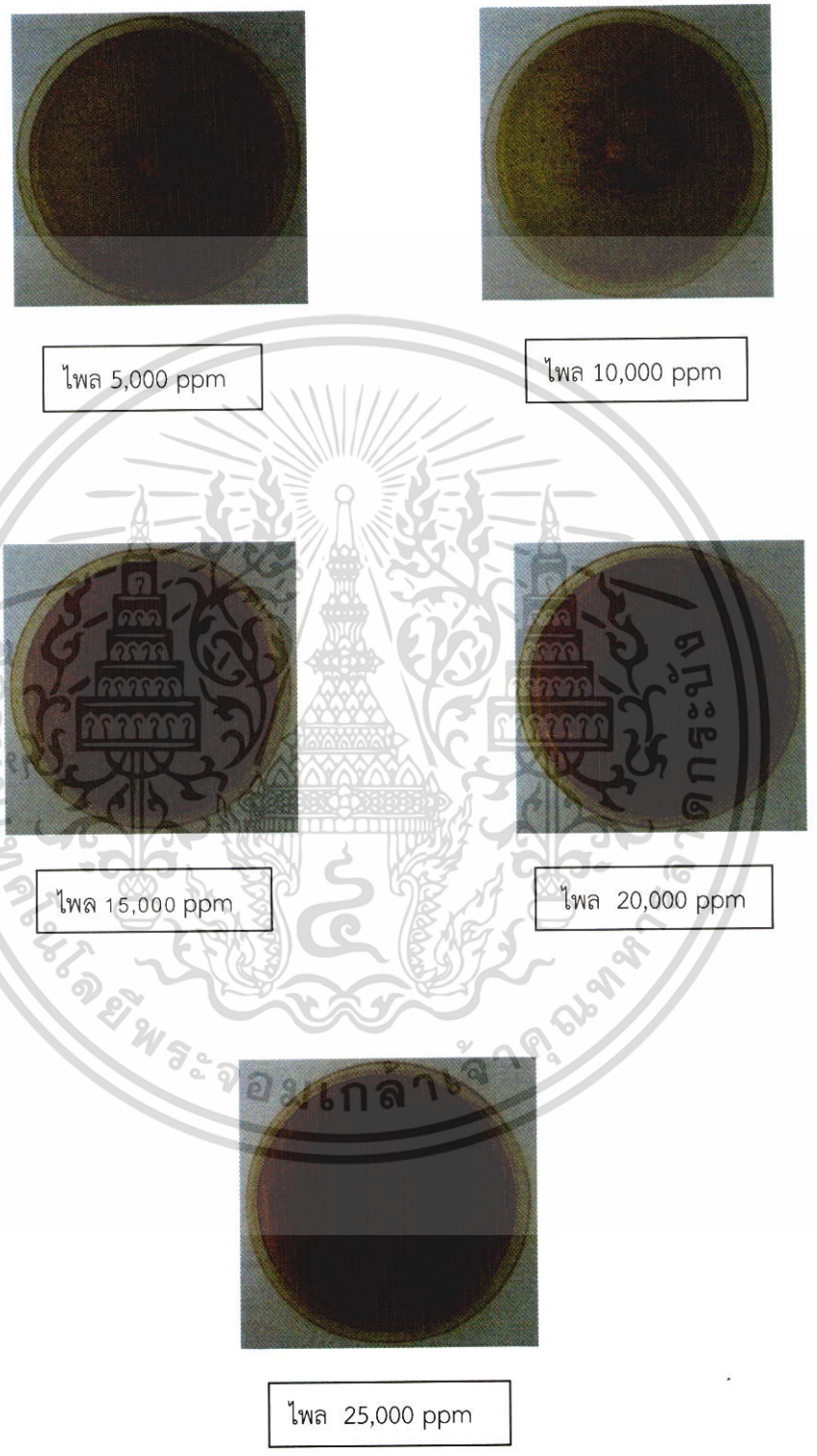
เมล็ดมะรุม 20,000 ppm



เมล็ดมะรุม 25,000 ppm

รูปที่ ง-31 ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. palmivora* ไอโซเลท DF008 โดยสารสกัดจากเมล็ดมะรุมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ง-32 ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. palmivora* ไอโซเลท DF008 โดยสารสกัดจากไพลที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ	นางสาววาสินี ธรรมสถิต
วัน เดือน ปีเกิด	23 ธันวาคม 2530
ที่อยู่	691 พหลโยธิน 35 แขวงลาดยาว เขตจตุจักร กรุงเทพมหานคร
ประวัติการศึกษา	ปริญญาตรี วท.บ (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม) คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้