



ผลของสูตรผลิตภัณฑ์กานพลูต่อการควบคุมโรคเมล็ดสีม่วงที่เกิดจากเชื้อรา *Cercospora kikuchii*

The effect of clove product formulations on the control of Purple Seed Stain caused by *Cercospora kikuchii*

สุมนา จำปา^{1*}, ณัฐพร ฉันทศักดิ์², ศิรากานต์ ขยันการ³, วราลักษณ์ บุญมาชัย¹,
ชนันท์วัฒน์ ศุภสุทธิรางกุล¹ และ นิภาพรณัฏฐ์ พรณรธา¹

Sumana Jumpa^{1*}, Nattaporn Chanthasakda², Sirakan Khayankarn³,
Waraluk Boonmachai¹, Chanantawat Suphasutthirangkun¹ and Nipaporn Punnara¹

¹ ศูนย์วิจัยและพัฒนาเมล็ดพันธุ์พืชเชียงใหม่ อ.สันทราย จ.เชียงใหม่ 50290

¹ Chiangmai Seed Research and Development Center, Sansai district, Chiangmai province 50290

² กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร ถ.พหลโยธิน แขวงลาดยาว เขตจตุจักร กทม. 10900

² Agricultural Production Sciences Research and Development Division, Phahonyothin Rd, Lat Yao, Chatuchak, Bangkok 10900

³ สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 1 อำเภอมือง จังหวัดเชียงใหม่ 50100

³ Office of Agricultural Research and Development Region 1, Mueang district, Chiangmai province 50100

บทคัดย่อ : โรคเมล็ดสีม่วง (purple seed stain : *Cercospora kikuchii*) เป็นโรคที่พบอยู่ทั่วไปในพื้นที่ปลูกถั่วเหลือง แม้ว่าจะไม่มีผลทำให้ผลผลิตลดลง แต่จะทำให้คุณภาพของเมล็ดต่ำกว่ามาตรฐานและสูญเสียเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดไป เป็นผลทำให้เกิดความเสียหายกับผลผลิตและยังเป็นอุปสรรคต่อการผลิตเมล็ดพันธุ์ การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อหาสารสกัดจากพืชที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อรา *C. kikuchii* โดยการใช้สารสกัดหยาบจากกานพลูพัฒนาเป็นสูตรผลิตภัณฑ์เพื่อให้เหมาะสมต่อการใช้งานในการผลิตเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง สารสกัดหยาบน้ำมันกานพลูที่ใช้ทุกอัตราสามารถยับยั้งเชื้อรา *C. kikuchii* บนเมล็ดได้ดีเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม แต่มีผลต่อความงอกของเมล็ดทำให้ไม่เหมาะที่จะนำมาคลุกเมล็ด เมื่อพัฒนาสารสกัดหยาบน้ำมันกานพลูเป็นสูตรผลิตภัณฑ์ชนิดน้ำมันเข้มข้นเป็นของเหลวที่ผสมเป็นเนื้อเดียวกัน (EC: Emulsifiable Concentrate) ที่ระดับความเข้มข้น 40% w/w นำไปทดสอบโดยการคลุกเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง พบว่าสูตรผลิตภัณฑ์น้ำมันกานพลู 40% w/w EC อัตรา 53.57 กรัมต่อ กิโลกรัมเมล็ดสามารถควบคุมการปนเปื้อนของเชื้อราในเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองได้ดีที่สุด (4 เปอร์เซ็นต์) ไม่มีผลต่อความงอกของเมล็ดพันธุ์ เมื่อทดสอบในโรงเรือนทดลองที่มีการปลูกเชื้อรา *C. kikuchii* พบว่าการฉีดพ่นด้วยสูตรผลิตภัณฑ์น้ำมันกานพลู 40% w/w EC อัตรา 50 มิลลิลิตรต่อน้ำ 10 ลิตรมีอัตราการควบคุมโรคใกล้เคียงกับ อัตรา 200 และ 100 มิลลิลิตรต่อน้ำ 10 ลิตร และไม่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์ความงอกและความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ที่เหมาะสมที่สุดในการใช้ยับยั้งเชื้อรา *C. kikuchii* เมื่อเทียบกับสูตรผลิตภัณฑ์อัตราอื่นๆ การศึกษาครั้งนี้พบว่าสูตรผลิตภัณฑ์น้ำมันกานพลู 40% w/w EC อัตรา 50 มิลลิลิตรต่อน้ำ 10 ลิตร เหมาะสมที่สุดในการฉีดพ่นเพื่อยับยั้งการเกิดโรคเมล็ดสีม่วงในการผลิตเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง

คำสำคัญ: เมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง; *Cercospora kikuchii*; โรคเมล็ดสีม่วง; กานพลู; สูตรผลิตภัณฑ์

ABSTRACT: Purple seed stain (*Cercospora kikuchii*) is a widespread soybean disease. Although it does not directly impact yield, it does cause seed quality to deteriorate and the percentage of seed germination to decrease. As a result, productivity is harmed, and seed production is hampered. The objective of this study was to determine a plant extract that had antifungal activity against *C. kikuchii*. A crude extract of clove was used to develop a product suitable for use in soybean seed production. To make an emulsifiable concentration, clove oil crude extract was supplemented with 40 percent w/w dressed soybean seeds. Clove oil, with an EC of 40% w/w at 53.57 g per kg of seeds, was found to be the best choice for seed dressing because it had no influence on seed germination and had the best control of fungal infection in soybean seeds (4%). When tested in greenhouse where *C. kikuchii* was

* Corresponding author: jinejuff@hotmail.com

inoculated, spraying with clove oil EC 40% w/w at the rate of 50 ml per 10 liters of water, had a disease control rate close to that. The rates of 200 and 100 ml per 10 liters of water and did not affect the germination percentage and seed vigor. It is most suitable for inhibiting *C. kikuchii* when compared to other product formulations. The current study discovered that spraying clove oil EC 40% w/w at a rate of 50 ml per 10 liters of water was the most effective way to prevent purple seed discoloration in soybean seed production.

Key words: soybean seed; *Cercospora kikuchii*; purple seed stain; clove; product formulation

บทนำ

ถั่วเหลืองหรือถั่วแระ เป็นพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจชนิดหนึ่ง มีคุณค่าทางโภชนาการสูง นอกจากจะอุดมไปด้วยโปรตีนแล้ว ยังสามารถนำมาใช้ในด้านอุตสาหกรรมได้หลายอย่าง โรคมืดสีม่วง (purple seed stain) ซึ่งมีสาเหตุจากเชื้อรา *Cercospora kikuchii* เป็นปัญหาสำคัญในการผลิตเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง ซึ่งโรคนี้นี้จะไม่ทำให้ผลผลิตลดลงโดยตรง แต่จะทำให้คุณภาพของเมล็ดต่ำกว่ามาตรฐานและสูญเสียเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ด เป็นผลทำให้เกิดความเสียหายกับผลผลิตและยังเป็นอุปสรรคต่อการผลิตเมล็ดพันธุ์ วิธีการป้องกันกำจัดเชื้อราสาเหตุโรคมืดสีม่วง โดยทั่วไปเกษตรกรมักใช้สารเคมี (fungicide) ซึ่งมีการใช้กันมานานและมีปริมาณการใช้สูงเพิ่มขึ้นทุกปี เนื่องจากสารเคมีส่วนมากจะมีผลในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคมืดสีม่วงได้ดีและเห็นผลรวดเร็ว แต่การใช้สารเคมีติดต่อกันเป็นระยะเวลาอันยาวนาน อาจจะมีพิษตกค้างอยู่ในผลิตผลทางการเกษตร ก่อให้เกิดอันตรายต่อผู้ใช้และยังเป็นมลพิษในสภาพแวดล้อม ด้วยเหตุนี้จึงมีผู้หันมาสนใจแนวทางเลือกใหม่ในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคมืดสีม่วงโดยการใช้อนุพันธ์จากผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ เช่น สารสกัดจากพืชในการควบคุมโรคมืดสีม่วง หรือนำสารสกัดมาใช้ทดแทนสารเคมีหรือลดปริมาณของสารเคมีสังเคราะห์ลงได้ โดยมีรายงานว่า Hamini et al. (2014) ใช้น้ำมันหอมระเหยจากพริกในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Fusarium* spp. ได้อย่างสมบูรณ์ต่อเมล็ดงา และคณะ (2553) ได้ศึกษาการยับยั้งเชื้อรา *Aspergillus* spp. ของน้ำมันหอมระเหยจากพริกและอบเชย โดยพบว่าน้ำมันหอมระเหยอบเชยสามารถยับยั้งเชื้อรา *Aspergillus* spp. ได้ดี ใกล้เคียงกับน้ำมันหอมระเหยจากพริก นอกจากนั้น Walaa and Marian (2018) พบว่า น้ำมันจากพริกที่ความเข้มข้น 4 เปอร์เซ็นต์ มีผลทำให้เชื้อรา *Fusarium oxysporum* มีการเจริญของเชื้อราลดลงและ conidial ฝิดรูป นอกจากนั้นยังมีการนำสารสกัดจากพืชมาพัฒนาเป็นสูตรผลิตภัณฑ์สูตรต่างๆ เช่น Ramasamy et al. (2017) นำพริกน้ำมันมาสกัดและพัฒนาเป็นสูตรผลิตภัณฑ์สูตร EC ในการยับยั้งเชื้อราในเมล็ดพันธุ์ข้าว ดังนั้นในการศึกษานี้มีวัตถุประสงค์ เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์สารสกัดจากพริกในการยับยั้งเชื้อรา *C. kikuchii* เพื่อให้เหมาะสมต่อการใช้งานในการผลิตเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง

วิธีการศึกษา

1. การเตรียมเชื้อบริสุทธิ์

เตรียมเชื้อราสาเหตุโรคโดยแยกจากเมล็ดถั่วเหลืองที่แสดงอาการของโรคมืดสีม่วง ฆ่าเชื้อที่ผิวของเมล็ดโดยการแช่ใน 10 เปอร์เซ็นต์ sodium hypochlorite เป็นเวลา 10 นาที ล้างทำความสะอาดในน้ำกลั่นฆ่าเชื้อจำนวนสองครั้ง ซับให้แห้งด้วยกระดาษกรอง ฆ่าเชื้อ จากนั้นนำเมล็ดถั่วเหลืองไปวางบนกระดาษซับจำนวน 10 เมล็ดต่อจาน บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 7 วัน แล้วใช้เข็มเย็บเย็บปลายเส้นใยมาเลี้ยงบนอาหาร PDA และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเก็บไว้ศึกษาในขั้นตอนต่อไป

2. การเตรียมสารสกัดหยาบจากพริก

นำพริกแห้งน้ำหนัก 0.2 กิโลกรัม ใส่ลงในน้ำ ปริมาตร 2 ลิตร แล้วนำมาสกัดด้วยวิธีการกลั่น (hydro distillation) เป็นเวลา 4 ชั่วโมง จนได้สารสกัดหยาบน้ำมันพริก

3. หาความเข้มข้นของสารสกัดหยาบน้ำมันพริกที่เหมาะสมในการยับยั้งเชื้อรา *C. kikuchii* ในเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง

เพื่อหาความเข้มข้นของสารสกัดหยาบน้ำมันพริกต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *C. kikuchii* บนเมล็ดถั่วเหลือง ที่อัตรา 0.5, 1, 2, 3, 4 และ 5 กรัมต่อกิโลกรัมเมล็ด ผสมกับเอทานอลความเข้มข้น 50 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 150 มิลลิลิตรแล้วนำไปคลุกเมล็ดเปรียบเทียบกับสารยับยั้งเชื้อราคาร์เบนดาซิมอัตรา 2 กรัมต่อกิโลกรัมเมล็ด น้ำกลั่นและเอทานอลความเข้มข้น 50 เปอร์เซ็นต์ โดยนำมาคลุกเมล็ดที่เป็นโรคมืดสีม่วงด้วยวิธีการเขย่าให้เมล็ดคลุกเคล้าจนทั่ว ฝังให้แห้งสนิทในที่ร่ม เก็บใส่กล่องทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง นำมาตรวจหาเปอร์เซ็นต์ความงอกมาตรฐาน (4 ซ้ำ ๆ ละ 100 เมล็ด) และตรวจหาเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค (4 ซ้ำ ๆ ละ 100 เมล็ด)

4.หาอัตราของสูตรผลิตภัณฑ์น้ำมันกานพลูที่เหมาะสมในการยับยั้งเชื้อรา *C. kikuchii* สาเหตุโรคเมล็ดสีม่วงในเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง

หาอัตราที่เหมาะสมของสูตรผลิตภัณฑ์น้ำมันกานพลูที่ได้จากข้อ 3 ซึ่งมีสูตรผลิตภัณฑ์ประกอบด้วยน้ำมันกานพลู Tween 20 และ SPAN80 ที่ระดับความเข้มข้น 40% w/w (40g น้ำมันกานพลู / (40 g น้ำมันกานพลู + 60g surfactant)) x 100) (น้ำมันกานพลู 40%w/w EC) จำนวน 5 อัตราประกอบด้วย 10.00 14.28 25.00 35.71 และ 53.5 กรัมต่อกิโลกรัมเมล็ด เปรียบเทียบกับสารยับยั้งเชื้อราคาร์เบนดาซิม น้ำกลั่น และสูตรผลิตภัณฑ์ที่ไม่มีน้ำมันกานพลู นำมาคลุกเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่เป็นโรคเมล็ดสีม่วงตามกรรมวิธี โดยเขย่าให้เมล็ดถั่วเหลืองเคลือบกับสารสกัดจนทั่ว แล้วเทเมล็ดออกมาผึ่งให้แห้งสนิทในที่ร่ม เก็บใส่กล่องพลาสติกทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง สุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่ได้จากแต่ละกรรมวิธี มาตรวจเปอร์เซ็นต์ความงอกมาตรฐาน (4 ซ้ำ ๆ ละ 100 เมล็ด) และตรวจหาเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค

5. ทดสอบสูตรผลิตภัณฑ์น้ำมันกานพลูที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อรา *C. kikuchii* สาเหตุโรคเมล็ดสีม่วงในโรงเรือนทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) จำนวน 4 ซ้ำ 6 กรรมวิธี ประกอบด้วย น้ำมันกานพลู 40% w/w EC อัตราต่าง ๆ ดังนี้ 20 50 100 และ 200 มิลลิลิตรต่อน้ำ 10 ลิตร และสารคาร์เบนดาซิม อัตรา 30 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร (positive control) และน้ำกลั่น (negative control) โดยปลูกถั่วเหลืองในกระถางในโรงเรือนทดลอง กรรมวิธีละ 10 กระถาง กระถางละ 3 เมล็ด หลังจากปลูก 7 วัน พ่นสารเคมีป้องกันกำจัดแมลงวันหนอนเจาะลำต้น ถอนแยกต้นถั่วเหลืองให้เหลือกระถางละ 2 ต้น หลังจากเมล็ดงอกประมาณ 1 สัปดาห์ ใส่ปุ๋ยเคมีสูตร 12-24-12 อัตรา 25 กิโลกรัมต่อไร่ ทำการพ่นสูตรผลิตภัณฑ์และสารเคมีตามกรรมวิธี

เตรียม mycelial suspension นำเชื้อรา *C. kikuchii* มาเลี้ยงบนอาหาร PDA ในจานแก้วขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร บ่มที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 วัน จากนั้นเติมน้ำกลั่นหนึ่งซ้าเชื้อ 10 มิลลิลิตรลงในจานแก้ว และใช้ loop ขูดเส้นใยของเชื้อให้หลุดจากผิวหน้าอาหาร จากนั้นเทใส่ใน flask แล้วเขย่าเพื่อให้เส้นใยหลุดและแตกหัก แล้วนำไปกรองผ่านผ้าขาวบางและเติมน้ำกลั่นหนึ่งซ้าเชื้อเพิ่มอีก 10 มิลลิลิตร นำไปฉีดให้กับต้นถั่วเหลืองในอัตรา 5 มิลลิลิตรต่อต้น โดยใช้กระบอกฉีดน้ำแบบพ่นฝอย ทำการฉีดพ่นในช่วงเวลา 15.00 – 17.00 น. ในระยะ R1 (ระยะเริ่มออกดอก) พ่นสารเคมีป้องกันกำจัดโรคพืชและสูตรผลิตภัณฑ์น้ำมันกานพลูตามกรรมวิธีลงบนต้นถั่วเหลือง โดยเริ่มพ่นตามกรรมวิธีในระยะ R2 (ระยะออกดอกเต็มที่), R3 (ระยะเริ่มติดฝัก), R4 (ระยะติดฝักเต็มที่), R5 (ระยะเริ่มติดเมล็ด) และ R6 (ระยะเมล็ดพัฒนาเต็มที่) รวมจำนวน 5 ครั้ง และดูแลรักษาต้นตามคำแนะนำของกรมวิชาการเกษตร จนถึงระยะเก็บเกี่ยว เก็บเกี่ยวเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองในระยะ R8 (ระยะสุกแก่เต็มที่) สุ่มเก็บตัวอย่างภายหลังการปรับปรุงสภาพมาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค ตรวจสอบคุณภาพเมล็ดพันธุ์ด้านความงอกและความแข็งแรงโดยการเร่งอายุ (ISTA, 2017)

ผลการศึกษา

1. เชื้อราสาเหตุโรคปรีสุทธ์

แยกเชื้อราสาเหตุโรคจากเมล็ดถั่วเหลืองที่แสดงอาการของโรคเมล็ดสีม่วง ซึ่งมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรานี้มีการสร้างก้านชูโคนิเดียเป็นกลุ่มสีดำเข็ม โคนิเดียติดอยู่ที่ปลายก้านชูโคนิเดีย (conidiophore) มีก้านชูโคนิเดียเกิดบนส่วนที่เรียกว่า stroma ก้านเดี่ยว ๆ ไม่แตกกิ่งก้าน สีน้ำตาลเหลืองที่ส่วนฐาน สีจะค่อยจางลงจนสีอ่อนใส มีการสร้างรงควัตถุสีม่วงจนถึงแดงบนอาหาร PDA เกิดจากเชื้อราสร้างสารพิษ cercosporin ในสายพันธุ์ที่มีความรุนแรงในการก่อโรค (ณัฐพงษ์ และคณะ, 2553)

2. การเตรียมสารสกัดหยาบจากกานพลู

สารสกัดหยาบน้ำมันกานพลูที่ได้จากวิธีการกลั่นด้วยน้ำ (hydro distillation) มีลักษณะใส สีเหลืองอ่อน ได้เปอร์เซ็นต์ผลผลิต (%yield) เท่ากับ 10.25% w/w

3. หาคความเข้มข้นของสารสกัดหยาบน้ำมันกานพลูที่เหมาะสมในการยับยั้งเชื้อรา *C. kikuchii* ในเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง

เมื่อนำสารสกัดหยาบน้ำมันกานพลูมาคลุกเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่เป็นโรคเมล็ดสีม่วง พบว่าสารสกัดหยาบน้ำมันกานพลูที่อัตรา 4.0 และ 5.0 กรัมต่อกิโลกรัมเมล็ด มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคน้อยที่สุดเท่ากับ 8.00 เปอร์เซ็นต์แตกต่างจากอัตราอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญ

ทางสถิติและมีเปอร์เซ็นต์ความงอกมาตรฐาน เท่ากับ 25 และ 29 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ซึ่งเมื่อเทียบกับชุดที่คลุกด้วยน้ำกลั่น สารยับยั้งเชื้อราคาร์เบนดาซิม และเอทานอล 50 เปอร์เซ็นต์มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคมามากที่สุด (99.5, 99.5 และ 98.0 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ) และมีเปอร์เซ็นต์ความงอกมาตรฐาน เท่ากับ 96, 96 และ 98 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ (Table 1) สอดคล้องกับการศึกษาของ Carmello และ Carlos (2018) พบว่าการคลุกเมล็ดพันธุ์ด้วยสารสกัดจากกานพลูและอบเชย มีผลทำให้การงอกของเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมลดลงและอัญชิกา (2552) พบว่าการเคลือบเมล็ดพันธุ์ด้วยสารยูจินอลที่มีระดับความเข้มข้นมากกว่า 1 เปอร์เซ็นต์จะมีผลทำให้ความงอกของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองลดลง แต่ก็ทำให้ลดการปนเปื้อนของเชื้อราได้ สารคาร์เบนดาซิมเป็นสารป้องกันกำจัดเชื้อราที่ใช้ในการฉีดพ่นเพื่อยับยั้งการเกิดโรคเมล็ดสีม่วงในระยะเริ่มติดฝักและระยะเริ่มติดเมล็ด ตามคำแนะนำของกรมวิชาการเกษตร จึงไม่เหมาะสมที่จะนำมาคลุกเมล็ดเพื่อยับยั้งโรคเมล็ดสีม่วง

Table 1 Disease incidences of purple seed stain and percentage of soybean seed germination after seed dressing treatments.

Seed dressing treatment	Disease incidences ^{1/} (%)	Seed germination ^{1/} (%)
cove oil 0.5 g/1 kg seed	9.5±1.0 bc	54 ± 3.56 b
cove oil 1.0 g/1 kg seed	10.5±0.5 bc	54 ± 3.77 b
cove oil 2.0 g/1 kg seed	11.0±1.0 b	50 ± 3.16 b
cove oil 3.0 g/1 kg seed	11.0±1.0 b	34 ± 3.74 c
cove oil 4.0 g/1 kg seed	8.0±0.0 c	25 ± 1.89 d
cove oil 5.0 g/1 kg seed	8.0±0.8 c	29 ± 3.59 cd
H ₂ O	99.5±0.5 a	96 ± 0.82 a
carbendazim	99.5±0.5 a	96 ± 1.15 a
50% ethanol	98.0±0.8 a	98 ± 0.50 a
F-test	**	**
C.V. (%)	3.77	9.38

^{1/} Means within a column with different letters are significantly different $P \leq 0.05$ according to Duncan's New Multiple Range Test (DMRT).

4.หาอัตราของสูตรผลิตภัณฑ์น้ำมันกานพลูที่เหมาะสมในการยับยั้งเชื้อรา *C. kikuchii* สาเหตุโรคเมล็ดสีม่วงในเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง

คลุกเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่เป็นโรคเมล็ดสีม่วงด้วยน้ำมันกานพลู 40% w/w EC พบว่า น้ำมันกานพลู 40% w/w EC อัตรา 53.57 กรัมต่อกิโลกรัมเมล็ด มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคน้อยที่สุด (4 เปอร์เซ็นต์) มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่ไม่มีน้ำมันกานพลู 40% w/w EC สอดคล้องกับการศึกษาของ ปิยฉัตร และคณะ (2553) ที่พบว่าน้ำมันหอมระเหยจากกานพลูมีประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อราที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ได้อย่างมีประสิทธิภาพเมื่อเปรียบเทียบกับแคปแทน สำหรับการคลุกเมล็ดด้วยสูตร EC ไม่มีน้ำมันกานพลูและสูตรสารยับยั้งเชื้อราคาร์เบนดาซิมมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคมามากที่สุด (100 เปอร์เซ็นต์) เมื่อศึกษาเปอร์เซ็นต์ความงอกมาตรฐานพบว่า ทั้ง 8 กรรมวิธีมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยกรรมวิธีที่คลุกเมล็ดพันธุ์ด้วยน้ำเปล่ามีเปอร์เซ็นต์ความงอกมาตรฐานสูงที่สุด เท่ากับ 98 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่กรรมวิธีที่คลุกเมล็ดด้วยน้ำมันกานพลู 40% w/w EC อัตรา 53.57 กรัมต่อกิโลกรัมเมล็ดมีเปอร์เซ็นต์ความงอกมาตรฐานเท่ากับ 94 เปอร์เซ็นต์ น้ำมันกานพลู 40% w/w EC อัตรา 35.71 กรัมต่อกิโลกรัมเมล็ด มีเปอร์เซ็นต์ความงอกมาตรฐานน้อยที่สุด เท่ากับ 87 เปอร์เซ็นต์ (Table 2)

Table 2 Disease incidences of purple seed stain and percentage of soybean seed germination after seed dressing with emulsifiable concentrate of clove oil in various rates.

Seed dressing treatment	Disease incidences ^{1/} (%)	Seed germination ^{1/} (%)
clove oil 40%w/w EC rate 10.0 g/1kg seed	27.00 ± 0.58 c	92 ± 0.96 bcd
clove oil 40%w/w EC rate 14.28 g/1kg seed	16.50 ± 0.50 d	93 ± 2.36 abcd
clove oil 40%w/w EC rate 25.0 g/1kg seed	8.50 ± 0.00 e	91 ± 2.38 cd
clove oil 40%w/w EC rate 35.71 g/1kg seed	7.00 ± 0.5 f	87 ± 2.08 d
clove oil 40%w/w EC rate 53.57 g/1kg seed	4.00 ± 0.58 g	94 ± 0.82 abc
emulsifiable concentrate non-clove oil	100.00 ± 0.0 a	93 ± 2.22 abcd
Carbendazim rate 2 g./1kg seed	98.50 ± 0.0 b	97 ± 1.29 ab
H ₂ O	100.00 ± 0.5 a	98 ± 0.82 a
F-test	**	**
C.V. (%)	1.86	3.76

^{1/} Means within a column with different letters are significantly different P≤0.05 according to DMRT.

Table 3 Disease incidences of purple seed stain, germination percentage and seed vigor of soybean in the greenhouse experiment.

Method	Disease incidences ^{1/} (%)	Germination ^{1/} (%)	Seed vigor (%)
clove oil 40%w/w EC rate 20 ml/water 10 l	7.38±1.52 bc	94±0.4 a	79±1.4
clove oil 40%w/w EC rate 50 ml/water 10 l	5.56±1.16 ab	96±0.6 a	77±0.2
clove oil 40%w/w EC rate 100 ml/water 10 l	5.38±1.14 ab	96±0.4 a	75±1.6
clove oil 40%w/w EC rate 200 ml/water 10 l	4.25± 0.90 a	83±1.7 b	70±0.5
Carbendazim rate 30g./water 20l.	6.44±1.38 ab	97±0.4 a	78±2.1
H ₂ O	9.63±2.02 c	96±0.6 a	77±1.5
F-test	**	**	ns
C.V. (%)	23.0	3.9	13.9

^{1/} Means within a column with different letters are significantly different P≤0.05 according to DMRT.

5. ทดสอบสูตรผลิตภัณฑ์น้ำมันกานพลูที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อรา *C. kikuchii* สาเหตุโรคเมล็ดสีม่วงในโรงเรือนทดลอง

ภายหลังจากการพ่นสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราและน้ำมันกานพลู 40% w/w EC ตามกรรมวิธี เก็บเกี่ยวและปรับปรุงสภาพเมล็ดพันธุ์ นำเมล็ดถั่วเหลืองมาหาเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค และคุณภาพเมล็ดพันธุ์ พบว่า การฉีดพ่นด้วยน้ำมันกานพลู 40% w/w EC ที่อัตรา 200 มิลลิลิตรต่อน้ำ 10 ลิตรมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญกับการฉีดพ่นด้วยน้ำมันกานพลู 40% w/w EC ที่อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 10 ลิตรและน้ำกลั่น แต่ไม่มีความแตกต่างกับการฉีดพ่นด้วยสารคาร์เบนดาซิม โดยมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเมล็ดสีม่วงน้อยที่สุดเท่ากับ 4.25 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือฉีดพ่นด้วยอัตรา 100 และ 50 มิลลิลิตรต่อน้ำ 10 ลิตร ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเมล็ดสีม่วง 5.38 และ 5.56 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ (Table 3) สอดคล้องกับการศึกษาของ Kishore et al. (2007) ที่พบว่าการฉีดพ่นน้ำมันกานพลูทางใบสามารถลดการรุนแรงของโรคได้ เมื่อพิจารณาถึงเปอร์เซ็นต์ความงอกมาตรฐานของเมล็ดพันธุ์พบว่าต้นถั่วเหลืองที่ได้รับการฉีดพ่นด้วยน้ำมันกานพลู 40% w/w EC อัตรา 20, 50 และ 100 มิลลิลิตรต่อน้ำ 10 ลิตร ฉีดพ่นด้วยสารคาร์เบนดาซิมอัตรา 30 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร และฉีดพ่นด้วยน้ำเปล่า ให้ผลความงอกมาตรฐานอยู่ในช่วง 94-97 เปอร์เซ็นต์ มีเพียงการฉีดพ่นด้วยน้ำมันกานพลู 40% w/w EC

อัตรา 200 มิลลิลิตรต่อน้ำ 10 ลิตร ที่มีเปอร์เซ็นต์ความออกมาตรฐานน้อยที่สุด เท่ากับ 83 เปอร์เซ็นต์และทั้ง 6 กรรมวิธีเมล็ดพันธุ์มีความแข็งแรงโดยการเร่งอายุไม่แตกต่างกัน อยู่ในช่วง 70-79 เปอร์เซ็นต์ (Table 3)

สรุป

การคลุกเมล็ดด้วยสารสกัดหยาบน้ำมันกานพลูมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเกิดโรคเมล็ดสีม่วง แต่ไม่เหมาะสมที่จะนำมาคลุกเมล็ด เนื่องจากน้ำมันกานพลูมีผลต่อการงอกของเมล็ดพันธุ์ สอดคล้องกับรายงานของ Bainard et al. (2006) รายงานว่าน้ำมันกานพลูมีผลในการยับยั้งการเจริญของต้นกล้าและเมมเบรนถูกทำลาย เมื่อนำมาทำเป็นสูตรผลิตภัณฑ์ชนิดน้ำมันเข้มข้นแบบของเหลวที่ผสมเป็นเนื้อเดียวกัน (EC) 40% w/w EC อัตรา 50 มิลลิลิตรต่อน้ำ 10 ลิตร ในการฉีดพ่นในแปลงผลิตเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองสามารถลดการเกิดโรคเมล็ดสีม่วงได้ใกล้เคียงกับการฉีดพ่นด้วยสารคาร์เบนดาซิมและไม่มีผลต่อการงอกของเมล็ด จึงน่าจะเป็นอีกแนวทางเลือกหนึ่งที่จะสามารถนำมาใช้ทดแทนสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราได้

เอกสารอ้างอิง

- ณัฐพงษ์ นวลดี พรประพา คงตระกูล วรชมน บุญยั้ง Iman Hidayat Yoko Miyamoto Yuriko Izumi Kazuya Akimitsu และ สรัญญา ณ ลำปาง. 2553. ลักษณะของเชื้อรา *Cercospora* ที่ต้านทานสารคาร์เบนดาซิม สาเหตุโรคใบจุดของผักกาดหอมในจังหวัดเชียงใหม่. วารสารวิจัย มช. 15(11): 1053-1060.
- ภัสชนันท์ ทิรัญ อรพิน เกิดชูชื่น และ ณัฏฐา เลหากุลจิตต์. 2553. การยับยั้งเชื้อรา *Aspergillus* spp. โดยน้ำมันหอมระเหยกานพลูและอบเชย. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร. 41(3/1)(พิเศษ): 21-24.
- ปิยฉัตร อัครนุชาต สุภามาต ช่างแต่ง ปิติพงษ์ โตบัณฑิตภพ สุชาติา เวียรศิลป์และสงวนศักดิ์ ธนาพรพูนพงษ์. 2553. ผลของการเคลือบเมล็ดด้วยน้ำมันหอมระเหยต่อเชื้อราที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์. วารสารเกษตร. 26: 85-92.
- อัญชิกา สวัสดิ์วนิช. 2552. การเคลือบเมล็ดพันธุ์ด้วยสารกำจัดศัตรูพืชชีวภาพเพื่อการควบคุม เชื้อราก่อโรคพืชของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง. วิทยานิพนธ์ ปริญญาวิทยาศาสตร ดุษฎีบัณฑิต มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- Bainard, L.D., M.B. Isman, and M.K. Upadhyaya. 2006. Phytotoxicity of clove oil and its primary constituent eugenol and role of leaf epicuticular wax in the susceptibility to these essential oils. *Weed Science*. 54(5): 833-837.
- Carmello, C. R., and C. J. Carlos. 2018. Effects of plant extracts and sodium hypochlorite on lettuce germination and inhibition of *Cercospora longissima* in vitro. *Scientia Horticulture*. 234: 245-249.
- Hamini. K. N, F. Hamdane, R. Boutoutaou, M. Kihal, and J. E. Henni. 2014. Antifungal Activity of Clove (*Syzygium aromaticum* L.) Essential Oil Against Phytopathogenic Fungi of Tomato (*Solanum lycopersicum* L) in Algeria. *Journal of Experimental Biology and Agricultural Sciences*. 2(5): 447-454
- Kishore, G. K., S. Pande, and S. Harish. 2007. Evaluation of Essential Oils and Their Components for Broad-Spectrum Antifungal Activity and Control of Late Leaf Spot and Crown Rot Diseases in Peanut. *Plant Disease*. 91: 375-379.
- ISTA. 2017. International rules for seed testing. International Seed Testing Association, Bassesdorf, Switzerland.
- Ramasamy, N., A. Muthukumar., G. Sangeetha, and R. Mohanapriya. 2017. Developing eco-friendly biofungicide for the management of major seed borne diseases of rice and assessing their physical stability and storage life. *Comptes Rendus Biologies*. 340: 214-225.
- Khalifa, W., and M. Thabet. 2018. Antifungal Activities of Clove Oil Against Root Rot and Wilt Pathogens of Tomato Plants. *American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Sciences*. 18 (3): 105-114.