

ผลของสารสกัดหยาบพืชสมุนไพรและไคโตซานต่อการยับยั้งเชื้อก่อโรคแตงกวา

Effect of Herb Crude Extracts Mixed on Chitosan to Inhibit Cucumber Pathology



สมฤทัย ตันมา¹ และณรงค์ฤทธิ์ ดีบัวคำบ้อ²

บทคัดย่อ

พืชวงศ์แตงเป็นพืชที่นิยมปลูกในประเทศไทย เช่น แตงกวา แตงโม เมล่อน แคนตาลูป ฟักทอง มะระ เป็นต้น ปัญหาสำคัญของการปลูกพืชวงศ์แตงคือ การเกิดโรคระบาดที่ก่อให้เกิดความเสียหายทางเศรษฐกิจอย่างมาก ซึ่งโรคระบาดในพืชวงศ์แตงเกิดจากสาเหตุหลักคือเชื้อก่อโรค 3 ชนิด ได้แก่ เชื้อ Watermelon mosaic virus-2 (WMV-2), เชื้อไวรัสในกลุ่มโพทิวรัส (Potyvirus) และเชื้อแบคทีเรีย *Acidovorax avenae* subsp. *citrullii* (Aac) ทำให้มีการใช้สารเคมีในการเพาะปลูกพืชเหล่านี้อย่างแพร่หลาย ดังนั้น งานวิจัยนี้จึงศึกษาการใช้สารสกัดจากพืชสมุนไพรและไคโตซานเพื่อยับยั้งเชื้อก่อโรคพืชในแตงกวา ผลการตรวจด้วยชุดตรวจ Cucurbits-3 in 1 Easy kit (สวทช.) กับใบแตงกวาที่ได้จากแปลงทดลองที่มีการใช้สารชีวภาพฉีดพ่นเป็นเวลา 30 วัน พบว่าสารผสมสารละลายไคโตซานและสารสกัดใบสาบเสือ มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อก่อโรคทั้ง 3 ชนิดได้ และ ใบพืชไม่แสดงอาการติดโรค ในขณะที่สารผสมสารละลายไคโตซานและสารสกัดใบสะเดา และสารผสมสารละลายไคโตซานและสารสกัดใบฝรั่งให้ผลบวกต่อเชื้อ Potyvirus และใบพืชแสดงอาการติดโรคโดยมีจุดสีเหลืองน้ำตาลบนใบพืช สำหรับใบแตงกวาที่ใช้สารละลายไคโตซานฉีดพ่นเพียงอย่างเดียว พบว่าใบพืชให้ผลลบต่อการติดเชื้อทั้ง 3 ชนิด แต่ใบพืชได้รับความเสียหายจากการโดนแมลงกัดกิน จากนั้นศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของสารผสมสารละลายไคโตซานและสารสกัดใบสาบเสือด้วยเทคนิค GC-MS พบว่าประกอบด้วยสารที่สำคัญคือ Acetic acid, Ethanol, Propanol, 2-methyl, Acetone และ Butanal, 3-methyl ตามลำดับ จากผลการศึกษาเบื้องต้นพบว่าของผสมสารละลายไคโตซานและสารสกัดใบสาบเสือ มีประสิทธิภาพยับยั้งการเกิดเชื้อก่อโรค 3 ชนิดในแตงกวาได้ อีกทั้งป้องกันแมลงศัตรูพืชมากัดกินในพืชได้เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้สารละลายไคโตซานเพียงอย่างเดียว

คำสำคัญ: ไคโตซาน แตงกวา โพทิวรัส สาบเสือ

ABSTRACT

Plants in the cucurbitaceae family have been widely cultivated in Thailand i.e. cucumber, watermelon, melon, cantaloupe, pumpkin and bitter gourd. The major problem in cucurbitaceae cultivation is the plant pathology outbreaks which cause substantial economic damage. The cucurbitaceae epidemic plant disease is caused by three types of pathogens: Watermelon mosaic virus-2 (WMV-2), Potyvirus and *Acidovorax avenae* subsp. *citrullii* (Aac). Chemicals therefore are widely used in the cultivation of these plants. In this research investigation, the researchers studied the use of crude extracts from herbs and chitosan to inhibit plant pathogens in cucumbers. Cucurbits-3 in 1 easy kit (NSTDA) was used to detect the inhibitory

¹ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ คณะครุศาสตร์ สาขาวิชาเคมี มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงราย

² คณะครุศาสตร์ สาขาวิชาเคมี มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงราย

effect on the cucumber leaves obtained from the experimental planting plot which had been sprayed with biological substances for thirty days. The result showed that the mixture of chitosan and Siam weed (*Chromolaena odorata*) extracts was efficient in inhibiting all three types of pathogens and the cucumber leaves did not show signs of infection. The mixture of chitosan and neem leaf (*Azadirachta indica*) extract and the mixture of chitosan and guava leaf extracts showed a positive effect on Potyvirus and the plant leaves showed signs of infection with yellow-brown spots on the leaves. Cucumber leaves sprayed with chitosan only were found to exhibit negative effects on all three types of pathogens. Plant leaves were damaged by insect bites. The study of the chemical components of the chitosan solution and Siam weed extracts using the GC-MS technique found that the major substances were Acetic acid, Ethanol, Propanol, 2-methyl, Acetone and Butanal, and 3-methyl. The basic study found that the components of chitosan solutions and Siam weed extracts exhibited efficiency in inhibiting the three types of pathogens in cucumbers and could prevent insect pests when compared with the use of chitosan only.

Keywords: chitosan, cucumber, Potyvirus, Siam weed

บทนำ

พืชวงศ์แตงเป็นพืชที่นิยมปลูกในประเทศไทย โดยเฉพาะภาคเหนือตอนบน เช่น แตงกวา แตงโม เมล่อน แคนตาลูป ฟักทอง มะระ เป็นต้น พืชวงศ์แตงมีความสำคัญทางเศรษฐกิจและกำลังจะได้รับการส่งเสริมให้มีการปลูกกันอย่างกว้างขวางโดยเฉพาะแตงกวาเพื่อใช้ผลิตอาหารกระป๋องสำเร็จรูป เช่น ทำแตงกวาดอง เป็นต้น แต่อย่างไรก็ตามการปลูกแตงกวาและพืชวงศ์แตงมักประสบปัญหาสำคัญคือการเกิดโรคระบาดที่ก่อให้เกิดความเสียหายทางเศรษฐกิจอย่างมาก ซึ่งโรคระบาดในพืชวงศ์แตงเกิดจากสาเหตุหลักคือเชื้อก่อโรค 3 ชนิด ได้แก่ เชื้อ *Watermelon mosaic virus-2* (WMV-2), เชื้อไวรัสในกลุ่มไฟที่ไวรัส (Potyvirus) และเชื้อแบคทีเรีย *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* (Aac) นอกจากนี้ยังมีเชื้อในกลุ่มเชื้อราพวก *Fusarium oxysporum*, *Pseudoperonospora cubensis*, *Erysiphe cichoracearum*, *Sphaerotheca fuliginea*, *Colletotrichum* spp., *Alternaria* spp. และเชื้อแบคทีเรีย เช่น *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*, *Erwinia tracheiphila* อีกทั้งแมลงศัตรูพืชจำพวก เพลี้ยไฟ เพลี้ยอ่อน เต่าแตงแตง ซึ่งเชื้อและแมลงเหล่านี้ก่อให้เกิดโรคต่างๆ ต่อพืชวงศ์แตง อาทิ โรคราน้ำค้าง (Downy mildew) หรือที่เกษตรกรนิยมเรียกว่าโรคใบลาย, โรคใบด่าง (Mosaic) และโรคใบจุดเหลี่ยม

(angular leaf spot) เป็นต้น ทำให้มีการใช้สารเคมีสังเคราะห์ในการเพาะปลูกพืชเหล่านี้อย่างมาก ซึ่งก่อให้เกิดสารเคมีอันตรายตกค้างในผลผลิตและสิ่งแวดล้อม ส่งผลกระทบต่อสุขภาพของทั้งตัวเกษตรกรและผู้บริโภค

ปัจจุบันแนวทางการทำเกษตรอินทรีย์ได้รับการยอมรับเพิ่มมากขึ้น เกษตรกรมีการใช้สารชีวภาพที่ได้จากพืชหรือสัตว์ต่างๆ ทดแทนการใช้สารเคมีสังเคราะห์เพื่อกำจัดเชื้อก่อโรคและแมลงศัตรูพืชอย่างแพร่หลาย เนื่องจากสารออกฤทธิ์ที่สกัดจากพืชและสัตว์ไม่คงทนและสลายตัวง่าย จึงไม่ก่อให้เกิดการสะสมของสารพิษในผลผลิตและสิ่งแวดล้อม (Murray, 2000) อาทิ การทดสอบประสิทธิภาพสารสกัดจากใบสบเสื่อที่สกัดด้วยเอทานอล ในการเป็นสารไล่ สารฆ่าและสารยับยั้งการกินของเพลี้ยอ่อนถั่วฝักยาว พบว่าประสิทธิภาพของสารสกัดจากใบสบเสื่อมีผลต่อการไล่ การฆ่า และการยับยั้งการกินของเพลี้ยอ่อนถั่วฝักยาว (Leguminosae) (ณัฐพงศ์, 2560) การศึกษาใช้สารสกัดจากพืชในพื้นที่สะลง อ.แมริม จ.เชียงใหม่ ควบคุมการเจริญของเชื้อ *Colletotrichum* sp. ที่ก่อให้เกิดโรคแอนแทรคโนสในพริก ทำการทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดจากพืช 12 ชนิด ได้แก่ กะเพรา กระเทียม ข่า ขมิ้น ดีปลี พลุ พลุควา พ้าทะลายโจร มะกรูด ส้มป่อย สะระแหน่ และสบเสื่อ โดยทำการสกัดด้วยเอทานอล

95 เปอร์เซ็นต์และน้ำกลั่น ทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา พบว่าสารสกัดจากข่าให้ผลในการยับยั้งที่ดีที่สุดที่สกัดด้วยเอทานอล และน้ำกลั่น ตามลำดับ (กัลทิมา, 2547) การศึกษาทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดพืช 5 ชนิด ได้แก่ ใบฝรั่ง ใบพลู เปลือกทับทิม รากหญ้าคา และหัวแก่นตะวัน ในการยับยั้งการเจริญของ *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* สาเหตุโรคเน่าและของผักกาดขาวปลี ทั้งในสภาพห้องปฏิบัติการและเรือนปลูกพืชทดลอง สารสกัดหยาบพืชทั้ง 5 ชนิด โดยใช้สารตัวทำลายเอทานอล 95% เอทิลอะซิเตท เฮกเซน และน้ำ กรองและระเหยแห้งภายใต้สภาพสุญญากาศ ผลการวิจัยพบว่าสารสกัดหยาบใบพลูในเอทานอล 95% และในเอทิลอะซิเตท มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคเน่าและได้ดีที่สุด (วิลาวรรณ และคณะ, 2559) การศึกษาผลของการพ่นน้ำส้มควันไม้ สารสกัดพืชสูตรผสม (ไม้ต้น 40% หนอนตายหยาก 20% บอระเพ็ด 5% ตะไคร้หอม 5% ยูคาลิปตัส 5% ข่า 5% มะคำดีควาย 5%) สารสกัดหยาบยี่ถ่อ สารสกัดสะเดา จุลินทรีย์ *Baillus subtilis* จุลินทรีย์ *Trichoderma* spp. และสารสกัดหยาบมะรุม ต่อการควบคุมศัตรู ลำไยในสภาพแปลงปลูก และในโรงเรือนมุ้งตาข่าย ระหว่างปี 2555-2556 พบว่าการพ่นสารสกัดพืชสูตรผสมอัตราเจือจางน้ำ 400 เท่า ทุกๆ 2 สัปดาห์ ให้ผลดีที่สุดในการควบคุมแมลงศัตรูลำไย โดยสามารถลดความเสียหายจากการเข้าทำลายของแมลงได้ 41.9% เมื่อเปรียบเทียบกับที่ไม่ใช้สาร (control) (พัชรภรณ์, 2556) ยังมีรายงานวิจัยของ (อนุรักษ์, 2561) ประสิทธิภาพของไคโตซานต่อการควบคุมโรคใบจุดของต้นกล้าปาล์มน้ำมัน พบว่าไคโตซานยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อ *C. oryzae* สาเหตุโรคใบจุดของต้นกล้าปาล์มน้ำมันบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ (in vitro) และลดอาการใบจุดบนใบ ของต้นกล้าปาล์มน้ำมัน (in vivo) ด้วยกรรมวิธี detached leaf งานวิจัยนี้ศึกษาการใช้สารสกัดที่เป็นของผสมของสารละลายไคโตซานและพืชสมุนไพรท้องถิ่นเพื่อยับยั้งการเกิดโรคของพืชวงศ์แตง โดยเตรียมสารสกัดหยาบจากใบสาบเสือ ใบสะเดา ใบฝรั่ง นำมาผสมกับสารละลายไคโตซานเพื่อใช้เป็นสารธรรมชาติสำหรับทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อก่อโรคและแมลงศัตรูพืชในแปลงทดลองแตงกวา

Cucumis sativus L.) โดยทดสอบการติดเชื้อก่อโรคแตงสำคัญ 3 ชนิดที่ใบของแตงกวาเบื้องต้นด้วยชุดตรวจ Cucurbits-3 in 1 Easy Kit (สวทช.) และศึกษาองค์ประกอบเคมีที่สำคัญของสารผสมด้วยเทคนิค GC-MS เพื่อหาสารพิษเคมีสำคัญของสารผสมที่เตรียมได้ เพื่อนำข้อมูลที่ได้มาพัฒนาเป็นสูตรสารธรรมชาติเพื่อใช้ป้องกันโรคและแมลงในแตงกวาต่อไป

จุดมุ่งหมายการวิจัย

1. เพื่อศึกษาพืชสมุนไพรในท้องถิ่นและไคโตซานที่มีผลต่อการยับยั้งเชื้อก่อโรคพืชวงศ์แตงในแปลงทดลองแตงกวา
2. เพื่อศึกษาพิษเคมีเบื้องต้นของสารสกัดหยาบพืชสมุนไพรและไคโตซานที่มีผลต่อการยับยั้งเชื้อก่อโรคแตงกวา
3. เพื่อพัฒนาสูตรสารผสมพืชสมุนไพรและไคโตซานเป็นผลิตภัณฑ์ต้นแบบป้องกันโรคพืชตระกูลแตง

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเตรียมตัวอย่างสารสกัดจากพืชและสารละลายไคโตซาน

เก็บพืชสมุนไพรใบฝรั่ง (*Psidium guajava* L.) ใบสะเดา (*Azadirachta indica* A.Juss.) และใบสาบเสือ (*Chromolaena odorata* (L.) King and Robinson) ในเขตพื้นที่อำเภอเชียงแสน จังหวัดเชียงราย นำใบพืชสมุนไพรทั้ง 3 ชนิดมาล้างทำความสะอาด ตากแดดจนแห้งสนิทประมาณ 1-2 วัน บั่นให้ละเอียด ชั่งใส่ถุง ถุงละ 3 กรัม เตรียมสารละลายไคโตซาน 1.0% w/v ใน 1.0% v/v Acetic acid แล้วนำใบพืชสมุนไพรทั้ง 30 ชนิดที่ชั่งไว้มาผสมกับสารละลายไคโตซาน 1.0% w/v โดยมีอัตราส่วน 20 มิลลิลิตร และน้ำ 5 ลิตร แช่ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อทดสอบในแปลงทดลองต่อไป คิดค่าความเข้มข้นของสารสกัดในสารละลายได้ 0.06% w/v

2. การเตรียมตัวอย่างพืชเพื่อปลูกทดสอบโรคในแปลงทดลอง

นำเมล็ดแตงกวา (*Cucumis sativus* L.) พันธุ์ลูกผสมล้านนา โดยเลือกเมล็ดที่สมบูรณ์เพาะลงในถาดเพาะ หลุมละ 2 เมล็ด ประมาณ 2 สัปดาห์ รดน้ำ

พอประมาณ จนต้นอ่อนเริ่มงอกและมีรากออกมา แข็งแรงพร้อมที่จะเจริญเติบโต เตรียมแปลงปลูก แดงกวา และนำต้นกล้าที่เพาะไว้มาลงปลูกในแปลง จำนวน 4 ต้นต่อหนึ่งแปลง จำนวน 3 แปลง โดยการ ทดลองออกเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มควบคุม (control) และ กลุ่มทดลอง (treatment) เมื่อต้นแดงกวาโตพอสมควร มีอายุประมาณ 2 สัปดาห์ จึงเริ่มการใช้กับสารสกัดพืช สมุนไพรที่เตรียมไว้ต่อไป

3. ประสิทธิภาพของสารสกัดพืชสมุนไพรและ สารละลายโคโตซานต่อการยับยั้งเชื้อก่อโรค แดงกวาในแปลงทดลอง

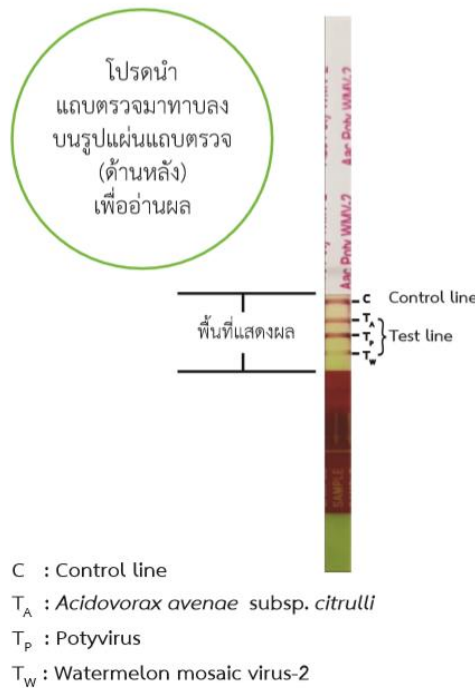
เตรียมสารผสมสารละลายโคโตซานและสาร สกัดใบสะเดา, สารละลายโคโตซานและสารสกัดใบฝรั่ง, สารละลายโคโตซานและสารสกัดใบสาบเสือ เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของสารผสมในการยับยั้ง เชื้อก่อโรคของแดงกวา เป็นระยะเวลา 30 วัน ทำการ ฉีดพ่นสารผสมที่เตรียมไว้ โดยฉีดพ่นทุกๆ 5 วัน สังเกตการเจริญเติบโตของต้นแดงกวาและการเกิดโรค ที่ใบของแดงกวา จากนั้นนำตัวอย่างใบพืชทั้งกลุ่ม ควบคุม และกลุ่มทดลองไปตรวจด้วยชุดตรวจ

Cucurbits-3 in 1 Easy Kit (สวทช.) นำผลที่ได้ของ กลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลองมาเปรียบเทียบกัน

4. การตรวจการติดเชื้อก่อโรค 3 ชนิด ของใบ แดงกวาด้วยชุดตรวจ Cucurbits-3 in 1 Easy Kit (สวทช.)

จุดประสงค์ของชุดตรวจ Cucurbits-3 in 1 Easy kit ใช้สำหรับตรวจหาเชื้อก่อโรคในแดงกวา 3 ชนิดได้พร้อมกันในคราวเดียว ได้แก่ Watermelon mosaic virus2 (WM-2) เชื้อไวรัสในกลุ่มโพที่ไวรัส (Potyvirus) และเชื้อแบคทีเรีย *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* (Aac) โดยชุดตรวจนี้มีความจำเพาะ เจาะจงต่อเชื้อก่อโรคพืชทั้ง 3 ชนิดข้างต้นโดยไม่ทำ ปฏิกริยาข้ามกันเองและไม่ทำปฏิกริยาข้ามกับเชื้อไวรัส และแบคทีเรียก่อโรคพืชชนิดอื่นๆ และมีความไว เพียงพอในการตรวจเชื้อในตัวอย่างพืชเป็นโรคที่เก็บ จากแปลงปลูก มีความถูกต้อง แม่นยำ ง่าย และสะดวก ในการใช้งาน รู้ผลรวดเร็วภายใน 10 นาที และสามารถ พกพาไปตรวจในแปลงปลูกได้ไม่ต้องอาศัย ผู้ชำนาญการและอุปกรณ์เครื่องมือเทียบเส้น Test line

5. เทียบเส้น Test line



ภาพที่ 1 วิธีแปลผลปฏิกิริยาที่เกิดขึ้น ผลบวก : หมายถึงตัวอย่างพืชที่ทดสอบมีเชื้อก่อโรคพืชเป้าหมาย จะเกิดแถบสีทั้ง Test line (T) และ Control line (C)

5. การศึกษาองค์ประกอบเคมี

ศึกษาองค์ประกอบเคมีของสารผสมสารละลายโคโตซานและสารสกัดพืชสมุนไพรที่สกัดด้วยสารละลาย 5% เอทานอลในน้ำ วิเคราะห์ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรมิเตอร์ รุ่น GC/MS TG8050 ยี่ห้อ Shimadzu โดยใช้คอลัมน์ capillary column ชนิด DB-5MS ขนาดความยาว 30.0 เมตร เส้นผ่านศูนย์กลาง 0.25 มิลลิเมตร ความหนาของฟิล์ม 0.1 ไมโครเมตร ใช้ฮีเลียม(He) เป็น carrier gas ด้วยอัตรา 3.0 มล./นาที ปริมาณตัวอย่างที่ฉีด 2 ไมโครลิตร ฉีดสารสกัดตัวอย่างเป็นแบบ split injection mode อัตราส่วน 5:1 และใช้โปรแกรมควบคุมอุณหภูมิ ดังนี้ ตั้งอุณหภูมิคอลัมน์เริ่มต้น 70°C เป็นเวลา 2 นาที โปรแกรมเครื่อง 120°C เป็นเวลา 2 นาที โดยเพิ่มอุณหภูมิด้วยอัตรา 3°C ต่อนาที จากนั้นเมื่อเพิ่มอุณหภูมิไปที่ 230°C โดยเพิ่มอุณหภูมิด้วยอัตรา 10°C ต่อนาที ให้อุณหภูมิตั้งที่นาน 10 นาที ส่วนของแมสสเปกโตรมิเตอร์ อุณหภูมิระหว่างเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟีกับแมสสเปกโตรมิเตอร์ (Interface) 280°C ในส่วนของแมสสเปกโตรมิเตอร์อุณหภูมิแหล่งกำเนิดอิเล็กตรอน (Ion source) 250°C พลังงานของอิเล็กตรอน (electron impact) ชนกับโมเลกุลของสาร



เท่ากับ 70 eV อุณหภูมิส่วนตัดแยกไอออน (Quadrupole) 150°C ช่วงขนาดโมเลกุลขณะวิเคราะห์เท่ากับ 50-500 อะตอมมิกแมสยูนิท จากนั้นบันทึกผลเป็นโครมาโทแกรม และประเมินผลเปรียบเทียบค่า Mass spectrum ขององค์ประกอบทางเคมีในสารสกัดใบฝรั่งแต่ละพีค (peak) ที่ได้กับค่า Mass spectrum ของค่ามาตรฐานที่มีการบันทึกไว้ใน library ในฐานข้อมูลของ NIST/EPA/NIH Mass Spectral Library 2014

ผลการวิจัย



1. ประสิทธิภาพของสารผสมสารสกัดหยาบพืชและโคโตซานต่อการยับยั้งเชื้อก่อโรคแตงกวาในแปลงทดลอง

ผลประสิทธิภาพการใช้สารผสมของพืชสมุนไพรและโคโตซานต่อการยับยั้งเชื้อก่อโรคแตงกวา 3 ชนิดในแปลงทดลองได้ว่า สารผสมสารละลายโคโตซานและสารสกัดใบสาบเสือให้ผลดีที่สุด เนื่องจากไม่พบใบแตงกวาที่ติดเชื้อ Watermelon mosaic virus-2 (WMV-2) เชื้อไวรัสในกลุ่ม Potyvirus และเชื้อแบคทีเรีย *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* (Aac) และใบไม้โดนแมลงกัดกิน แสดงผลดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 แสดงผลของสารผสมสารละลายโคโตซานและสารสกัดพืชสมุนไพรต่อการยับยั้งเชื้อก่อโรคแตงกวา 3 ชนิด ในแปลงทดลอง

ชนิดของสารผสม	ต้นแตงกวา อายุ 30 วัน (ใช้ของผสมฉีดพ่นและรดดิน 4 ครั้ง)	ผลการทดสอบการติดเชื้อก่อโรคพืช ด้วยชุดทดสอบ Cucurbits-3 in 1 Easy Kit (สวทช.)
1. แปลงควบคุม (ไม่ใช้สารผสมฯ)		<p>1) ผลตรวจเชื้อก่อโรค 3 ชนิด พบผลบวกต่อเชื้อ</p> <ul style="list-style-type: none"> - Potyvirus - Watermelon mosaic virus-2 (WMV-2) <p>2) ผลทางกายภาพ</p> <ul style="list-style-type: none"> - ใบมีจุดสีน้ำตาลเหลืองขนาดใหญ่ เกือบทุกใบทั้ง 4 ต้น ใบหงิก บางใบแห้งเฉาตายคาต้น - ใบโดนแมลงกัดกินจำนวนมาก เกือบทุกใบทั้ง 4 ต้น
2. แปลงที่ใช้สารผสมสารละลายโคโตซานและสารสกัดใบสะเดา		<p>1) ผลตรวจเชื้อก่อโรค 3 ชนิด พบผลบวกต่อเชื้อ</p> <ul style="list-style-type: none"> - Potyvirus <p>2) ผลทางกายภาพ</p> <ul style="list-style-type: none"> - เส้นใบใสและใบมีจุดสีเหลืองขนาดเล็ก พบใบที่เป็นจุดสีเหลืองทั้ง 4 ต้นๆ ละประมาณ 3-4 ใบ - ไม่พบใบที่โดนแมลงกัดกิน

ตารางที่ 1 แสดงผลของสารผสมสารละลายโคโตซานและสารสกัดพืชสมุนไพรต่อการยับยั้งเชื้อก่อโรคแตงกวา 3 ชนิด ในแปลงทดลอง (ต่อ)

ชนิดของสารผสม	ต้นแตงกวา อายุ 30 วัน (ใช้ของผสมฉีดพ่นและรดดิน 4 ครั้ง)	ผลการทดสอบการติดเชื้อก่อโรคพืช ด้วยชุดทดสอบ Cucurbits-3 in 1 Easy Kit (สวทช.)
3. แปลงที่ใช้สารผสมสารละลายโคโตซานและสารสกัดใบฝรั่ง		<p>1) ผลตรวจเชื้อก่อโรค 3 ชนิด พบผลบวกต่อเชื้อ</p> <ul style="list-style-type: none"> - Potyvirus <p>2) ผลทางกายภาพ</p> <ul style="list-style-type: none"> - เส้นใบสีและใบมีจุดสีเหลืองและสีน้ำตาลทั่วทั้งใบ พบใบจุดมากกว่าแปลงสะเดา โดยพบทั้ง 4 ต้นๆ ละประมาณ 6-10 ใบ - ไม่พบใบที่โดนแมลงกัดกิน
4. แปลงที่ใช้สารผสมสารละลายโคโตซานและสารสกัดใบสาบเสือ		<p>1) ผลตรวจเชื้อก่อโรค 3 ชนิด</p> <ul style="list-style-type: none"> - ไม่พบผลบวกต่อเชื้อทั้ง 3 ชนิด <p>2) ผลทางกายภาพ</p> <ul style="list-style-type: none"> - ใบมีสีเขียวสม่ำเสมอ ไม่พบใบที่มีจุดสีเหลืองหรือสีน้ำตาล ทั้ง 4 ต้น - ไม่พบใบที่โดนแมลงกัดกิน

ตารางที่ 1 แสดงผลของสารผสมสารละลายไคโตซานและสารสกัดพืชสมุนไพรต่อการยับยั้งเชื้อก่อโรคแตงกวา 3 ชนิด ในแปลงทดลอง (ต่อ)

ชนิดของสารผสม	ต้นแตงกวา อายุ 30 วัน (ใช้ของผสมฉีดพ่นและรดดิน 4 ครั้ง)	ผลการทดสอบการติดเชื้องก่อโรคพืช ด้วยชุดทดสอบ Cucurbits-3 in 1 Easy Kit (สวทช.)
5. แปลงที่ใช้สารละลายไคโตซาน		<p>1) ผลตรวจเชื้องก่อโรค 3 ชนิด ไม่พบผลบวกต่อเชื้อทั้ง 3 ชนิด</p> <p>2) ผลทางกายภาพ</p> <ul style="list-style-type: none"> - เส้นใบสีและใบมีมีจุดสีเหลืองขนาดเล็ก พบเฉลี่ย 1-2 ต้นๆละ 1-2 ใบ - พบใบที่โดนแมลงกัดกิน เกือบทั้ง 4 ต้น

2. ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของสารผสมสารละลายไคโตซานและสารสกัดพืชสมุนไพรด้วยเทคนิค Gas Chromatography-Mass Spectrometer (GC-MS)

2.1 ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบเคมีสารผสมสารละลายไคโตซานและสารสกัดใบสะเดา

ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบเคมีสารผสมสารละลายไคโตซานและสารสกัดใบสะเดา โดยใช้เครื่อง GC-MS บริษัท Shimadzu โดยใช้คอลัมน์ capillary คอลัมน์ชนิด DB-5MS ขนาดความยาว 30.0 เมตร ความหนาของฟิล์ม 0.25 ไมโครเมตร และเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.25 มิลลิเมตร พบว่า องค์ประกอบทางเคมีที่จำแนกได้นั้นใช้เวลาในการเคลื่อนที่ผ่านคอลัมน์ในช่วงเวลา 1.802 ถึง 31.450 นาที แสดงองค์ประกอบสารทั้งหมด 7 ชนิด ดังแสดงในตารางที่ 2 โดยเรียงลำดับตามเวลาที่สารถูกชะออกจากคอลัมน์ (retention time) ทั้งนี้มีสารองค์ประกอบที่พบมากที่สุด

คือ Acetic acid โดยมีเปอร์เซ็นต์พื้นที่ใต้พีค เท่ากับ 81.35 ถัดมา เอทานอล, Bicyclo[2.2.1]heptan-2-one, 1,7,7-trimethyl-, (1S) และ Norephedrine, (+/-) มีเปอร์เซ็นต์พื้นที่ใต้พีค เท่ากับ 17.79, 0.26 และ 0.22 ตามลำดับและสารอื่นๆ

2.2 ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบเคมีของสารผสมสารละลายไคโตซานและสารสกัดใบฝรั่ง

ผลการวิเคราะห์สารผสมสารละลายไคโตซานและสารสกัดใบฝรั่ง โดยมี 5% เอทานอลในน้ำเป็นตัวทำละลาย มีองค์ประกอบเคมีทั้งหมด 15 ชนิด ทั้งนี้มีสารองค์ประกอบที่พบมากที่สุดคือ เอทานอล โดยมีเปอร์เซ็นต์พื้นที่ใต้พีค เท่ากับ 65.26 ถัดมา Acetic acid, Isopropyl Alcohol, Eucalyptol และ (+)-2-Bornanone มีเปอร์เซ็นต์พื้นที่ใต้พีค เท่ากับ 15.69, 7.70, 5.46 และ 4.42 ตามลำดับและสารอื่นๆ (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 2 แสดงองค์ประกอบทางเคมีของสารผสมสารละลายไคโตซานและสารสกัดใบสะเดา โดยเทคนิค GC-MS

ลำดับ	RT	ชื่อ	สูตรโมเลกุล	มวลโมเลกุล	%Area
1	1.820	Norephedrine, (+/-)-	C ₉ H ₁₃ NO	151	0.22
2	2.041	Ethanol	C ₂ H ₆ O	46	17.79
3	4.184	Acetic acid	C ₂ H ₄ O ₂	60	81.35
4	18.671	Eucalyptol	C ₁₀ H ₁₈ O	154	0.15
5	22.569	Bicyclo[2.2.1]heptan-2-one, 1,7,7-trimethyl-, (1S)-	C ₁₀ H ₁₆ O	152	0.26
6	23.800	Dodecane	C ₁₂ H ₂₆	170	0.12
7	31.450	Nonane, 3,7-dimethyl-	C ₁₁ H ₂₄	156	0.11

ตารางที่ 3 แสดงองค์ประกอบทางเคมีของสารผสมสารละลายไคโตซานและสารสกัดใบฝรั่ง โดยเทคนิค GC-MS

ลำดับ	RT	ชื่อ	สูตรโมเลกุล	มวลโมเลกุล	%Area
1	1.820	(S)-(+)-1-Cyclohexylethylamine	C ₈ H ₁₅ NH ₂	104	0.03
2	1.961	Ethanol	C ₂ H ₅ OH	46.07	65.26
3	2.402	Isopropyl Alcohol	C ₃ H ₈ O	60.1	7.70
4	4.209	Acetic acid	CH ₃ COOH	60.052	15.69
5	4.305	Ethyl Acetate	C ₄ H ₈ O ₂	88.11	0.79
6	12.121	3-Hexen-1-ol, (E)-	C ₇ H ₁₄ O	100.161	0.03
7	16.064	Benzaldehyde	C ₇ H ₆ O	106.12	0.05
8	16.782	5-Hepten-2-one, 6-methyl-	C ₈ H ₁₄ O	126.1962	0.05
9	17.365	3-Hexenoic acid, ethyl ester	C ₈ H ₁₄ O ₂	142.198	0.08
10	18.666	Eucalyptol	C ₁₀ H ₁₈ O	154.249	5.46
11	20.689	Linalool	C ₁₀ H ₁₈ O	154.25	0.34
12	22.564	(+)-2-Bornanone	C ₁₀ H ₁₆ O	152.23	4.42
13	22.725	Bicyclo[3.1.0]hexan-2-ol, 2-methyl-5-(1-methylethyl),(1.alpha.,2.beta.,5.alpha.)-	C ₄ H ₁₀ N ₂ O	154.2493	0.03
14	23.488	Terpinen-4-ol	C ₁₀ H ₁₈ O	154.253	0.02
15	23.854	alpha-Terpineol	C ₁₀ H ₁₈ O	154.25	0.06

2.3 ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบเคมีของสารผสมสารละลายไคโตซานและสารสกัดใบสะเดา

ผลการวิเคราะห์ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบเคมีของสารผสมสารละลายไคโตซานและสารสกัดใบสะเดา โดยมี 5% เอทานอลในน้ำเป็นตัวทำละลาย มีองค์ประกอบเคมีทั้งหมด 17 ชนิด ทั้งนี้มีสารองค์ประกอบที่พบมากที่สุดคือ Acetic acid โดยมีเปอร์เซ็นต์พื้นที่ใต้พีค เท่ากับ 76.38 ถัดมา เอทานอล, Propanal, 2-methyl, Acetone และ Butanal, 3-methyl มีเปอร์เซ็นต์พื้นที่ใต้พีค เท่ากับ 12.85, 1.82 และ 1.57 ตามลำดับและสารอื่นๆ (ตารางที่ 4)

2.4 ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบเคมีของสารละลายไคโตซาน

ผลการวิเคราะห์สารละลายไคโตซาน โดยมี 5% เอทานอลในน้ำเป็นตัวทำละลาย มีองค์ประกอบเคมีทั้งหมด 7 ชนิด ทั้งนี้มีสารองค์ประกอบที่พบมากที่สุดคือ Acetic acid โดยมีเปอร์เซ็นต์พื้นที่ใต้พีค เท่ากับ 99.81 ถัดมา Dodecane, Hexanal และ

Sulfurous acid, 2-ethylhexyl isohexyl ester มีเปอร์เซ็นต์พื้นที่ใต้พีค เท่ากับ 0.06, 0.04 และ 0.03 ตามลำดับและสารอื่นๆ (ตารางที่ 5)

ตารางที่ 4 แสดงองค์ประกอบทางเคมีของสารผสมสารละลายโคโตซานและสารสกัดใบสาบเสือ โดยเทคนิค GC-MS

ลำดับ	RT	ชื่อ	สูตรโมเลกุล	มวลโมเลกุล	%Area
1	1.571	Acetic acid, [(aminocarbonyl)amino]oxo-	C ₃ H ₄ N ₂ O ₄	132	0.77
2	1.825	(S)-(+)-1-Cyclohexylethylamine	C ₈ H ₁₇ N	127	0.22
3	1.983	Ethanol	C ₂ H ₆ O	46	12.85
4	2.333	Acetone	C ₃ H ₆ O	58	1.57
5	3.238	Propanal, 2-methyl-	C ₄ H ₈ O	72	1.82
6	4.202	Acetic acid	C ₂ H ₄ O ₂	60	76.38
7	5.348	Butanal, 3-methyl-	C ₅ H ₁₀ O	86	1.53
8	5.621	Butanal, 2-methyl-	C ₅ H ₁₀ O	86	1.48
9	6.564	Pentanal	C ₅ H ₁₀ O	86	0.14
10	6.757	Furan, 2-ethyl-	C ₆ H ₈ O	96	0.54
11	10.058	Hexanal	C ₆ H ₁₂ O	100	0.23
12	12.271	2H-Pyran-2-methanol, tetrahydro-	C ₆ H ₁₂ O ₂	116	0.08
13	20.693	Linalool	C ₁₀ H ₁₆ O	154	0.69
14	22.571	Benzene, 1-ethenyl-4-methoxy-	C ₉ H ₁₀ O	134	0.14
15	31.329	alfa.-Copaene	C ₁₅ H ₂₄	204	0.41
16	32.729	4,7,10,13,16,19-Docosahexaenoic acid, methyl ester, (all-Z)-	C ₂₃ H ₃₄ O ₂	342	0.81
17	35.310	Cadala-1(10),3,8-triene	C ₁₅ H ₂₂	202	0.33

ตารางที่ 5 แสดงองค์ประกอบทางเคมีของสารละลายโคโตซานโดยเทคนิค GC-MS

ลำดับ	RT	ชื่อ	สูตรโมเลกุล	มวลโมเลกุล	%Area
1	4.313	Acetic acid	CH ₃ COOH	60.052	99.81
2	10.046	Hexanal	C ₆ H ₁₂ O	100.161	0.04
3	17.358	Octanal	C ₈ H ₁₆ O	128.21204	0.02
4	23.788	Nonane, 3,7-dimethyl-	C ₁₁ H ₂₄	156.313	0.02
5	31.418	Dodecane	C ₁₂ H ₂₆	170.340	0.06
6	33.935	Nonane, 3,7-dimethyl-	C ₁₁ H ₂₄	156.313	0.02
7	35.804	Sulfurous acid, 2-ethylhexyl isohexyl ester	C ₁₄ H ₃₀ O ₃ S	278.451	0.03

สรุปและวิจารณ์ผล

ประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อก่อโรคแตงกวา 2 ชนิด ได้แก่ เชื้อ Watermelon mosaic virus-2 (WMV-2), เชื้อไวรัสในกลุ่มโพทิวรัส (Potyvirus) และเชื้อแบคทีเรีย *Acidovorax avenae* subsp. ของสารผสมสารละลายโคโตซานและสารสกัดพืชสมุนไพรจากชุดตรวจ Cucurbits-3 in 1 Easy kit พบว่า สารผสมสารละลายโคโตซานและสารสกัดใบสาบเสือ สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อก่อโรคทั้ง 2 ชนิด บนใบแตงกวาได้ดีที่สุด รองลงมาคือ สารละลายโคโตซาน, สารผสมสารละลายโคโตซานและสารสกัดใบสะเดา

และสารผสมสารละลายโคโตซานและสารสกัดใบฝรั่ง ตามลำดับ ซึ่งจากผลการศึกษาหุ้มีองค์ประกอบของสารผสมสารละลายโคโตซานและสารสกัดใบสาบเสือพบว่า มีองค์ประกอบเคมีทั้งหมด 17 ชนิด ทั้งนี้มีสารองค์ประกอบที่พบมากที่สุดคือ Acetic acid โดยมีเปอร์เซ็นต์พื้นที่ใต้พีค เท่ากับ 78.38 ถัดมาเป็น เอทานอล, Propanal, 2-methyl, Acetone และ Butanal, 3-methyl มีเปอร์เซ็นต์พื้นที่ใต้พีค เท่ากับ 12.85, 1.82 และ 1.57 ตามลำดับ และสารอื่นๆ ซึ่งองค์ประกอบเคมีของสารผสมเหล่านี้ส่งผลให้สารผสมสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อก่อโรคแตงกวาทั้ง 3

ชนิด อีกทั้งยังสามารถไล่แมลงศัตรูพืชไม่ให้มากัดกินใบแตงกวาได้ โดยเฉพาะองค์ประกอบหลักที่พบคือ Acetic acid หรือกรดน้ำส้มสายชูที่ใช้เป็นตัวทำละลายในการเตรียมสารละลายโคโตซาน ซึ่งมีรายงานวิจัยที่ศึกษาประสิทธิภาพของน้ำส้มควันไม้ต่อการไล่แมลงสาบสายพันธุ์อเมริกัน พบว่าน้ำส้มควันไม้จากต้นลิ้นจี่มีปริมาณกรดอะซิติกและฟีนอลสูงสุด คือ 82.56 และ 6.56% ทำให้น้ำส้มควันไม้จากต้นลิ้นจี่สามารถไล่แมลงสาบได้ดีที่สุด เมื่อเทียบกับน้ำส้มควันไม้จากต้นกระท้อน ต้นมะม่วง ซึ่งน้ำส้มควันไม้ (Wood vinegar) หรือกรดไพโรลิกเนียส (pyroligneous acid) เป็นสารประเภทกรดเช่นเดียวกับกรดอะซิติก ประกอบด้วยน้ำ 80-90% และสารประกอบอินทรีย์กว่า 200 ชนิด ส่วนใหญ่เป็นกรดอะซิติก, อะซิโตน และเมทานอล นอกจากนี้เกษตรกรพื้นบ้านยังมีการใช้น้ำส้มสายชูและน้ำส้มควันไม้ในการเพิ่มผลผลิตและกำจัดเชื้อก่อโรคพืชต่าง ๆ แต่ยังไม่มียางงานผลงานวิจัยทางวิชาการมากนัก

สำหรับข้อมูลการใช้สารสกัดจากใบสาบเสือมีการนำมาใช้ประโยชน์ในด้านการเกษตรอย่างแพร่หลาย เพื่อใช้เป็นสารชีวภาพสำหรับป้องกันและกำจัดศัตรูพืชต่าง ๆ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Afolabi et al. (2007) ที่ศึกษาการสกัดใบสาบเสือด้วยเมทานอลและน้ำ และพบหมู่เคมีที่สำคัญจากสารสกัดใบสาบเสือคือ สารประกอบพวก tannins, steroids, terpenoids, flavonoids และ cardiac glycosides โดยส่วนที่ละลายน้ำ คือพวก tannins, phenol และ saponin ซึ่งงานวิจัยนี้ได้นำสารสกัดใบสาบเสือไปใช้เป็นสารป้องกันแมลง และเชื้อก่อโรคพืชได้อย่างมีประสิทธิภาพ และสอดคล้องกับงานวิจัยของสุรามาต และศศิธร (2553) พบว่าสารสกัดใบสาบเสือที่ความเข้มข้น 1000 ppm สามารถยับยั้งเชื้อรา *Phyllosticta citricarpa* ที่เป็นสาเหตุของโรคจุดดำของส้มโอได้ถึง 68.2%

สรุปผลและวิจารณ์ผล

จากผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารผสมสารละลายโคโตซานและสารสกัดพืชสมุนไพรต่อการยับยั้งเชื้อก่อโรคแตงกวาในแปลงทดลอง เบื้องต้น

พบว่าสารผสมของสารละลายโคโตซานและสารสกัดใบสาบเสือให้ผลยับยั้งการติดเชื้อทั้ง 2 ชนิด คือ เชื้อ Watermelon mosaic virus-2 (WMV-2) และเชื้อไวรัสในกลุ่มไฟทิวไรส (Potyvirus) ได้ และใบแตงกวาไม่แสดงอาการติดเชื้อ ส่วนสารผสมสารละลายโคโตซานและสารสกัดใบสะเดา และสารละลายโคโตซานและสารสกัดใบฝรั่ง แสดงผลยับยั้งเชื้อ Watermelon mosaic virus-2 ได้เพียง 1 ชนิด และใบแตงกวาแสดงอาการติดเชื้อในขณะที่ยังมีการติดเชื้อเพียงอย่างเดียว สามารถยับยั้งการติดเชื้อทั้ง 2 ชนิดได้ แต่ใบแตงกวาได้รับผลเสียหายจากแมลงศัตรูพืชกัดกินใบ

จากผลการศึกษาร่วมกันของสารผสมสารละลายโคโตซานและใบสาบเสือ ด้วยเทคนิค GC-MS พบองค์ประกอบเคมีที่สำคัญ 5 ชนิด ดังนี้ Acetic acid, เอทานอล, Propanal, 2-methyl-, Acetone และ Butanal, 3-methyl

จากผลการศึกษาเบื้องต้นนี้ สามารถนำไปพัฒนาสูตรสารชีวภาพจากโคโตซานและใบสาบเสือ เพื่อเป็นผลิตภัณฑ์ต้นแบบใช้กำจัด ป้องกันเชื้อก่อโรคแตงกวาหรือพืชตระกูลแตงต่อไปได้

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนงบประมาณสำหรับการทำวิจัยจากทุนวิจัยเงินอุดหนุนจากรัฐบาล (งบประมาณแผ่นดิน) พ.ศ.2562

เอกสารอ้างอิง

- กัลทิมา พิชัย. 2547. การศึกษาการใช้สารสกัดพืชสมุนไพรบางชนิดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืชที่สำคัญในพื้นที่สะลวง อ.แม่ริม จ.เชียงใหม่ เพื่อพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ท้องถิ่น ระบบสารสนเทศงานวิจัย สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏ-เชียงใหม่.
- จิตติมา โสติวิไลพงศ์, วิลาวรรณ เชื้อบุญ และดุสิต อธิวัฒน์. 2558. สารสกัดหยาบพืชควบคุมโรคเน่าและของผักกาดขาวปลี. วารสาร Thai Journal of Science and Technology. ปีที่ 4 ฉบับที่ 3: 244-254.

- ณัฐพงศ์ เมธินธรังสรรค์. 2560. ผลจากสารสกัดจากใบ
สาบเสือในการควบคุมเพลี้ยอ่อนตัว *Aphis
craccivora* Koch (Hemiptera: Aphididae).
วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
มหาวิทยาลัยมหาสารคาม. ฉบับที่ 37(1):
79-84.
- พัชรภรณ์ ณ นคร. 2556. ประสิทธิภาพของน้ำส้ม
ควันไม้ในการควบคุมด้วงหมัดผักและ
การศึกษาการผลิต การใช้ประโยชน์ของ
น้ำส้มควันไม้ในจังหวัดปทุมธานี.
วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตร
มหาบัณฑิต. ปทุมธานี. คณะ
เทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัย
เทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี.
- วิลาวรรณ เชื้อบุญ, อุษณีย์ นรฮีม และดุสิต อธิวัฒน์.
2559. ประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์น้ำส้ม
ควันไม้ในการควบคุมโรคใบจุดสีน้ำตาลใน
ระบบการผลิตข้าว. วารสาร Thai Journal of
Science and Technology. ปีที่ 5 ฉบับที่ 2:
135-143.
- อนุรักษ์ สันป่าเป้า. 2561. ประสิทธิภาพของไคโตซาน
ต่อการควบคุมโรคใบจุดของต้นกล้าปาล์ม
น้ำมัน. วารสารแก่นเกษตร. ปีที่ 46. ฉบับ
พิเศษ 1: 1087-1091.
- สุธามาต ณ น่าน และศศิธร วรปิติรังสี. 2553. ผลของ
สารสกัดสมุนไพรบางชนิดในการป้องกัน
กำจัดโรคจุดดำของส้มโอ. วารสาร
Agricultural Science Journal. Vol.41(3/1)
(Suppl.): 81-84.
- Afolabi C. Adinmoladun, E.O. Ibukun and I.A.
Dan-Ologe. 2007. Phytochemical
constituents and antioxidant properties of
extracts from the leaves of *Chromolaena
odorata*. Scientific Research and Essay.
Vol.2(6): 191-194.
- Murray B. Isman. 2000. Plant essential oils for
pest and disease management. Crop
Protection. Vol.19: 603-608.