วารสารเกษตรพระจอมเกล้า ปีที่ 36 (ฉบับพิเศษ): 54-63

อิทธิพลของสารสกัดหยาบจากผักแขยงต่อเชื้อราสาเหตุโรคของธัญพืช ในสภาพห้องปฏิบัติการ

In vitro Effect of Crude Extracts of *Limnophila aromatica* (Lam.) Merr. against Plant Pathogenic Fungi Causing Diseases on Cereal Plants

จุลดิศ แก้วอร่าม[1] สุริยสิทธิ์ สมนึก[1] และถนิมนันต์ เจนอักษร[1]
Julladit Keaw-aram, Suriyasit Somnuek and Tanimnun Jaenaksorn

บทคัดย่อ

งานวิจัยมีวัตถุประสงค์ เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากผักแขยง (*Limnophila aromatica* (Lam.) Merr.) ความเข้มข้น 3 ระดับ (10000, 20000 และ 30000 ppm) ต่อการเจริญทางเส้นใยและการงอกของสปอร์เชื้อราที่เป็นสาเหตุโรคในธัญพืช ได้แก่เชื้อ *Curvularia* sp. จำนวน 2 ไอโซเลท, *Fusarium* sp., *Rhizoctonia* sp. และ *Nigrospora* sp. จากการทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญทางเส้นใยด้วยวิธี Poisoned food technique ที่ 7 วัน พบว่าสารสกัดผักแขยงด้วยเอทานอล 50% แสดงประสิทธิภาพสูงสุดในการยับยั้งการเจริญทางเส้นใยของเชื้อ *Curvularia* spp. ทั้ง 2 ไอโซเลท และ *Nigrospora* sp. ได้ 44% ที่ระดับความเข้มข้น 30000 ppm ขณะที่สารสกัดผักแขยงด้วยเอทานอล 95 % ที่ความเข้มข้น 30000 ppm สามารถยับยั้ง การเจริญทางเส้นใยของเชื้อ *Fusarium* sp. ได้ 42% ยับยั้งเชื้อ *Rhizoctonia* sp. ได้ 15% ส่วนสารสกัดผักแขยงด้วยน้ำมีประสิทธิภาพในการควบคุมโดยรวมเพียง 6% ส่วนการทดสอบการยับยั้งการงอกของสปอร์ ในสารสกัดผักแขยงด้วยเอทานอล 50 และ 95% มีค่าการยับยั้งสูงสุดที่ 59 และ 52% กับเชื้อ *Curvularia* spp. ทั้ง 2 ไอโซเลท ในขณะที่สารสกัดผักแขยงจากน้ำมีค่าการยับยั้ง 49% โดยสรุปจะเห็นได้ว่า สารสกัดผักแขยงด้วยเอทานอล 50 และ 95% มีประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคธัญพืชได้น้อยกว่าอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับ Positive control (สารเคมี) ที่มีค่าการยับยั้ง 100%

คำสำคัญ: ผักแขยง สารสกัดหยาบ เชื้อราสาเหตุโรคพืช

Abstract

This research investigated the efficacy of three concentrations (10000, 20000 and 30000 ppm) of aqueous extract, 50 and 95% ethanol extracts of rice paddy herb (*Limnophila aromatica* (Lam.) Merr.) against mycelial growth and spore germination of fungi causing diseases on cereal plants. Tested fungi were 2 isolates of *Curvularia* sp., 1 isolate of *Fusarium* sp., *Rhizoctonia* sp. and *Nigrospora* sp. Regard to antifungal activity of rice paddy herb tested on poisoned food assay at 7 DAI, 50% ethanol crude extract exhibited the highest efficacy in inhibiting mycelial growth of the 2 isolates of *Curvularia* spp. and the isolate of *Nigrospora* sp. about 44% at the concentration of 30000 ppm whereas 95% ethanol extract at 30000 ppm showed 42% inhibition on *Fusarium* sp. and 15% on *Rhizoctonia* sp. Besides, only 6% inhibition was obtained from aqueous extract. Similarly, result from spore germination test showed that 50 and 95 % ethanol extracts gave the highest inhibition effect about 59 and 52%, respectively on both isolates *Curvularia* spp., while 49% inhibition was noted on aqueous extract. Overall, the

[1] ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง เขตลาดกระบัง กรุงเทพฯ 10520

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

antifungal efficacy of 50 and 95% ethanol crude extracts of rice paddy herb was still significantly less than that from positive (chemical) control which was 100% inhibition.

Keywords: *Limnophila aromatic* (Lam.) Merr., crude extracts, plant pathogenic fungi

คำนำ

ในปัจจุบันนี้การใช้สารสกัดพืชได้รับความนิยมมากเพื่อทดแทนสารเคมีในการป้องกันกำจัดโรคพืช ซึ่งการใช้สารสกัดจากพืชสมุนไพรเป็นทางเลือกที่ปลอดภัยต่อผู้ผลิต ผู้บริโภคและสิ่งแวดล้อม โดยพืชสวนครัวเป็นพืชกลุ่มหนึ่งที่ได้รับความนิยมในการนำมาสกัดและศึกษาประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืชกันหลายชนิด ผักแขยง (*Limnophila aromatica* (Lam.) Merr.) เป็นผักพื้นบ้านที่ขึ้นตามท้องนาข้าว ซึ่งพบได้ทั่วทุกภาคของประเทศไทยสามารถเจริญเติบโตได้ดีตามพื้นที่ชื้น ผักแขยงมีกลิ่นฉุนและรสชาติเผ็ดร้อน นิยมใช้ประกอบอาหาร เป็นยาระบาย รักษาอาการคัน เป็นยาแก้พิษ เป็นสารไล่แมลง (นที และสุภาณี , 2547) และพบการรวบรวมรายงานจนถึงปี ค.ศ. 2014 ว่า ผักแขยงมีสารประกอบที่สำคัญประมาณ 54 ชนิด โดยสารเหล่านั้นมีคุณสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant activity) และรายงานส่วนใหญ่พืชดังกล่าวมีฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ (antimicrobial activity) ได้หลายชนิด (Goria *et al*., 2014) เช่น *Escherichia coli* (กานดา และคณะ, 2550), *Salmonella typhimurium* (สุภาพร และกัญณาญาภัค, 2550), *Bacillus cereus, Listeria monocytogenes, Pseudomonas fluorescens, Salmonella rissen, Yersinia enterocolitica* (Nanasombat and Teckchuen, 2009), และ *Staphylococcus aureus* (สุภาพร และกัญณาญาภัค, 2550; Nanasombat and Teckchuen, 2009) นอกจากนี้ยังพบรายงานของธิติพร และคณะ (2554) ที่ใช้สารสกัดจากผักแขยงในการควบคุมการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* ได้เป็นอย่างดี จากประสิทธิภาพดังกล่าว คณะผู้วิจัยจึงสนใจที่จะนำผักแขยงมาใช้ประโยชน์ในรูปของสารสกัดพืชในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคใบจุด ใบไหม้ ของธัญพืช อย่างเช่น ข้าว, ข้าวฟ่าง และข้าวโพด เป็นต้น เนื่องด้วยพืชดังกล่าวเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย หากมีการแพร่ระบาดของโรคแล้วจะส่งผลกระทบโดยตรงต่อผลผลิตทั้งในเชิงปริมาณและคุณภาพเป็นอย่างมาก ทำให้ผลผลิตที่ได้ไม่มีคุณภาพตามที่ต้องการ และเชื้อราสาเหตุโรคยังสามารถติดไปกับเมล็ดพันธุ์ได้ ก่อให้เกิดการแพร่ระบาดในพื้นที่การเก็บ เมื่อนำเมล็ดพันธุ์ไปเพาะปลูก เชื้อราจะเจริญและเข้าทำลายพืชในระยะต้นกล้าทำให้ต้นไม่สมบูรณ์ และตายในที่สุด (กรมการข้าว, 2552; ณรงค์ศักดิ์, 2533; ฝ่ายบริการและฝึกอบรม มก., 2550) แต่อย่างไรก็ตามการสกัดสารจากพืชโดยทั่วไปแล้ว ตัวทำละลายเป็นปัจจัยที่สำคัญที่จะละลายสารประกอบสำคัญต่าง ๆ ในพืชออกมา (Ngo *et al*., 2017; Dailey and Vuong, 2015) โดยตัวทำละลายที่นิยมใช้กับผักแขยงมีอยู่หลายชนิด เช่น เอทานอล เมทานอล อะซิโตน และน้ำ รวมทั้งความเข้มข้นของตัวทำละลายที่หลากหลาย (50, 70 และ 100 เปอร์เซ็นต์) ที่ใช้ในการสกัดสารจากพืช (Gorai *et al*., 2014) ซึ่งตัวทำละลายเหล่านั้นมีราคาที่แตกต่างกันออกไป ดังนั้นในการทดลองนี้จึงใช้ตัวทำละลายที่หาง่าย สะดวก และประหยัดมาใช้ในการทดลอง อย่างเช่น น้ำ และเอทานอล เพื่อทดสอบอิทธิพลของสารสกัดที่ใช้ตัวทำละลายที่แตกต่างกันจากผักแขยงต่อการเจริญทางเส้นใยและการงอกของสปอร์เชื้อราสาเหตุโรคธัญพืชในสภาพห้องปฏิบัติการ

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การเตรียมสารสกัดหยาบจากผักแขยงและเชื้อราสาเหตุโรคพืช

การเตรียมสารสกัดหยาบจากผักแขยง นำผักแขยงล้างทำความสะอาดและหั่นให้มีขนาดเล็กลง จากนั้นอบแห้งด้วยเครื่องอบแบบลมร้อนที่ อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส จนผักแขยงแห้ง (3 วัน) จึงนำผักแขยงดังกล่าวมาสกัดด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด ได้แก่ เอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ (95% Eth.), เอทานอล 50 เปอร์เซ็นต์ (50% Eth.) และน้ำ โดยใช้อัตราส่วนผักแขยงต่อตัวทำละลาย 1:10 เป็นระยะเวลา 3 วัน จากนั้นกรองแยกส่วน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พืชออกด้วยผ้าขาวบางและกระดาษกรอง นำสารสกัดที่ได้มาระเหยเอาตัวทำละลายออก ด้วยเครื่อง Rotary vacuum evaporator ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ความเร็ว 100 รอบต่อนาที จนตัวทำละลายระเหยออกหมด จนได้สารลักษณะ เหนียวข้น เรียกว่า สารสกัดหยาบ (crude extract) นำสารสกัดหยาบเก็บในขวดสีทึบที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส สำหรับใช้ในการทดลองต่อไป

เชื้อราสาเหตุโรคของธัญพืช ที่ใช้ในการทดสอบ จำนวน 4 สกุล 5 ไอโซเลท คือ เชื้อรา *Curvularia* sp. (C11) สาเหตุโรคใบไหม้ข้าวฟ่าง, เชื้อรา *Nigrospora* sp. (N11) สาเหตุโรคใบจุดข้าวโพด, เชื้อรา *Curvularia* sp. (C12), *Fusarium* sp. (F11) สาเหตุโรคเม็ดด่างในข้าว และ *Rhizoctonia* sp. (R11) สาเหตุโรคกาบใบไหม้ในข้าว ที่แยกจากแปลงปลูกพืช สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร และทำการทดสอบความสามารถในการก่อให้เกิดโรคแล้ว มาเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato dextrose agar (PDA) เป็นเวลา 7 วัน เพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

2. **อิทธิพลของสารสกัดหยาบจากผักแขยงต่อการเจริญทางเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคของธัญพืช โดยวิธี** Poisoned food technique

ในการศึกษาอิทธิพลของสารสกัดหยาบของผักแขยงนี้ได้แบ่งออกเป็น 3 การทดลองย่อย คือ สารสกัดหยาบ 95% Eth. สารสกัดหยาบ 50% Eth. และสารสกัดหยาบน้ำ จำนวน 3 ความเข้มข้น (10000, 20000 และ 30000 ppm) ต่อการเจริญทางเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคของธัญพืช ได้แก่ เชื้อรา C11, C12, F11, R11 และ N11 โดยวางแผนการทดลองแบบ Completely randomized design (CRD) จำนวน 5 ซ้ำ ด้วยการผสมสารสกัดจากผักแขยงลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และเทลงในจานเพาะเชื้อ จากนั้นใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร เจาะที่ขอบของโคโลนีเชื้อราที่เลี้ยงบนอาหาร PDA อายุ 7 วัน แล้วย้ายชิ้นวุ้นเชื้อรามาวางที่กึ่งกลางจานอาหารเพาะเชื้อที่เตรียมไว้ข้างต้น ชุดควบคุมใช้น้ำนึ่งฆ่าเชื้อ (negative control) และสารเคมี difenoconazole + propoconazole ความเข้มข้น 10 ppm (positive control) แทนสารสกัด แล้วจึงนำจานอาหารเพาะเชื้อดังกล่าวไปบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง บันทึกผลการทดลองโดยวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเชื้อราทุกวัน และคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญทางเส้นใยของเชื้อรา โดยใช้สูตร inhibition effect = (A-B)/A×100 กำหนดให้ A = ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเชื้อราชุดควบคุม (negative control) และ B = ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเชื้อราที่ผสมสารสกัดพืชหรือสารเคมี

3. **อิทธิพลของสารสกัดหยาบจากผักแขยงต่อการงอกของสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรคของธัญพืช โดยวิธี** Spore germination technique

ในการทดสอบอิทธิพลของสารสกัดหยาบจากผักแขยงได้แบ่งการทดลองออกเป็น 3 การทดลองย่อย เช่นเดียวกับการทดสอบอิทธิพลของสารสกัดดังกล่าวต่อการเจริญทางเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคธัญพืช ซึ่งมีรายละเอียดของการทดลองดังนี้

ทำการทดสอบอิทธิพลของสารสกัดหยาบของผักแขยงจากตัวทำละลายทั้ง 3 ชนิด (95% Eth., 50% Eth. และน้ำ) จำนวน 3 ความเข้มข้น (10000, 20000 และ 30000 ppm) ต่อการงอกสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรคธัญพืช จำนวน 4 ไอโซเลท ได้แก่ เชื้อรา C11, C1, F11 และ N11 โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 5 ซ้ำ ด้วยการผสมสารแขวนลอยสปอร์เชื้อราดังกล่าว ความเข้มข้น 10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตร กับสารสกัดน้ำจากผักแขยงให้มีความเข้มข้นตามที่กำหนด ลงในหลอดทดลองขนาดเล็ก บ่มทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง ชุดควบคุมใช้น้ำนึ่งฆ่าเชื้อ (negative control) และสารเคมี difenoconazole + propoconazole ความเข้มข้น 10 ppm (positive control) แทนสารสกัดผักแขยง บันทึกผลการทดลองโดยการนับการงอกของสปอร์เชื้อราในแต่ละความเข้มข้นหลังจากแช่สปอร์เชื้อราในเวลา 12, 24, 36 และ 48 ชั่วโมง หรือจนกว่าชุดควบคุม (negative control) จะงอกครบ 100 เปอร์เซ็นต์ และสังเกตความผิดปกติของสปอร์ แล้วคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการงอกของสปอร์ของเชื้อรา โดยใช้สูตร inhibition effect = (A-B)/A×100 กำหนดให้ A = จำนวนการงอกของสปอร์เชื้อราชุดควบคุม (negative control) และ B = จำนวนการงอกของสปอร์เชื้อราที่ผสมสารสกัดพืชหรือสารเคมี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการ
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. **อิทธิพลของสารสกัดหยาบจากผักแขยงต่อการเจริญทางเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคของธัญพืช โดยวิธี** Poisoned food technique

จากการทดสอบอิทธิพลของสารสกัดหยาบ 95% Eth, 50% Eth และน้ำจากผักแขยง ที่ระดับความเข้มข้น 10000, 20000 และ 30000 ppm ต่อการเจริญทางเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคธัญพืช (C11, C12, F11, R11 และ N11) ด้วยวิธี Poisoned food technique พบว่า สารสกัดหยาบผักแขยงจากทุกตัวทำละลายสามารถยับยั้งเชื้อราที่ทดสอบได้ทุกไอโซเลท โดยประสิทธิภาพในการยับยั้งขึ้นอยู่กับระดับความเข้มข้นของสารสกัด คือยิ่งระดับความเข้มข้นสูง ยิ่งมีประสิทธิภาพในยับยั้งสูงตามไปด้วย กล่าวคือ เมื่อสิ้นสุดการทดสอบ (7 วันหลังการปลูกเชื้อ) สารสกัด 95% Eth. ความเข้มข้น 30000 ppm สามารถยับยั้งการเจริญทางเส้นใยของเชื้อราทุกไอโซเลทที่ทดสอบได้ดีที่สุด ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับชุดความควบคุม (negative control) โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อราไอโซเลท C11, C12, F11 และ N11 เท่ากับ 39.77, 38.66, 42.44 และ 43.11 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนความเข้มข้น 10000 และ 20000 ppm สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราทั้ง 4 ไอโซเลทที่กล่าวมาได้ อยู่ในช่วง 23.33-31.11 และ 33.33-39.33 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับชุดควบคุม (negative control) ของแต่ละไอโซเลท ในขณะที่ positive control สามารถยับยั้งการเจริญทางเส้นใยของทุกเชื้อได้ 100 เปอร์เซ็นต์ (Figure 1 และ 3) จากผลการทดสอบนี้แสดงให้เห็นว่า สารสกัดผักแขยงที่เคยมีรายงานมาก่อนหน้านี้ว่ามีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้หลายชนิดแล้ว (กานดา และคณะ, 2550; สุภาพร และกัญณาญาภัค, 2550; Nanasombat and Teckchuen, 2009) ยังแสดงประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราที่ทดสอบได้อีกด้วย ซึ่งก็สอดคล้องกับการรายงานของ ธิติพร และคณะ (2554) ว่า สารสกัดเอทานอลจากผักแขยง สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Pythium aphanidermatum* สาเหตุโรคเน่าของถั่วพุ่มพันธุ์ มมส.1 ได้เท่ากับ 55.34 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งน่าจะเป็นเพราะในสารสกัดผักแขยงจะพบสารประกอบ phenolic และ flavonoid ที่เป็นสารสำคัญ (Nanasombat and Teckchuen, 2009; Do *et al*., 2014) โดยมีรายงานว่า สารประกอบ phenolic มีฤทธิ์ในการต้านการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus* sp., *Fusarium* sp., *Ganoderma lucidum*, *Rhizopus* sp. (Hussin *et al*., 2009), *Al. solani*, *Botrytis cinerea* และ *F. culmorum* (Winkelhausen *et al*., 2005) ในขณะที่ สารประกอบ flavonoid สามารถต้านเชื้อรา *Al. solani* (Brahmachari *et al*., 2011). *As. tamarii*, *As. flavus*, *Cladosporium sphaerospermum*, *Penicillium digitatum* และ *Pe. italicum* (Tim Cushnie and Lamb, 2005)

สำหรับการทดสอบสารสกัดหยาบ 50% Eth. มีประสิทธิภาพยับยั้งเชื้อราที่ทดสอบได้ โดยที่ระดับความเข้มข้น 30000 ppm แสดงประสิทธิภาพดีที่สุด สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราไอโซเลท C11, C12, N11 และ F11 ได้เท่ากับ 44.66, 44.22, 44.22 และ 34.22 เปอร์เซ็นต์ ส่วนที่ระดับความเข้มข้น 10000-20000 ppm สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราที่ทดสอบได้ อยู่ในช่วง 12.22-36.44 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (negative control) ของแต่ละไอโซเลท (Figure 1 และ 3) ยิ่งไปกว่านั้นยังพบว่าสารสกัด 50% Eth. ค่อนข้างมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราได้ดีกว่าสารสกัด 95% Eth. อาจเป็นผลจากการใช้ตัวทำละลายที่แตกต่างกันในการสกัดสารจากพืชซึ่งจะมีผลต่อปริมาณสารประกอบ phenolic และ flavonoid ที่ถูกละลายออกมาได้ไม่เท่ากัน โดยสารสกัดเอทานอล 50 เปอร์เซ็นต์ พบปริมาณของสารประกอบดังกล่าวทั้ง 2 ชนิด มากที่สุด รองลงมาคือ เอทานอล และน้ำ ตามลำดับ (Paweena, 2012; Dailey and Vuong, 2015; Ngo *et al*. ,2017)

อย่างไรก็ตาม ถึงแม้ว่าสารสกัดจากผักแขยงที่ใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลายจะมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคธัญพืชที่ทดสอบได้ แต่ผลของสารสกัดน้ำจากผักแขยงกลับให้ผลยับยั้งการเจริญทางเส้นใยของเชื้อราได้เพียงเล็กน้อยเท่านั้น โดยแสดงผลการยับยั้งเชื้อราที่ทดสอบสูงสุดเพียง 29.55 เปอร์เซ็นต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(Figure 1 และ 3) และผลการยับยั้งของสารสกัดน้ำจากผักแขยง ใกล้เคียงกับผลการทดสอบสารสกัดน้ำจากพืชชนิดอื่น เช่น สารสกัดน้ำจากใบยูคาลิปตัส, ใบสะเดา, ผลสะเดา กานพลู, wormwood, rosemary, Sage (Seint and Masaru, 2011), ผักกระเฉด, ผักแขยง, ผักตำลึง, ผักปลัง และผักหวานบ้าน (Rattanasena, 2012) ซึ่งไม่สามารถยับยั้งเชื้อรา *R. solani*, *R. oryzae R, oryzae-sativa* และ *Sclerotium hydrophilum* (Seint and Masaru, 2011) และเชื้อแบคทีเรีย *Straphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *Streptococcus pyogenes* และ *Propionibacterium acnes* (Rattanasena, 2012) ได้

ส่วนในการทดสอบสารสกัดผักแขยงทั้ง 3 ตัวทำละลายกับเชื้อรา R11 กลับพบว่าสารสกัดทุกความเข้มข้นที่ทดสอบมีผลการยับยั้งเพียงเล็กเท่านั้น (0-15.55 เปอร์เซ็นต์) ซึ่งแตกต่างจากการทดสอบสารสกัดเอทานอลจากใบยูคาลิปตัส, ใบสะเดา, ผลสะเดา กานพลู, wormwood, rosemary และ Sage ที่มีประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Rhizoctonia* spp. ได้ สูงถึง 100 เปอร์เซ็นต์ (Seint and Masaru, 2011)

2. **อิทธิพลของสารสกัดหยาบจากผักแขยงต่อการงอกของสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรคของธัญพืช โดยวิธี** Spore germination technique

ผลจากการทดสอบอิทธิพลของสารสกัดหยาบ 95% Eth., 50% Eth. และน้ำจากผักแขยงต่อการงอกของสปอร์เชื้อราสาเหตุโรคธัญพืช จำนวน 4 ไอโซเลท (C11, C1, F11 และ N11) พบว่า เมื่อสิ้นสุดการทดลองของแต่ละเชื้อ สารสกัดจากผักแขยงทั้ง 3 ตัวทำละลาย มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อราที่ทดสอบได้ และเป็นไปในทิศทางเดียวกันกับการทดสอบในเส้นใย โดยความเข้มข้นที่สูงจะแสดงประสิทธิภาพได้ดีที่สุด กล่าวคือ การทดลองสารสกัดหยาบ 95% Eth. ทุกความเข้มข้นสามารถยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อราไอโซเลทดังกล่าวได้ มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอยู่ในช่วง 34.6-50.6, 32.6-52.3, 42.3-60.3 และ 47.3-68.3 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (negative control) ของแต่ละไอโซเลท ในขณะที่สารสกัด 50% Eth. ทุกความเข้มข้นสามารถยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อราดังกล่าวได้ใกล้เคียงกับสารสกัด 95% Eth. โดยมีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งเชื้อรา N11 ได้ดีที่สุด สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์ได้ 42.6-61.6 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ C11, C12 และ F11 อยู่ในช่วง 35.6-59.3, 36.6-57, 26-48.6 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมของแต่ละไอโซเลท สำหรับการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดน้ำจากผักแขยงค่อนข้างจะแตกต่างจากการทดสอบการเจริญทางเส้นใย โดยที่สารดังกล่าวทุกความเข้มข้นสามารถยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา C11, C12 และ N11 ได้อยู่ในช่วง 37.0-49.6, 32.6-48.3 และ 20.0-31.3 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ยกเว้น ไอโซเลท F11 ที่สารสกัดดังกล่าวยับยั้งได้เพียงเล็กน้อยเท่านั้น (Figure 2) นอกจากการส่งผลทำให้สปอร์ไม่งอกแล้ว สารสกัดจากผักแขยงยังทำให้สปอร์มีความผิดปกติไป เช่น บวมพอง, สารภายในสปอร์ไหลออกมา, ผิดรูป หรือไซโตพลาสซึมรวมกันอีกด้วย (Figure 4) จากประสิทธิภาพการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อราทดสอบที่กล่าวมาจะเห็นได้ว่า สารสกัดจากผักแขยงแสดงผลการยับยั้งการงอกของสปอร์ได้ดีกว่าเส้นใย ซึ่งผลสอดคล้องกับรายงานหลายฉบับที่ใช้สารจากพืชสมุนไพรมาทดสอบกับเส้นใยและสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรคพืชโดยวิธีเดียวกัน เช่น สารสกัดจากใบชุมเห็ดเทศ, สารสกัดจากใบมะกรูด, น้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากมะกรูด หรือแม้กระทั่ง น้ำคั้นจากใบชุมเห็ดเทศ ซึ่งน่าจะเป็นเพราะสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรคพืชมีความอ่อนไหวต่อสารสกัดจากพืช ประกอบกับการที่สปอร์ถูกแช่และสัมผัสโดยตรงกับสารสกัดพืช จึงทำให้ประสิทธิภาพชัดเจนกว่า (สุริยสิทธิ์ และถนิมนันต์, 2560; สุริยสิทธิ์ และคณะ, 2559; นคร และถนิมนันต์, 2559; สุริยสิทธิ์ และคณะ, 2558) และทิศทางของประสิทธิภาพของตัวทำละลายทั้ง 3 ชนิด จากผักแขยงในการยับยั้งการงอกเป็นไปในทิศทางเดียวกันกับการทดสอบกับเส้นใย คือ สารสกัด 50% Eth. แสดงผลยับยั้งได้ดีที่สุด รองลงมาคือ สารสกัด 95% Eth. และ น้ำ ตามลำดับ โดยระดับความเข้มข้นสูง (30000 ppm) จะมีประสิทธิภาพมากกว่าความเข้มข้นระดับต่ำ (20000 และ 10000 ppm)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

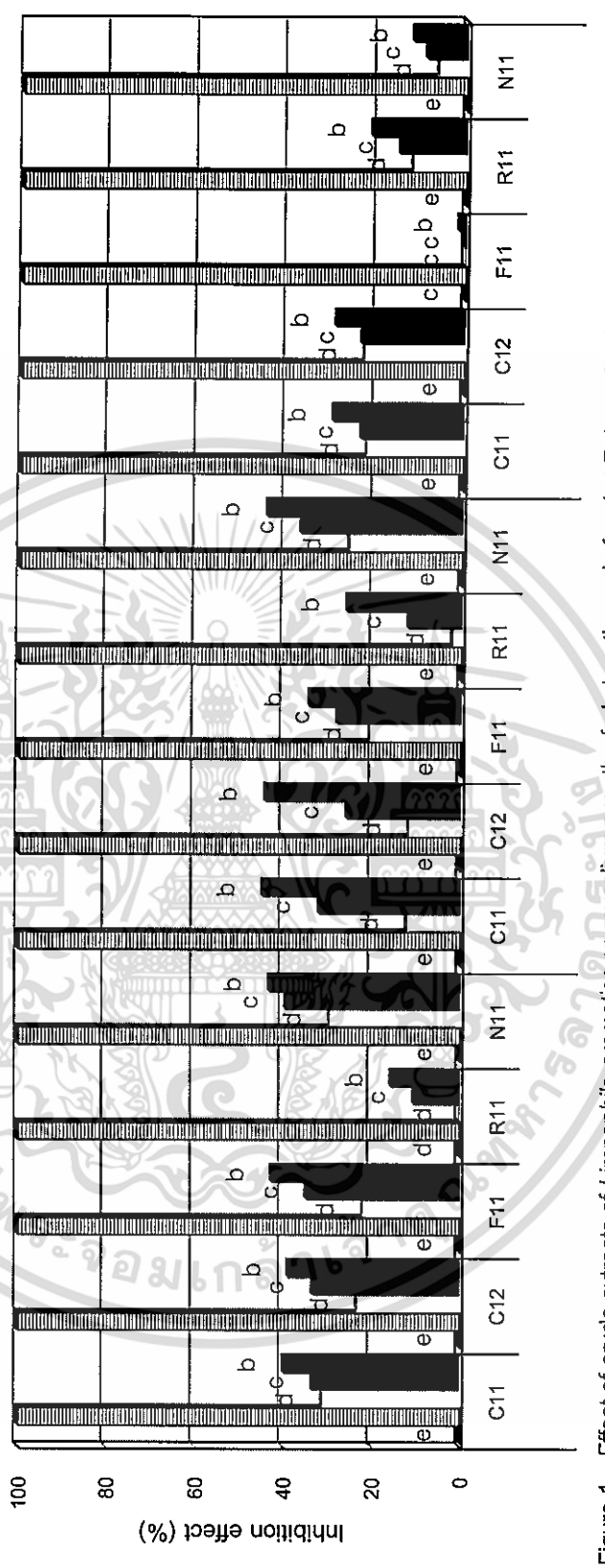

Figure 1 Effect of crude extracts of *Limnophila aromatica* on mycelium growth of phytopathogenic fungi at 7 days after inoculation (DAI). Values are means of five replicates. Column bars within each pathogen indicated with the same letter are not significantly different according to Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ($P > 0.05$).

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

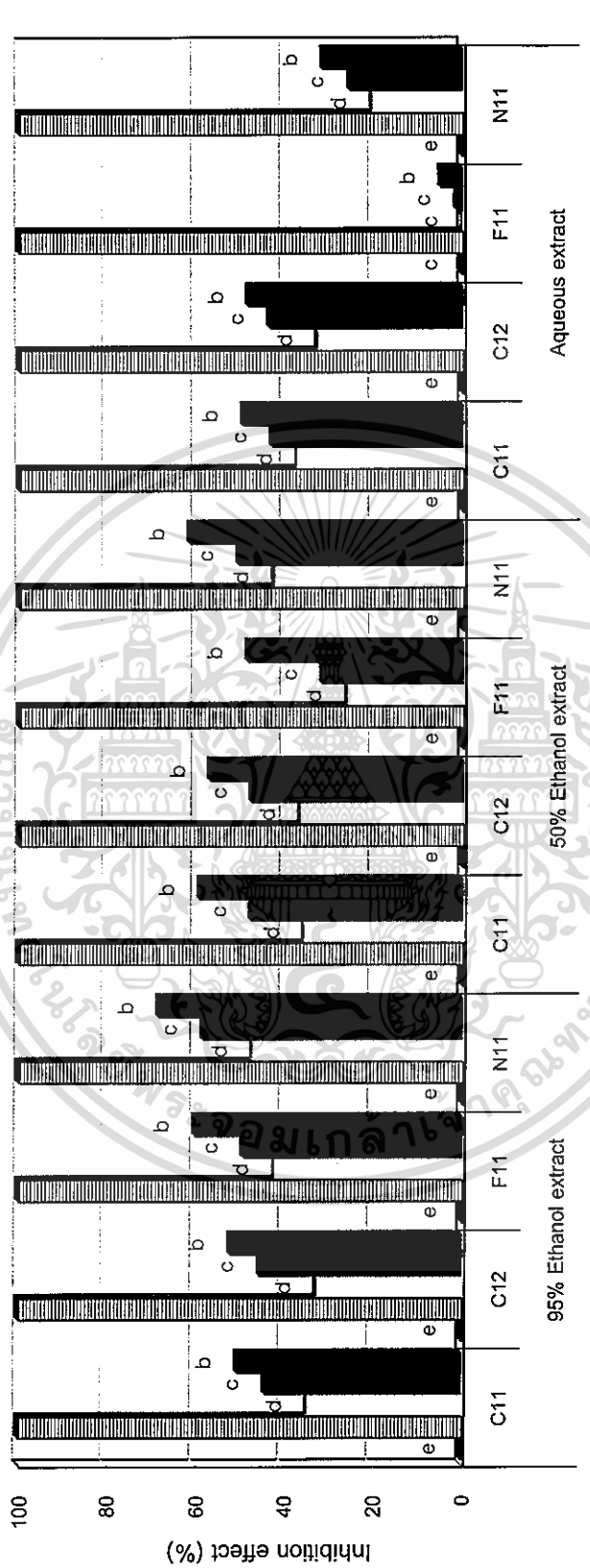

Figure 2 Effect of crude extracts of *Limnophila aromatica* on spore germination of phytopathogenic fungi at 36 hrs (F11) and 48 hrs (C11, C112 and N11). Values are means of five replicates. Column bars within each pathogen indicated with the same letter are not significantly different according to Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ($P > 0.05$).

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

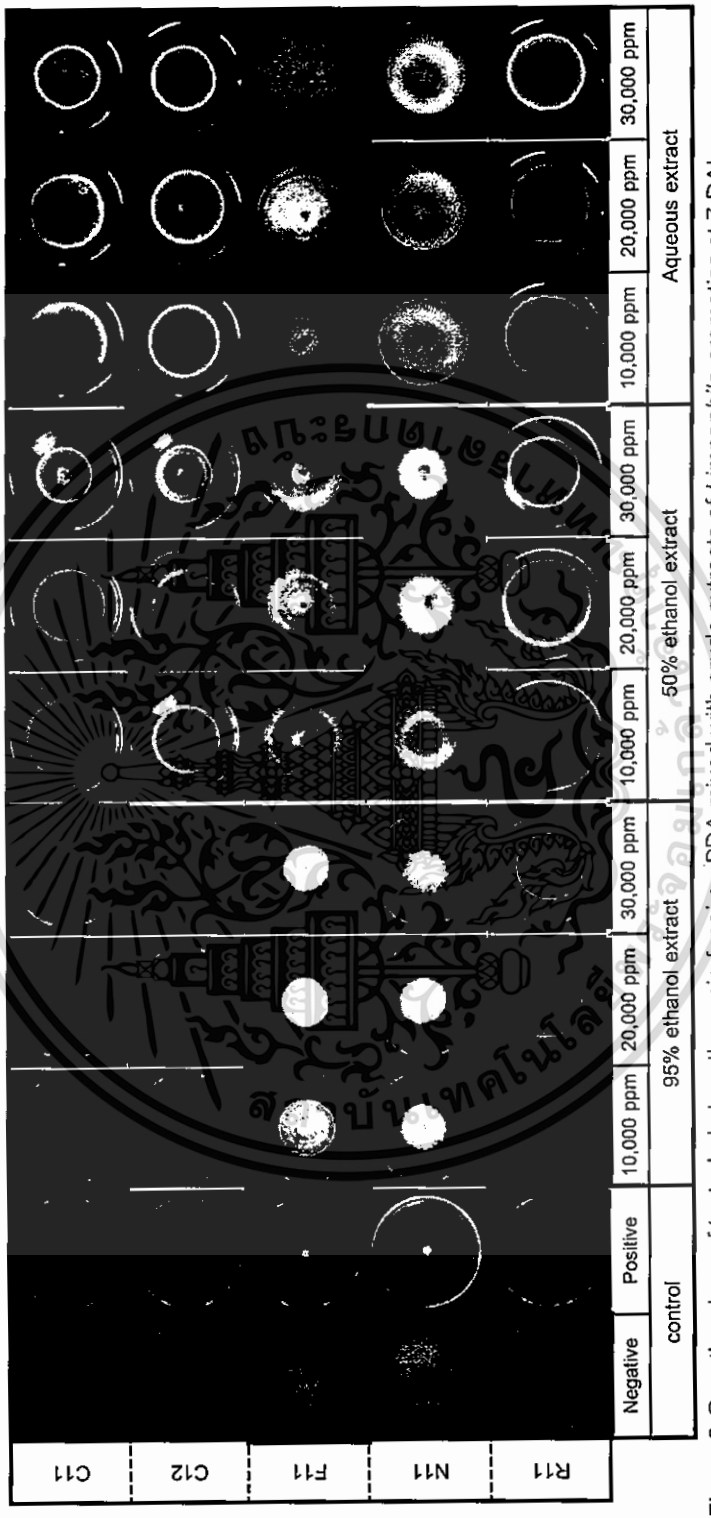

Figure 3 Growth colony of tested phytopathogenic fungi on PDA mixed with crude extracts of *Limnophila aromatica* at 7 DAI.

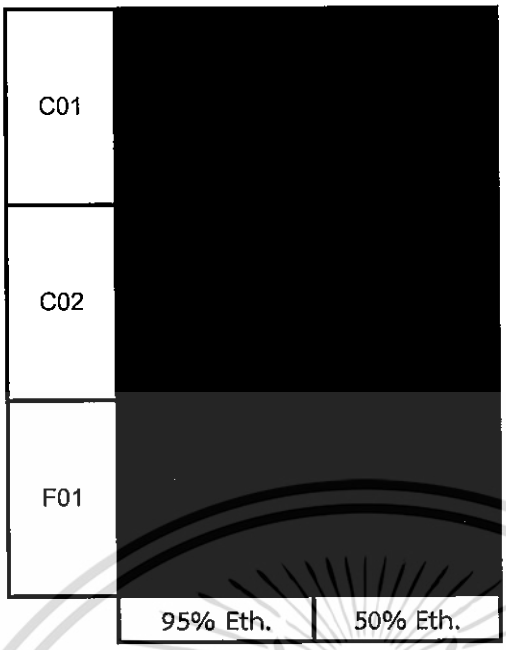

Figure 4 Abnormal spores of phytopathogenic fungi caused by *Limnophila aromatica* extracts.

สรุป

จากการศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากผักแขยงที่ใช้ตัวทำละลาย 3 ชนิด (เอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ เอทานอล 50 เปอร์เซ็นต์ และน้ำ เป็นตัวสกัด) ต่อการเจริญทางเส้นใยและการงอกของสปอร์เชื้อราสาเหตุโรคของธัญพืช ได้แก่ เชื้อรา *Curvularia* sp. (C11 และ C12), *Fusarium* sp. (F11), *Rhizoctonia* sp. (R11) และ *Nigrospora* sp. (N11) พบว่า สารสกัดเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ และสารสกัดเอทานอล 50 เปอร์เซ็นต์ ทุกความเข้มข้นที่ทดสอบสามารถยับยั้งการเจริญทางเส้นใยของเชื้อราดังกล่าวได้ มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งอยู่ในช่วง 22-43.11 และ 12-44.66 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ สำหรับการทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อราสาเหตุโรคธัญพืช 4 ไอโซเลท (C11, C12, F11 และ N11) นั้น พบว่าสารสกัดจากผักแขยงทั้ง 3 ชนิด ทุกความเข้มข้น สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อราดังกล่าวได้ อยู่ในช่วง 20-68.3 เปอร์เซ็นต์ ยกเว้นสารสกัดน้ำจากผักแขยงที่ยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา F11 ได้เพียงเล็กน้อยเท่านั้น จากผลที่กล่าวมาพอที่จะสรุปได้ว่า สารสกัดเอทานอล 95 และ 50 เปอร์เซ็นต์ จากผักแขยงสามารถควบคุมการเจริญของเชื้อราสาเหตุของธัญพืชได้ในระดับหนึ่ง และยิ่งไปกว่านั้นสารสกัดเอทานอล 50 เปอร์เซ็นต์ มีแนวโน้มในการควบคุมได้สูงกว่าสารสกัดเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งจะเป็นการประหยัดในการใช้ตัวทำละลายได้ด้วย อย่างไรก็ตามสารสกัดเอทานอล 50 เปอร์เซ็นต์ จากผักแขยงแสดงประสิทธิภาพในการยับยั้งได้ดี แต่ควรทำการขยายผลการศึกษาถึงระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารสกัดดังกล่าวจากผักแขยงที่ใช้ในการควบคุมโรคพืชในระดับห้องปฏิบัติการ ตลอดจนการใช้ในสภาพจริง เป็นการลดการใช้สารเคมีสังเคราะห์ในการป้องกันกำจัดโรคพืชต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ คุณภัทริน วิจิตรตระการ นักศึกษาปริญญาเอก คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่ช่วยเตรียมสารสกัดจากพืช เพื่อใช้ดำเนินงานวิจัยในครั้งนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

กรมการข้าว. 2552. โรคเมล็ดด่าง. [ระบบออนไลน์] แหล่งที่มา http://www.brrd.in.th/rkb/Fact%20Sheet/rice/fs_dirty%20panicle.pdf (25 มีนาคม 2559)

กานดา ล้อแก้วมณี วราพร หนันแดง ทัศนีย์ ไตรยนาม ภานุวัฒน์ คัมภีราวัฒน์ และชื่นจิต จันทรจูฒพงษ์. 2552. การศึกษาผลของการใช้สารสกัดจากผักกระโดนน้ำ และผักแขยงในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย *Escherichia coli*. หน้า 221-228. *ใน*: การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 47. 17-20 มีนาคม 2552. กรุงเทพฯ.

ณรงค์ศักดิ์ เสนาณรงค์. 2533. ข้าวฟ่าง, สารานุกรมไทยสำหรับเยาวชน เล่มที่ 14. [ระบบออนไลน์] แหล่งที่มา http://saranukromthai.or.th/sub/book/ book.php?book=14&chap=7&page=chap7.htm (20 กันยายน 2560).

ธิติพร โคตรชา วรรทณา สินศิริ นิรัศ สินศิริ และประภัสสร บุษมัน. 2554. ประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืชในการควบคุมโรคที่เกิดจากเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* (Edson) Fitzp. ในถั่วฝุ่มพันธุ์ มมส.1. แก่นเกษตร 39 (พิเศษ): 184-189.

นคร บุญน้อย และถนิมนันต์ เจนอักษร. 2559. ประสิทธิภาพของน้ำหอมระเหยจากมะกรูด (*Citrus hystrix* DC.) ในการยับยั้งเชื้อราที่ติดมากับเมล็ดข้าวในสภาพห้องปฏิบัติการ. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร. 47(3) พิเศษ: 63-66.

นที ชาวนา และสุภาณี พิมพ์สมาน. 2547. การใช้น้ำมันระเหยง่ายจากผักพื้นบ้านควบคุมด้วงถั่วเขียว, *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera : Bruchidae). วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร 35 (5-6 พิเศษ): 287-290.

ฝ่ายบริการและฝึกอบรม มก. 2550. โรคที่สำคัญของข้าวโพดและการป้องกันกำจัด. [ระบบออนไลน์] แหล่งที่มา http://www.ku.ac.th/e-magazine/may50/agri/maize.htm (20 กันยายน 2560).

สุภาพร พงษ์มณี และกัญญาญาภัค สนามพล. 2550. การสกัดสารจากพืชสมุนไพรเพื่อยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคในอาหาร. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร. 38(6): 54-57.

สุริยสิทธิ์ สมนึก และถนิมนันต์. 2560. ศักยภาพของสารสกัดชุมเห็ดเทศ (*Cassia alata* L.) ร่วมกับเชื้อราปฏิปักษ์ในการควบคุมเชื้อ ราสาเหตุโรคพืชในสภาพห้องปฏิบัติการ. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า. 35(1): 60-71.

สุริยสิทธิ์ สมนึก นคร บุญน้อย และถนิมนันต์ เจนอักษร. 2559. ประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบใบมะกรูด (*Citrus hystrix* DC.) ด้วยเอทานอลในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดด่างของข้าวในสภาพห้องปฏิบัติการ. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร. 47 (3) พิเศษ: 55-58.

สุริยสิทธิ์ สมนึก ไพลิน เนินหาด ทิพปภา เมฆพัฒน์ และถนิมนันต์ เจนอักษร. 2558. อิทธิพลของน้ำคั้นชุมเห็ดเทศ (*Cassia alata* L.) ต่อเชื้อราปฏิปักษ์และเชื้อราสาเหตุโรคพืชผัก. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า. (พิเศษ): 735-744.

Brahmachari, G., N.C. Mandal, S.K. Jash, R. Roy, L.C. Mandal, A. Mukhoppadhyay, B. Behera, S. Majhi, A. Mondal and A. Gangopadhyay. 2011. Evalution of antimicrobial potential of two flavonoids isolated from *Limnophila* plants. Chemistry and Biodiversity. 8: 1139-1151.

Dailey, A. and V.Q. Vuong . 2015. Effect of extraction solvents on recovery of bioactive compounds and antioxidant properties from macadamia (*Macadamia tetraphylla*) skin waste. Cogent Food and agriculture 1(1). Available [online]: http://www.tandfonline.com/doi/pdf/10.1080/23311932.2015.1115646?needAccess=true. (Jan. 18, 2018).

Do, Q.D., A.E. Angkawijaya, P.L. Tran-Nguen, L.H. Huynh, F.E. Soetaredjo and S. Ismadji. 2014. Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatica*. Journal of Food and Drug Analysis. 22: 296-302.

Gorai, D., S.K. Jash, R.K. Singh and A. Gangopadhyay. 2014. Chemical and pharmacological aspects of *Limnophila aromatica* (Scrophulariaceae): an overview. Am. J. Phytomed. Clin. Ther. 2(3): 348-356.

Hussin, N.M., R. Muse, S. Ahmad, J. Ramli, M. Mahmood, M. R. Sulaiman, M. Y. A. Shukor, M.F. A. Rahman and K. N. K. Aziz. 2009. Antifungal activity of extracts and phenolic compounds from *Barringtonia racemosa* L. (Lecythidaceae). African Journal of Biotechnology. 8(12): 2835-2842.

Nanasombat S. and N. Teckchuen. 2009. Antimicrobial, antioxidant and anticancer activities of Thai local vegetables. Journal of Medicinal Plants Research. 3(5): 443-449.

Ngo, T.V., C.J. Scarlett, M.C. Bowyer, P.D. Ngo and Q.V. Vuong. 2017. Impact of different extraction solvents on bioactive compounds and antioxidant capacity from the root of *Salacia chinensis* L. Journal of Food Quality 2017: 1-8.

Rattanasena, P. 2012. Antioxidant and antibacterial activities of vegetables and fruits commonly consumed in Thailand. Pakistan Journal of Biological Science. 15(18): 877-882.

Seaint, S.A. and M. Masaru. 2011. Effect of some plant extracts on *Rhizoctonia* spp. and *Sclerotium hydrophilum*. J Med Plants Res. 5(16): 3751-3757.

Tim Cushnie, T.P. and A.J. Lamb. 2005. Antimicrobial activity of flavonoids. International Journal of Antimicrobial Agents. 26: 343-356.

Winkelhausen, E., R. Pospiech and G. Laufenberg. 2005. Antifungal activity of phenolic compounds extracted from dried olive pomace. Bulletin of the Chemists and Technologists of Macedonia. 24(1): 41-46.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้