



ประสิทธิภาพของสารสกัดจากกะลามะพร้าวในการยับยั้งเชื้อราก่อโรคยอดเน่า
และโรคใบจุด

The efficiency of coconut shell extracts against heart leaf rot
and leaf spot diseases

ญาณิกา วัชรเทวินทร์กุล* และ ชุติมา ไทยประดิษฐ์¹

¹สาขาวิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครปฐม

อำเภอเมืองนครปฐม จังหวัดนครปฐม 73000

*E-mail: yanika@webmail.npru.ac.th

บทคัดย่อ

การศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากกะลามะพร้าวด้วยเอทานอลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา
ก่อโรคยอดเน่า (heart leaf rot) และโรคใบจุด (*Helminthosporium* leaf spot) ที่คัดแยกจากต้นมะพร้าวด้วยวิธี Tissue
transplanting สามารถคัดแยกเชื้อราได้ทั้งหมด 7 ไอโซเลท จากผลพิสูจน์การก่อโรคพบว่าเชื้อรา 2 ไอโซเลท
ได้แก่ Pt1 และ Ha1 ทำให้เกิดลักษณะอาการของโรคยอดเน่าและโรคใบจุดบนใบมะพร้าว การศึกษาลักษณะ
สัณฐานวิทยาพบว่าลักษณะของเส้นใยและสปอร์ของเชื้อราไอโซเลท Pt1 และ Ha1 มีความสอดคล้องกับเชื้อรา
Pythium sp. และ *Helminthosporium* sp. ตามลำดับ ผลการทดสอบประสิทธิภาพสารสกัดจากกะลามะพร้าว
เปรียบเทียบกับคาร์เบนดาซิมในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราก่อโรคด้วยเทคนิค Poisoned food โดยผสม
สารสกัดในอาหาร PDA ให้ได้ระดับความเข้มข้น 10 100 1000 10000 และ 100000 ppm พบว่าที่ระดับความ
เข้มข้นของสารสกัดจากกะลามะพร้าว 100000 ppm สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา Pt1 และ Ha1 โดยแสดง
ร้อยละการยับยั้งการเจริญเท่ากับร้อยละ 100 ในขณะที่คาร์เบนดาซิม 100000 ppm แสดงร้อยละการยับยั้งการ
เจริญของเชื้อรา Pt1 และ Ha1 คิดเป็นร้อยละ 73.94 และ 100 ตามลำดับ อย่างไรก็ตามที่ระดับความเข้มข้น
10000 ppm สารสกัดจากกะลามะพร้าวและคาร์เบนดาซิม ยับยั้งการเจริญของเชื้อรา Pt1 ได้ต่ำกว่าร้อยละ 30

Received: September 18, 2019

Revised: December 11, 2019

Accepted: December 30, 2019

แต่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา Ha1 ได้มากกว่าร้อยละ 50 โดยสารสกัดจากกะลามะพร้าวมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา Ha1 สูงกว่าคาร์เบนดาซิมที่มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$)

คำสำคัญ: สารสกัดจากกะลา มะพร้าว (*Cocos nucifera* L.) โรคยอดเน่า โรคใบจุด

Abstract

The efficiency of ethanolic coconut shell extracts against heart leaf rot and *Helminthosporium* leaf spot fungi was investigated. Seven fungal strains were isolated from coconut plants by tissue transplanting method. According to the criteria of Koch's postulates, there were 2 strains; Pt1 and Ha1 that caused symptoms of heart leaf rot and *Helminthosporium* leaf spot diseases on coconut leaves. Microscopic observation on hyphae and spore morphology indicated that the Pt1 and Ha1 were identified as *Pythium* sp. and *Helminthosporium* sp., respectively. The efficiency of coconut shell extracts compared to carbendazim by poisoned food technique. The extracts were added to PDA at concentrations of 10, 100, 1000, 10000 and 100000 ppm. The result showed that at 100000 ppm coconut shell extracts could inhibit Pt1 and Ha1 isolates at 100% inhibition, whereas carbendazim inhibited Pt1 at 73.94% but Ha1 at 100% of inhibition. However at 10000 ppm, the inhibition of Pt1 by coconut shell extracts and carbendazim was lower than 30% but that of Ha1 was higher than 50%. The efficiency of coconut shell extracts against Ha1 was significantly higher than carbendazim at 95% confidence interval ($p \leq 0.05$).

Keywords: Coconut shell extracts, Coconut (*Cocos nucifera* L.), Heart leaf rot, *Helminthosporium* leaf spot.

1. บทนำ

มะพร้าว (*Cocos nucifera* L.) เป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยวจัดอยู่ในวงศ์ปาล์ม (Palmae) และยังเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย ซึ่งปัจจุบันสามารถผลิตได้มากเป็นอันดับ 7 ของโลก โดยในปี 2561 ประเทศไทยมีเนื้อที่ขึ้นต้นมะพร้าวผลแก่ 828,614 ไร่ ให้ผลผลิต 856,920 ตัน [1] นอกจากการบริโภคผลสดและนำมาปรุงอาหารแล้ว มะพร้าวยังสามารถนำมาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ที่หลากหลาย เช่น กะทิสำเร็จรูป เนื้อมะพร้าวแห้ง น้ำมันมะพร้าวดิบและบริสุทธิ์ เป็นต้น [2, 3] ส่วนที่เหลือจากการแปรรูป เช่น กะลา ซึ่งเป็นเปลือกชั้นในหรือเอนโด-

คาร์ป (endocarp) นั้น ก็ยังสามารถนำไปแปรรูปเป็นเชื้อเพลิงอัดแท่ง (briquette) [4-8] ถ่านกัมมันต์ (activated carbon) [9-11] นอกจากนี้ยังมีศักยภาพในการใช้เป็นวัสดุผสมคอนกรีต (aggregate) อีกด้วย [12-16] อย่างไรก็ตามการปลูกมะพร้าวมักประสบปัญหาจากโรคพืช โดยโรคที่มีรายงานพบในประเทศไทยมีหลายโรค รวมถึงโรคยอดเน่า (heart leaf rot) และโรคใบจุด (*Helminthosporium* leaf spot) ซึ่งมีสาเหตุจากเชื้อรา *Pythium* sp. และ *Helminthosporium* sp. ตามลำดับ [17] เนื่องจากการกำจัดเชื้อราก่อนโรสดังกล่าวนิยมใช้สารเคมีเป็นส่วนใหญ่ จึงส่งผลให้เกิดการตกค้างของสารเคมีใน

สิ่งแวดล้อมซึ่งอาจเป็นอันตรายต่อเกษตรกรและผู้บริโภค

น้ำมันสกัดจากกะลามะพร้าวมีคุณสมบัติในการรักษาโรคผิวหนังที่เกิดจากการติดเชื้อแบคทีเรียและรา เนื่องจากมีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ในกลุ่มแบคทีเรีย รา รวมถึงยีสต์ [18-23] โดยสารสำคัญที่พบมากในน้ำมันและสารสกัดจากกะลามะพร้าว ได้แก่ กรดไขมันชนิดต่างๆ และกลุ่มสารประกอบฟีนอลิก [18, 20-24] กรดลอริก (lauric acid) หรือกรดโดเดคาโนอิก (dodecanoic acid) และกรดไมริสติก (myristic acid) หรือกรดเทตราเดคาโนอิก (tetradecanoic acid) เป็นกรดไขมันอิ่มตัวที่พบในน้ำมันสกัดจากกะลามะพร้าวและมีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ได้หลายกลุ่ม มีรายงานว่ากรดลอริกและสารอนุพันธ์ของกรดลอริก เช่น สารโมโนลอรีน (monolaurin) มีคุณสมบัติในการต้านแบคทีเรีย รา ยีสต์ และไวรัสได้ [24-26]

การนำสารสกัดจากกะลาที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อราเพื่อควบคุมโรคพืชที่มีสาเหตุจากเชื้อราเป็นแนวทางหนึ่งในการพัฒนาประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดศัตรูมะพร้าว ซึ่งเป็นหนึ่งในยุทธศาสตร์หลักเพื่อส่งเสริมการผลิต การบริโภค และการตลาดมะพร้าวไทย ตามร่างยุทธศาสตร์มะพร้าวเพื่ออุตสาหกรรม พ.ศ. 2561 - 2564 [27] งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากกะลามะพร้าวในการยับยั้งเชื้อราที่เป็นสาเหตุของโรคยอดเน่าและโรคใบจุดในมะพร้าว สำหรับเป็นแนวทางในการใช้ประโยชน์จากวัตถุดิบเหลือทิ้งทางการเกษตรทดแทนการใช้สารเคมีเพื่อควบคุมโรคพืช

2. วัสดุอุปกรณ์และวิธีดำเนินการวิจัย

2.1 การเตรียมสารสกัดจากกะลามะพร้าว

ขูดผิวกะลามะพร้าวด้านนอกให้เป็นผงบูลไปอบที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นสกัดด้วยตัวทำละลายโดยใช้ 95% เอทานอล ในอัตราส่วนผงกะลา 1 กรัม ต่อ เอทานอล 10 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ 5 วัน แล้วนำไปกรองผ่านกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 2 ด้วยเครื่องกรองสุญญากาศ เพื่อแยกสารสกัดออก สกัดส่วนกะลามะพร้าวที่เหลือด้วยขั้นตอนเดียวกันซ้ำอีก 2 ครั้ง จากนั้นนำสารสกัดที่ได้จากการสกัดทั้ง 3 ครั้งมารวมกัน แล้วนำไปประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เก็บตัวอย่างสารสกัดในขวดสีชาเพื่อใช้ในการทดสอบต่อไป

2.2 การคัดแยกเชื้อราก่อโรคยอดเน่า (heart leaf rot) และโรคใบจุด (*Helminthosporium* leaf spot)

คัดแยกเชื้อราก่อโรคด้วยวิธี Tissue transplanting ดัดแปลงจากวิธีของสุวรรณิ และคณะ [28] โดยนำใบมะพร้าวที่เป็นโรคมดัดให้มีขนาด 5 X 5 มิลลิเมตรนำไปแช่ในสารละลาย 5% Sodium hypochlorite เป็นเวลา 3 นาที แช่ในน้ำกลั่นปลอดเชื้อเป็นเวลา 3 นาที จากนั้นซับด้วยกระดาษทิชชูที่ผ่านการฆ่าเชื้อ นำชิ้นตัวอย่างมาวางในจานอาหาร PDA 3 จุด นำไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง เมื่อสังเกตเห็นการเจริญของเส้นใยเชื้อรา ใช้เข็มปลายงอตัดบริเวณเส้นใยของเชื้อรา นำไปวางตรงกลางบนผิวหน้าอาหาร PDA จานใหม่ แล้วไปบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3-5 วัน บันทึกลักษณะโคโลนีของเชื้อรา

เก็บเชื้อราในอาหาร PDA slant สำหรับการทดสอบในขั้นต่อไป

2.3 การพิสูจน์การก่อโรคของเชื้อรา

พิสูจน์การก่อโรคของเชื้อราที่คัดแยกได้จากข้อ 2.2 โดยดัดแปลงจากวิธีของสุวรรณิ และคณะ [28] คัดใบมะพร้าวที่มีลักษณะปกติไม่เป็นโรคให้มีความยาวประมาณ 5 เซนติเมตร มาแช่ในสารละลาย 5% Sodium hypochlorite เป็นเวลา 3 นาที แช่ในน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ 2 ครั้ง ๆ ละ 3 นาที ซับให้แห้งด้วยกระดาษทิชชูฆ่าเชื้อ เจาะใบให้เกิดบาดแผล แล้วตัดเส้นใยเชื้อราวางบริเวณบาดแผลนำไปวางในจานเพาะเชื้อที่มีสาลีชุบน้ำเพื่อรักษาความชื้น ตั้งไว้ในอุณหภูมิห้อง สังเกตการเปลี่ยนแปลงของใบมะพร้าวทุกวัน หากพบว่าเนื้อเชื้อและใบมีการเปลี่ยนแปลงจากสีเขียวเป็นสีน้ำตาลเกินกว่าครึ่งใบ แสดงว่าเป็นเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคยอดเน่าและโรคใบจุด

2.4 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อราก่อโรค

นำเชื้อราก่อโรคมาทำ Slide culture แล้วบ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 2-3 วัน จากนั้นหยด Lactophenol แล้วนำไปศึกษาลักษณะของเส้นใยและการสร้างสปอร์ของเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์

2.5 การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากกะลามะพร้าวในการยับยั้งเชื้อราก่อโรค

ทดสอบ (3 ซ้ำ) ด้วยวิธี Poisoned food technique ดัดแปลงจากวิธีของสุวรรณิ และคณะ [28] โดยเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ผสมกับสารสกัดให้ได้ระดับความเข้มข้น 10, 100, 1000, 10000 และ 100000 ppm พร้อมอาหารชุดควบคุมบวก (อาหาร PDA ที่ผสมสารยับยั้งเชื้อราคาร์เบน-ดาซิม) โดยผสมให้ได้ระดับความเข้มข้นเท่ากับชุดสารสกัด

และอาหารชุดควบคุมลบ (อาหาร PDA ที่ไม่ผสมสารสกัด) เททิ้งไว้ให้อาหารแข็ง จากนั้นใช้ Cork borer ตัดเชื้อราวางบนผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยให้ด้านที่มีเชื้อราสัมผัสกับผิวหน้าอาหาร บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน วัดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อรา เพื่อคำนวณร้อยละการยับยั้งการเจริญของเส้นใยราโดยใช้สูตร:

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

เมื่อ A คือ ค่าเฉลี่ยของเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อราที่เจริญบนอาหารชุดควบคุมลบ
B คือ ค่าเฉลี่ยของเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อราที่เจริญบนอาหารผสมสารสกัด

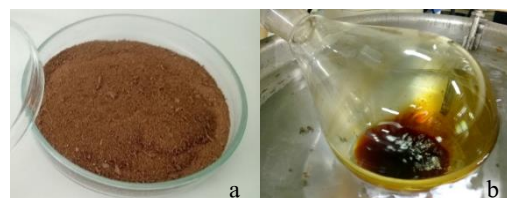
2.6 การวิเคราะห์ทางสถิติ

วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของค่าร้อยละการยับยั้งการเจริญของเส้นใยราด้วยวิธี Tukey HSD Test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$) เปรียบเทียบระหว่างชุดทดลองและชุดควบคุมบวก

3. ผลการวิจัยและวิจารณ์ผลการวิจัย

3.1 สารสกัดจากกะลามะพร้าว

หลังจากสกัดผงกะลาด้วย 95% เอทานอล แล้วนำไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ จะได้สารสกัดที่มีลักษณะขุ่นหนืดคล้ายน้ำมัน และมีสีน้ำตาลเข้ม (รูปที่ 1)



รูปที่ 1 กะลามะพร้าวผง (a) และ สารสกัดกะลามะพร้าว (b)

3.2 การคัดแยกเชื้อราก่อโรคยอดเน่าและโรคใบจุด

สามารถคัดแยกเชื้อราได้ทั้งหมด 7 ไอโซเลท ซึ่งคัดแยกได้จากใบที่เป็นโรคยอดเน่า 4 ไอโซเลท ได้แก่ Pt1, Pt2, Pt3 และ Pt4 และจากใบที่เป็นโรคใบจุด 3 ไอโซเลท ได้แก่ Ha1, Ha2 และ Ha3 โดยลักษณะโคโลนีแสดงดังตารางที่ 1

3.3 การพิสูจน์การก่อโรคของเชื้อรา

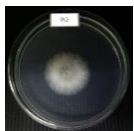
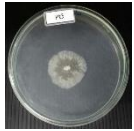
ผลพิสูจน์การก่อโรคของเชื้อราที่คัดแยกได้ตามหลักการพิสูจน์โรคของคอค (Koch's postulates) แสดงดังรูปที่ 3 พบว่าเชื้อราไอโซเลท Pt1 ทำให้ใบมะพร้าวเกิดลักษณะผิดปกติ ใบเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีน้ำตาลเข้ม ภายในระยะเวลา 7 วัน โดยใบจะเริ่มเน่าจากบริเวณบาดแผลแล้วแผ่ขยายเป็นบริเวณกว้าง และมีกลิ่นเหม็นเน่า ซึ่งเป็นลักษณะอาการของโรคยอดเน่า ส่วนผลพิสูจน์การก่อโรคใบจุด พบว่าในระยะเวลา 5 วัน ใบมะพร้าวที่ทดสอบด้วยเชื้อราไอโซเลท Ha1 มีแผลสีน้ำตาลเกิดขึ้นและแผ่ขยายจนเต็มใบทำให้ใบแห้ง ในขณะที่เชื้อราไอโซเลทอื่น ๆ ไม่ก่อให้เกิดความผิดปกติของใบมะพร้าว โรคยอดเน่าและโรคใบจุดในมะพร้าวมักพบในระยะต้นกล้า โดยลักษณะอาการที่สังเกตได้ของโรคยอดเน่าที่เกิดจากเชื้อรา *Pythium* sp. คือใบอ่อนจะเริ่มเน่าเป็นสีน้ำตาล และลูกกลมจนเต็มใบทำให้ใบแห้ง ส่วนอาการของโรคใบจุดที่เกิดจากรา *Helminthosporium* sp. จะพบจุดสีน้ำตาลแดงมีขอบสีเหลือง ต่อมาจุดจะขยายใหญ่มีขอบแผลสีน้ำตาลเข้ม จนกระทั่งขยายรวมกันทำให้ใบแห้ง [29]

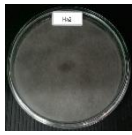
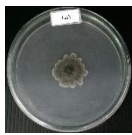
3.4 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อราก่อโรค

จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่าไอโซเลท Pt1 มีเส้นใยแบบไม่มีผนังกัน สปอร์แรงเจียม (sporangium) ทรงกลมผนังเรียบ มีส่วนที่งอก

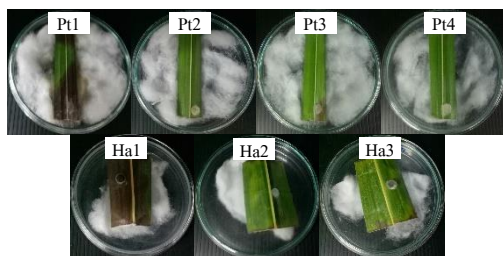
ออกมาเป็นท่อ (discharge tube) ปลายท่อมีเวสิเคิล (vesicle) (รูปที่ 4a) และมองเห็นซูโอสปอร์ (zoospore) (รูปที่ 4b) ในสปอร์แรงเจียม การศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาและสรีรวิทยาของรา *Pythium* สาเหตุโรคพืชพบว่ามีเส้นใยแบบไม่มีผนังกัน และเจริญเต็มงานเพาะเชื้อภายใน 2-3 วัน ทำให้เกิดโคโลนีที่มีลักษณะคล้ายปุยฝ้าย มีสปอร์แรงเจียมและถุงเวสิเคิลแยกออกมา [30]

ตารางที่ 1 ลักษณะโคโลนีของเชื้อรา 7 ไอโซเลท คัดแยกจากใบมะพร้าวที่ปรากฏอาการของโรคยอดเน่า และโรคใบจุด

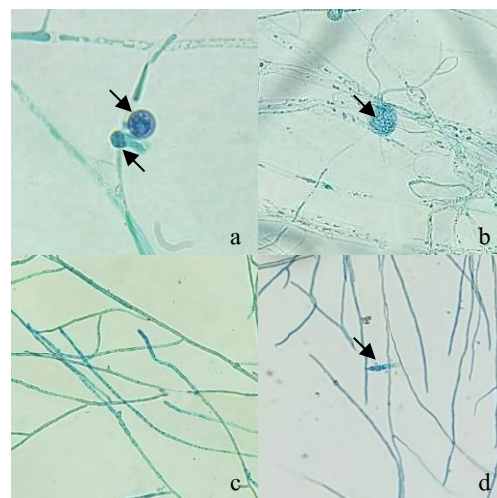
ไอโซเลท	ลักษณะโคโลนี	
Pt1	โคโลนีสีขาว เส้นใยเจริญเป็นเส้นตรงสม่ำเสมอแผ่เกือบเต็มงานเพาะเชื้อ	
Pt2	โคโลนีรอบนอกสีขาว ตรงกลางมีสีเข้ม เส้นใยฟูค่อนข้างหนา	
Pt3	โคโลนีรอบนอกสีขาว ตรงกลางบางและมีสีเข้ม เส้นใยเจริญแบบแตกแขนงและไม่ฟู	
Pt4	โคโลนีสีขาว เส้นใยฟูและหนาแน่น	
Ha1	โคโลนีมีขอบนูนหยักสีขาวเทา ตรงกลางแบนมีสีเข้ม เส้นใยบริเวณขอบโคโลนีฟูแน่น	

ไอโซเลต	ลักษณะโคโลนี	
Ha2	โคโลนีขนาดใหญ่ สร้างเส้นใยบางเบากระจายทั่วจานเพาะเชื้อ	
Ha3	โคโลนีมีสีเทาเข้ม เส้นใยไม่ฟู ขอบโคโลนีหยักและมีสีขาว	

ส่วนเชื้อราไอโซเลต Ha1 มีเส้นใยแบบมีผนังกัน (รูปที่ 4c) สร้างสปอร์โคนิเดียมมีรูปร่างยาวภายในประกอบด้วย 3-7 เซลล์ (รูปที่ 4d) ศิริพร [31] รายงานว่าเชื้อรา *Helminthosporium oryzae* สาเหตุของโรคใบจุดสีน้ำตาลในข้าวจะสร้างโคโลนีที่มีเส้นใยสีดำหรือสีเทา และสร้างสปอร์ โคนิเดียมในปริมาณน้อย สันฐานวิทยาของรา เช่น ลักษณะโคโลนี สี เส้นใย รวมถึงสปอร์ สามารถใช้เพื่อจัดจำแนกเชื้อราได้ในระดับแฟมิลี (family) หรือจีส (genus) [32]



รูปที่ 3 การก่อโรคของเชื้อรา 7 ไอโซเลต ที่คัดแยกจากต้นมะพร้าวที่ปรากฏอาการของโรคยอดเน่า (Pt) และต้นมะพร้าวที่ปรากฏอาการของโรคใบจุด (Ha)



รูปที่ 4 ลักษณะเส้นใยและสปอร์ของราไอโซเลต Pt1 (a, b) และ Ha1 (c, d)

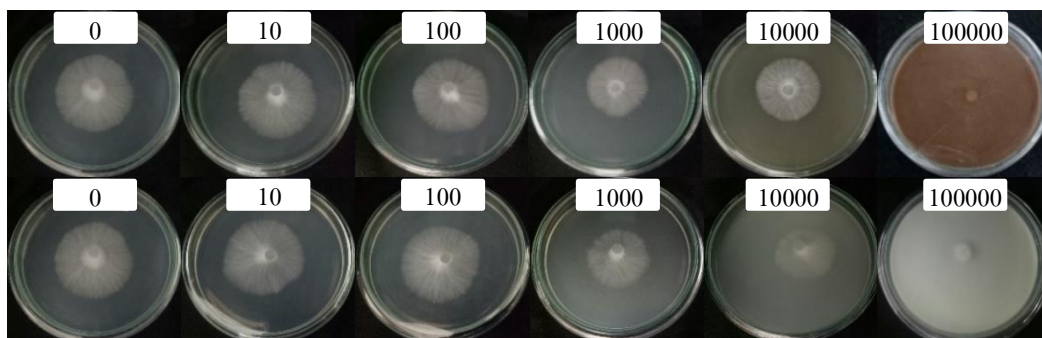
3.5 ประสิทธิภาพของสารสกัดจากกะลามะพร้าวในการยับยั้งเชื้อราก่อโรค

ผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราก่อโรค ด้วยวิธี Poised food technique ที่ระดับความเข้มข้น 10, 100, 1000, 10000 และ 100000 ppm บนอาหาร PDA (รูปที่ 5 และ 6) พบว่าสารสกัดจากกะลามะพร้าวสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราทั้งสองไอโซเลต ร้อยละการยับยั้งการเจริญจะเพิ่มขึ้นตามระดับความเข้มข้นของสารสกัด โดยสารสกัดเข้มข้น 100000 ppm สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราไอโซเลต Pt1 ได้สูงสุด คิดเป็นร้อยละ 100 (เทียบกับขนาดโคโลนีของชุดควบคุมลบ) ในขณะที่สารสกัด

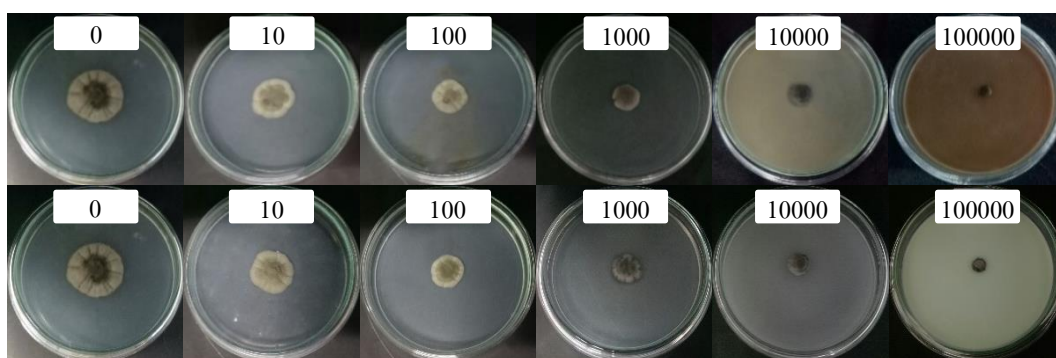
เข้มข้น 100 และ 10 ppm ยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Pt1* ได้เพียงร้อยละ 2.11 และ 2.08 ตามลำดับ และ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 2) เช่นเดียวกับเชื้อรา *Pt1* สารสกัดเข้มข้น 100000 ppm สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Ha1* ได้สูงสุด เท่ากับร้อยละ 100 และลดลงตามระดับความเข้มข้น โดยสารสกัดเข้มข้น 10 ppm แสดงการยับยั้งการ เจริญของเชื้อรา *Ha1* ต่ำที่สุด คิดเป็นร้อยละ 12.31 (ตารางที่ 3) อย่างไรก็ตามการทดสอบประสิทธิภาพ ของสารสกัดเปรียบเทียบกับสารกำจัดเชื้อราคาร์-เบนดาซิม (carbendazim) พบว่าที่ระดับความเข้มข้น 100000 ppm ประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อรา *Pt1* ของสารสกัดกะหล่ำมะพร้าวสูงกว่าคาร์เบนดาซิม อย่างมีนัยสำคัญ ในขณะที่สารสกัดกะหล่ำมะพร้าว 10 100 และ 1000 ppm มีประสิทธิภาพในการยับยั้ง เชื้อรา *Ha1* สูงกว่าคาร์เบนดาซิมอย่างมีนัยสำคัญ โดยพบว่าสารสำคัญที่พบมากในน้ำมันและสาร สกัดจากกะหล่ำมะพร้าว ได้แก่ สารประกอบฟีนอลิก กรดไขมันชนิดต่าง ๆ รวมถึงกรดกรดลอริก ซึ่งมี สมบัติในการต้านจุลินทรีย์ โดยคาดว่ากลไกการ ออกฤทธิ์เกิดจากการทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ [33, 34]

คาร์เบนดาซิมเป็นสารฆ่าเชื้อราประเภท ดูดซึมออกฤทธิ์กว้าง มีการใช้อย่างแพร่หลายเพื่อ กำจัดโรคที่มีสาเหตุจากเชื้อราในพืชผัก พืชไร่ ข้าว และธัญพืช ผลไม้ รวมถึงมะพร้าว คาร์เบนดาซิม

เป็นสารที่สลายตัวยากเนื่องจากมีความคงตัวสูง มีรายงานว่า กระทรวงสาธารณสุขได้ห้ามคุ้มครอง มะพร้าวซึ่งนำเข้าจากประเทศไทยจำนวน 21.7 ตัน และพบสารคาร์เบนดาซิมตกค้างในปริมาณสูงเกิน กว่าที่กำหนด [35] การใช้สารเคมีดังกล่าวในระดับ ที่มีความเข้มข้นสูงเกินไปสามารถส่งผลต่อการ เปลี่ยนแปลงพันธุกรรมของเชื้อราและเกิดการดื้อยา ได้ อย่างไรก็ตาม นิสากร [36] รายงานว่าคาร์เบน-ดาซิมเข้มข้น 1000 mg/L (ppm) สามารถควบคุมการ เจริญของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* และ *Corynespora cassiicola* ได้ ใน ระดับ ห้องปฏิบัติการ และยังไม่พบการดื้อยาในระดับ Highly resistant เช่นเดียวกับการศึกษาของ Chavan *et al.* [37] ที่พบว่าคาร์เบนดาซิม 1000-1500 ppm สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* สาเหตุของโรคเหง้าเน่า (rhizome rot) ในขมิ้น ได้ร้อยละ 100 คาร์เบน-ดาซิมและ Thiophanate-methyl (TMP) เป็นสารเคมี ในกลุ่ม Methyl Benzimidazole Carbamates ที่ มี ความเสี่ยงสูงต่อการเกิดการดื้อยา [38] โดยในปี2007 มีรายงานว่าพบการดื้อยาของเชื้อรา *Helminthosporium solani* ต่อTMP ในพื้นที่เพาะปลูก [39] อย่างไรก็ตามยังไม่พบรายงานการดื้อต่อยาคาร์เบนดาซิมของ เชื้อรา *Pythium* spp. แต่พบว่ามีรายงานการดื้อยาใน กลุ่ม Phenylamide [40]



รูปที่ 5 โคโลนีของเชื้อราไอโซเลท Pti บนอาหาร PDA ผสมสารสกัดจากกะหล่ำมะพร้าว (แถวบน) และคาร์เบนดาซิม (แถวล่าง) เข้มข้น 0, 10, 100, 1000, 10000 และ 100000 ppm



รูปที่ 6 โคโลนีของเชื้อราไอโซเลท Ha1 บนอาหาร PDA ผสมสารสกัดจากกะหล่ำมะพร้าว (แถวบน) และคาร์เบนดาซิม (แถวล่าง) เข้มข้น 0, 10, 100, 1000, 10000 และ 100000 ppm

ตารางที่ 2 ร้อยละการยับยั้งการเจริญของเส้นใยราไอโซเลท Pti บนอาหาร PDA ด้วยสารสกัดจากกะหล่ำมะพร้าวที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ เปรียบเทียบกับสารยับยั้งเชื้อราคาร์เบนดาซิม

ระดับความเข้มข้น (ppm)	ร้อยละการยับยั้งการเจริญ	
	สารสกัดกะหล่ำมะพร้าว	คาร์เบนดาซิม
100000*	100.00 ^a ± 0.00	73.94 ^a ± 1.04
10000	25.30 ^b ± 3.09	26.72 ^b ± 2.65
1000	16.15 ^c ± 2.89	18.30 ^c ± 2.23
100	2.11 ^d ± 0.05	2.13 ^d ± 0.06
10	2.08 ^d ± 0.00	2.08 ^d ± 0.00

ตัวอักษร a, b, c และ d ที่เหมือนกันในคอลัมน์เดียวกัน แสดงว่าค่าเฉลี่ยไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$)

*ระดับความเข้มข้นที่ร้อยละการยับยั้งการเจริญโดยสารสกัดและคาร์เบนดาซิมมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ 3 ร้อยละการยับยั้งการเจริญของเส้นใยราไอโซเลท Ha1 บนอาหาร PDA ด้วยสารสกัดจากกะลามะพร้าวที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ เปรียบเทียบกับสารยับยั้งเชื้อราคาร์เบนดาซิม

ระดับความเข้มข้น (ppm)	ร้อยละการยับยั้งการเจริญ	
	สารสกัดกะลามะพร้าว	คาร์เบนดาซิม
100000	100.00 ^a ± 0.00	100.00 ^a ± 0.00
10000	60.39 ^b ± 2.23	57.26 ^b ± 2.28
1000*	45.83 ^c ± 0.92	42.70 ^c ± 0.94
100*	36.88 ^d ± 3.55	27.07 ^d ± 1.17
10*	12.31 ^e ± 0.27	3.13 ^e ± 0.14

ตัวอักษร a, b, c และ d ที่เหมือนกันในคอลัมน์เดียวกัน แสดงว่าค่าเฉลี่ยไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$)

*ระดับความเข้มข้นที่ร้อยละการยับยั้งการเจริญโดยสารสกัดและคาร์เบนดาซิมมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

จากงานวิจัยนี้จะเห็นได้ว่าทั้งสารสกัดกะลามะพร้าวและคาร์เบนดาซิมที่ระดับความเข้มข้น 10 – 10000 ppm มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา Pt1 ก่อนข้างต่ำ (ร้อยละการยับยั้งต่ำกว่า 30) จึงอาจเป็นไปได้ว่าเชื้อรา Pt1 สามารถต้านทานต่อสารสกัดกะลามะพร้าวและคาร์เบนดาซิมที่ระดับความเข้มข้นดังกล่าว

4. สรุปผลการวิจัย

สารสกัดกะลามะพร้าวมีศักยภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราก่อโรคยอดเน่าและโรคใบจุดในมะพร้าว จากผลการวิจัยประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราของสารสกัดสามารถเทียบได้คาร์เบนดาซิม จึงมีความเป็นไปได้ที่จะนำไปใช้ทดแทนการใช้คาร์เบนดาซิมรวมถึงสารเคมีในกลุ่ม Methyl Benzimidazole Carbamates ในการป้องกันหรือกำจัดโรคพืชที่เกิดจากเชื้อรา *Pythium* spp. และ *Helminthosporium* spp. ซึ่งจะช่วยลดปัญหาสารเคมี

ตกค้างและการดื้อยาของเชื้อราก่อโรคได้ อย่างไรก็ตามการใช้สารสกัดกะลามะพร้าวเพื่อยับยั้งการเจริญของเชื้อราอาจต้องใช้ในระดับที่มีความเข้มข้นสูง (100000 ppm) จึงจะมีประสิทธิภาพ

5. เอกสารอ้างอิง

- [1] สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2561. ข้อมูลการผลิตสินค้าเกษตร. แหล่งที่มา: [http://www.oae.go.th/assets/portals/1/fileups/prcaidata/files/coconut61\(1\).pdf](http://www.oae.go.th/assets/portals/1/fileups/prcaidata/files/coconut61(1).pdf), 24 ธันวาคม 2562.
- [2] เกียรติศักดิ์ ใจโต เทวรัตน์ ตรีอำนาจ ตรีอำนาจ และนาฏชนก ปรางปรุ. การอบแห้งมะพร้าวหูดด้วยเทคนิคสเปาเต็ดเบดสำหรับการผลิตน้ำมันมะพร้าวด้วยวิธีบีบเย็น. วารสารสมาคมวิศวกรรมเกษตรแห่งประเทศไทย. 2559. (22)1 : 64-72.

- [3] กรมเจรจาการค้าระหว่างประเทศ. 2560. สิ้นค้ามะพร้าวและผลิตภัณฑ์. แหล่งที่มา : <http://flacenter.dtn.go.th/wp-content/uploads/2018/04/coco0860.pdf>, 26 สิงหาคม 2562.
- [4] Yerizam M., Faizal M., Marsi M. and Novia N. Characteristics of composite rice straw and coconut shell as biomass energy resources (briquette) (Case study: Muara Telang village, Banyuasin of South Sumatra). *Int J Adv Sci Eng Inf Technol*. 2013. 3(3) : 42-48.
- [5] Ana G. R. and Fabunmi V. T. Energy efficiency evaluation from the combustion of selected briquettes-derived agro-waste with paper and starch binders. *Int Sust Green Energ*. 2016. 5(4) : 71-79.
- [6] Riyadi R., Dwiyati S. T., Kholil A. and Ilahi A. Charcoal briquettes characteristics of HDPE mixed with water hyacinth, coconut shell, and bagasse. *Int J Energ Eng*. (2016). 6(3) : 43-48.
- [7] Sirun A., Siwi H. and Umboh M. K. The effect of density and hardness at the rate of burning coconut shell briquettes and water hyacinth. *Int J Sci Res*. 2018. 7(12). 161-164.
- [8] Dziedzic K., Mudryk K., Hutsol T. and Dziedzic B. Impact of grinding coconut shell and agglomeration pressure on quality parameters of briquette. *Proceeding of 17th International Scientific Conference Engineering for Rural Development*. Jelgava, Latvia. 23-25 May 2018 ; 1884-1889.
- [9] Iqbalidin M. N., Khudzir I., Azlan M. I., Zaidi A. G., Surani B. and Zubri Z. Properties of coconut shell activated carbon. *J Trop For Sci*. 2013. 25(4) : 497-503.
- [10] Das D., Samal D. P. and Meikap B. C. Preparation of activated carbon from green coconut shell and its characterization. *J Chem Eng Process Technol*. 2015. 6(5). 1-7.
- [11] Daud W. M., Mustafa S., Rahmadulla S. R., Ghani S. A. and Hisyam A. Technical and economic feasibility study of coconut shell charcoal production as precursor to activated carbon in east coast Malaysia. *Int J Sup Chain Mgt*. 2017. 6(2) : 127-132.
- [12] Mostapha M. and Husseinsyah S. The effect of filler content on properties of coconut shell filled polyester composites. *Malaysian Pol J*. 2011. 6(1) : 87-97.
- [13] Kaur M. and Kaur M. A review on utilization of coconut shell as coarse aggregates in mass concrete. *Int J App Eng Res*. 2012. 7(11) : 2063-2065.
- [14] Anwar A., Ahmad S. and Ahmed S. A. Performance of waste coconut shell as partial replacement of natural coarse aggregate in concrete. *Int J Sci Eng Res*. 2016. 7(8) : 1802-1809.

- [15] Ganiron Jr T. U., Ucol-Ganiron N. and Ganiron III T. Recycling of waste coconut shells as substitute for aggregates in mix proportioning of concrete hollow blocks. *Sci World J.* 2017. 77(2) : 107-123.
- [16] Shruthi H. G., Harshith M. K., Pruthvi M. and Sharath K. M. Performance evaluation of waste coconut shells and coir fiber as substitute for coarse and fine aggregate in structural concrete members. *Int Res J Eng Technol.* 2018. 5(6) : 1349-1353.
- [17] ณัฐพร อุทัยมงคล. 2559. มาตรการสุขอนามัยพืชในการส่งออกสินค้าเกษตร. แหล่งที่มา : <http://www.doa.go.th/research/attachment.php?aid=2210>, 26 สิงหาคม 2562.
- [18] Borate P. P., Disale S. D. and Ghalme R. S. Studies on isolation, analysis and antimicrobial properties of coconut Shell oil. *Int J Adv Sci Tech Res.* 2013. 3(2) : 146-157.
- [19] Sodha R., Gaonkar S., Kolte S. and Padmanabha P. Antibacterial and antifungal activity of crude coconut shell oil. *Int Res J Biological Sci.* 2015. 4(11) : 16-20.
- [20] Thebo N. K., Simair A. A., Mangrio G. S., Ansari K. A., Bhutto A. A., Lu C. and Sheikh W. A. Antifungal potential and antioxidant efficacy in the shell extract of *Cocos nucifera* (L.) (Arecaceae) against pathogenic dermal mycosis. *Medicines.* 2016. 3(12) : 1-12.
- [21] Pritha S. D. and Karpagam S. Evaluation of phytochemical content of coconut shell oil. *Nat J Adv Res.* 2017. 3(2). 1-2.
- [22] Pritha S. D. and Karpagam S. Antimicrobial activity of coconut shell oil. *Int J Pharma Sci Res.* 2018. 9(4) : 1628-1631.
- [23] Lima E. B., Sousa C. N., Meneses L. N., Ximenes N. C., Santos Jr M. A., Vasconcelos G. S. and Vasconcelos S. M. *Cocos nucifera* (L.) (Arecaceae): A phytochemical and pharmacological review. *Braz J Med Biol Res.* 2015. 48(11) : 953-964.
- [24] Dhanya G., Vivek P. and Ashish G. R. Phytochemical analysis of coconut shell (*Cocos nucifera* Linn.) using gas chromatography - mass spectrometry (GC-MS). *J Pharmacogn Phytochem.* 2018. 7(6) : 384-386.
- [25] Homung B., Arntmann E. and Sauer G. Lauric acid inhibits the maturation of vesicular stomatitis virus. *Gen Virol.* 1994. 75 : 353-361.
- [26] Tangwatcharin P. and Khopaibool P. Activity of Virgin Coconut Oil, Lauric Acid or Monolaurin in Combination with Lactic Acid against *Staphylococcus aureus*. *Southeast Asian J Trop Med Public Health.* 2012. 43(4) : 969-985.

- [27] พิเชษฐ์ ฒ นกร. 2561. ยุทธศาสตร์มะพร้าว ไทย-อินโดฯ. แหล่งที่มา: https://www.ditp.go.th/contents_attach/241072/241072.pdf, 30 มิถุนายน 2562.
- [28] สุวรรณิ์ แทนธานี จารวี สุขประเสริฐ สายจิต คาวสุโข และโสธรรอดประเสริฐ. การศึกษา ประสิทธิภาพของสารสกัดว่านน้ำในการ ยับยั้งเชื้อราก่อโรคผลเน่าที่แยกได้จากผล ลิ้นจี่. *Bull Appl Sci*. 2014. 3(3) : 88-101.
- [29] กรมวิชาการเกษตร. 2562. การผลิตมะพร้าว. แหล่งที่มา :<http://www.doa.go.th/hort/wp-content/uploads/2019/01/การผลิตมะพร้าว.pdf>, 5 กันยายน 2562.
- [30] อมรรัตน์ ภูไพบูลย์ และพีระวรรณ วัฒน วิชาส. 2552. ตำรา รวบรวม และจำแนกราก *Pythium* สาเหตุโรคพืช. แหล่งที่มา : <http://www.doa.go.th/research/attachment.php?aid=1872>, 5 กันยายน 2562.
- [31] ศิริพร อ่ำทอง. ประสิทธิภาพของ โฟแทสเซียมซิลิเกตและเชื้อรา *Trichoderma harzianum* ในการลดโรคใบจุดสีน้ำตาล โรคเมล็ดค่างและเพิ่มผลผลิตของข้าว. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. ภาควิชา โรคพืช. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 2557.
- [32] Alsohaili S.A. and Bani-Hasan B.M. Morphological and molecular identification of fungi isolated from different environmental sources in the northern eastern. *Jordan J Biol Sci*. 2018. 11(3) : 329-337.
- [33] Pohl C., Kock, J. and Thibane, V. Antifungal free fatty acids: a review. In: Mendez-Vilas A., editor. *Science Against Microbial Pathogens: Communicating Current Research and Technological Advances*. Formatex research center, Badajoz. 2011.
- [34] Pizzolitto R.P., Barberis C.L., Dambolena J.S., Herrera J.M., Zunino M.P., Magnoli C.E., Rubinstein H.R., Zygodlo J.A. and Dalcero A.M. Inhibitory effect of natural phenolic compounds on *Aspergillus parasiticus* growth. *J Chem*. 2015. 1-7.
- [35] ภาณุมาศ นาคเจือทอง สุมิตรา ใจเชื้อ ชนิ ตสรา งามศักดิ์ประเสริฐ และภารดี ช่วย บำรุง. ปริมาณคาร์บอนดาซิมในผลผลิต การเกษตรและการกำจัดด้วยปฏิกิริยาโฟโต คัดเลไลซิส. *KKU Res. J. Sci. Tech*. 2011. 16(5) : 454-467.
- [36] นิสากร สุวรรณ. การตอบสนองต่อสารคาร์ เบนดาซิมของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* และ *Corynespora cassiicola* สาเหตุโรคใบจุดในยางพาราใน สภาพห้องปฏิบัติการ. *J Sci Technol MSU*. 2018. 37(6) : 871-880.
- [37] Chavan P.G., Apet K.T. and Borade R.S. Efficacy of fungicides and bioagents against *Pythium aphanidermatum* causing rhizome rot of turmeric. *Int J Curr Microbiol App Sci*. 2017. 6(11) : 4312-4320.

- [38] อนันต์ วงเจริญ. ผลของสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราต่อการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคของข้าว. *Khon Kaen Agr J.* 2013. 41(1) : 527-531.
- [39] Geary B., Johnson D. A., Hamm P. B., James S. and Rykbost K. A. Potato silver scurf affected by tuber seed treatments and locations, and occurrence of fungicide resistant isolates of *Helminthosporium solani*. *Plant Dis.* 2007. 91(3) : 315–320.
- [40] FRAC, "*List of plant pathogenic organisms resistant to disease control agents*". Available: [https://www.frac.info/docs/default-source/publications/list-of-resistant-plant-pathogens/list-of-resistant-plant-pathogenic-organisms_may-2018.pdf?sfvrsn=a2454b9a_2,\(2019\).](https://www.frac.info/docs/default-source/publications/list-of-resistant-plant-pathogens/list-of-resistant-plant-pathogenic-organisms_may-2018.pdf?sfvrsn=a2454b9a_2,(2019).)