ประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืชในการควบคุมโรคที่เกิดจากเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* (Edson) Fitzp. ในถั่วพุ่มพันธุ์ มมส.1

Efficacy of crude plant extracts for controlling of *Pythium aphanidermatum* (Edson) Fitzp. in Cowpea variety MSU1

ธิติพร โคตรชา[1], วรรทณา สินศิริ[1*], นริศ สินศิริ[1] และ ประภัสสร บุษมั่น[1]

Titipron Khotcha[1], Wantana Sinsiri[1*], Naris Sinsiri[1] and Prapassorn Busmun[1]

บทคัดย่อ: การศึกษาประสิทธิภาพสารสกัดจากพืช 7 ชนิดคือ กระเทียม ข่า ขมิ้นชัน ตะไคร้หอม สะเดา ผักแพว และผักแขยงที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิดคือ เอทานอล อะซิโตน และ เฮกเซน ที่ระดับความเข้มข้น 10,000 20,000 30,000 40,000 และ 50,000 ppm กับชุดควบคุมคือ น้ำกลั่น และสารเคมี Captan 1,000 ppm ในการควบคุมโรคที่เกิดจากเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* (Edson) Fitzp. ในถั่วพุ่มพันธุ์ มมส.1 ในห้องปฏิบัติการ โดยวิธี poisoned food technique วางแผนการทดลองแบบ Factorial in Completely Random Design จำนวน 4 ซ้ำ ผลการศึกษา พบว่า สารสกัดจากข่าและขมิ้นชันที่สกัดด้วยอะซิโตนสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *P. aphanidermatum* ได้ดีที่สุด อย่างไรก็ตามสารสกัดจากพืชทดสอบทั้ง 7 ชนิดสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราชนิดนี้ได้ขึ้นอยู่กับชนิดพืช ตัวทำละลาย และระดับความเข้มข้น

คำสำคัญ: สารสกัดจากพืช *Pythium aphanidermatum* (Edson) Fitzp. ถั่วพุ่ม

ABSTRACT: The efficiency of seven cruded plant extracts; *Allium sativum* (Linn), *Alpinia galanga* (Linn.) Swartz, *Curcuma longa* (Linn), *Cymbopogon nardus* (Linn), *Azadirachta indica* var. Siamensis Valeton, *Polygonum odoratum* (Lour.) and *Limnophila aromatica* (Lomk) Merr, were extracted by ethanol, acetone and hexane. They were categorised by five concentration; 10,000, 20,000, 30,000, 40,000 and 50,000 ppm in *Vigna unguiculata* (L.) Walp variety MSU1 against *Pythium aphanidermatum* (Edson) Fitzp. Each concentration was compared with distilled water and 1,000 ppm of captan by poisoned food technique in vitro in Factorial in Completely Random Design with four replications. The results revealed the cruded extraction of *Alpinia galanga* (Linn.), Swartz and *Curcuma longa* (Linn) by acetone were the most effective in inhibiting *P. aphanidermatum*. However, seven cruded plant extractions had the inhibitory effect but the efficacy depended on the type of plants, solvents and concentrations.

Key words: Crude plant extract, *Pythium aphanidermatum* (Edson) Fitzp. ,*Vigna unguiculata* (L.) Walp

[1]ภาควิชาเทคโนโลยีการเกษตร คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม, มหาสารคาม 44150

[1]Department of Agriculture Technology, Faculty of Technology, Mahasarakham University, Mahasarakham 44150

*Corresponding author: wantana.s@msu.ac.th

บทนำ

ถั่วพุ่ม (*Vigna unguiculata* (L.) Walp เป็นพืชตระกูลถั่วที่สำคัญชนิดหนึ่งของโลก ซึ่งองค์การอาหารและเกษตรแห่งสหประชาชาติ รายงานว่าผลผลิตถั่วพุ่มทั่วโลกมีประมาณ 7.56 ล้านเมตริกตันต่อปี ด้วยพื้นที่ปลูกกว่า 12.76 ล้านเฮกตาร์ สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ทั้งในส่วนของเมล็ด ฝักสด ลำต้น และใบ รวมถึงนำมาใช้เป็นปุ๋ยพืชสดได้เป็นอย่างดี ผลจากการวิจัยคุณค่าทางโภชนาการพบว่าถั่วพุ่มมีปริมาณโปรตีนสูงกว่าถั่วชนิดอื่น ประมาณ 25 เปอร์เซ็นต์ (IITA, 2010) จากข้อมูลดังกล่าวกรมส่งเสริมการเกษตรและสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติได้มีการส่งเสริมงานวิจัยและขยายพื้นที่เพาะปลูกอย่างกว้างขวางส่งผลให้มีความต้องการเมล็ดพันธุ์เพิ่มมากขึ้น อย่างไรก็ตามการปลูกถั่วพุ่มยังพบปัญหาที่สำคัญคือเรื่องโรคและแมลง โดยเฉพาะโรคที่เกิดจากเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* (Edson) Fitzp. ก่อให้เกิดโรคต่างๆ คือ โรคเน่าระดับดิน (damping – off) โรครากเน่า (root rot) โรคโคนเน่า (stem rot) โรคเมล็ดเน่า (seed rot) โรคกล้าเน่าหรือโรคกล้าไหม้ (seedling blight) (Agrios, 2005) จากสาเหตุดังกล่าวส่งผลให้เกษตรกรมีความจำเป็นต้องใช้สารเคมีป้องกันกำจัดโรคและศัตรูพืช แต่การใช้สารเคมีนำมาซึ่งผลกระทบหลายประการ เช่น สารตกค้างทั้งในผลผลิตและทำลายสิ่งแวดล้อม ตลอดจนความปลอดภัยต่อเกษตรกรผู้ใช้และผู้บริโภค (กาญจนา, 2551) เพื่อเป็นการลดการใช้สารเคมี การนำเข้าสารเคมี และผลกระทบดังที่กล่าวมา จึงมีการศึกษาวิจัยนำพืชที่มีคุณสมบัติในการควบคุมจุลินทรีย์มาควบคุมหรือกำจัดโรคพืช(รัตนา, 2547) รวีวรรณ (2551) กล่าวว่าสารที่ได้มาจากพืช เช่น alkaloid, glycoside, isothiocynate, volatile oil และ sulphide สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้ ดังนั้นในการวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืชเพื่อควบคุมและป้องกันโรคที่เกิดจากเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* (Edson) Fitzp. ในถั่วพุ่มพันธุ์ มมส 1 เพื่อเป็นแนวทางในการประยุกต์ใช้สารออกฤทธิ์ที่ได้จากพืช ลดการใช้และการนำเข้าสารเคมี และที่สำคัญเกิดความปลอดภัยต่อผู้ผลิต ผู้บริโภคและสิ่งแวดล้อม

วิธีการศึกษา

การทดสอบประสิทธิภาพสารสกัดจากพืชในการยับยั้งการเจริญเชื้อรา *P. aphanidermatum* ในห้องปฏิบัติการ

เตรียมเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* (Edson) Fitzp. ที่แยกจากถั่วพุ่มที่เกิดโรค ทำการทดลองที่ห้องปฏิบัติการภาควิชาเทคโนโลยีการเกษตร คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ระหว่างเดือนมิถุนายน-ตุลาคม พ.ศ. 2553 วางแผนการทดลองแบบ Factorial in Completely Random Design ทดลองจำนวน 4 ซ้ำ ประกอบด้วย 2 ปัจจัย ปัจจัยที่ 1 สารสกัดจากพืชมี 7 ชนิดได้แก่ กระเทียม *Allium sativum* (Linn.) ข่า *Alpinia galangal* (Linn.) ขมิ้นชัน *Curcuma longa* (Linn.) ตะไคร้หอม *Cymbopogon nardus* (Linn.) สะเดา *Azadirachta indica* var. *Siamensis* Valeton ผักแพว *Polygonum odoratum* Lour. และผักแขยง *Limnophila aromatica* (Lomk.) Merr. ที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด คือ เอทานอล อะซิโตน และ เฮกเซน ปัจจัยที่ 2 คือ ระดับความเข้มข้น 10,000 20,000 30,000 40,000 และ 50,000 ppm เปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่ใช้ น้ำกลั่นฆ่าเชื้อ และสารป้องกันกำจัดเชื้อรา captan 50 เปอร์เซ็นต์ ที่ระดับความเข้มข้น 1,000 ppm

ทดสอบด้วยวิธี Poisoned food technique (Mayachiew et al, 2008) โดยนำ mycelial disc ของเชื้อรา *P. aphanidermatum* อายุ 7 วัน มาวางบนอาหาร PDA ที่ผสมสารสกัดจากพืช โดยวางตรงตำแหน่งจุดศูนย์กลางของจานอาหารเลี้ยงเชื้อ บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ทำการเก็บข้อมูลตรวจวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีเชื้อรา และนำค่าที่ได้มา

คำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเชื้อรา ดังสมการ

เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง = [(A – B) / A] X 100

เมื่อ A คือ ค่าเฉลี่ยของเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีเชื้อราบนจานเลี้ยงเชื้อกรรมวิธีที่ใช้น้ำกลั่นฆ่าเชื้อ

B คือ ค่าเฉลี่ยของเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีเชื้อราบนจานเลี้ยงเชื้อที่มีอาหารผสมสารสกัดจากพืช

การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance) และความแตกต่างทางสถิติ (P<0.05) โดยใช้ Duncan's New Multiple Range Test

ผลการศึกษาและวิจารณ์

ประสิทธิภาพสารสกัดจากพืชในการยับยั้งการเจริญเชื้อรา *P. aphanidermatum* ในห้องปฏิบัติการ

จากการศึกษาที่ใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย พบว่า สารสกัดจากข่า (*Alpinia galanga* (Linn.) สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* ได้ดีที่สุดเท่ากับ 98.88 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือสารสกัดจากตะไคร้หอม (*Cymbopogon nardus* (Linn.) เท่ากับ 89.21 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ใช้อะซิโตนเป็นตัวทำละลาย สารสกัดจากข่าและขมิ้นชันสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้สูงที่สุดในทุกระดับของความเข้มข้น และการสกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซนพบว่าสารสกัดจากตะไคร้หอมและผักแขยงสามารถยับยั้งการเจริญเชื้อราได้ดีที่สุดเท่ากับ 87.98 และ 86.91 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ (Table 1) จากการวิจัยชี้ให้เห็นว่าการเลือกตัวทำละลายที่เหมาะสมกับชนิดพืชมีผลต่อการยับยั้งเชื้อรา *P.aphanidermatum* เมื่อพิจารณาถึงระดับความเข้มข้นสารสกัดโดยทั่วไป พบว่าระดับความเข้มข้นที่สูงขึ้นจะเพิ่มการยับยั้งได้เพิ่มขึ้น ยกเว้นข่าและขมิ้นชันที่สกัดด้วยอะซิโตนที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ 100 เปอร์เซ็นต์ในทุกระดับความเข้มข้น (Figure 1)

ในตัวทำละลายที่แตกต่างกันมีผลต่อการระดับความเข้มข้นในการยับยั้งเช่น การใช้เอทธานอล พบว่าสารสกัดกระเทียมและผักแพว ที่ความเข้มข้น 40,000-50,000 ppm สามารถยับยั้งการเจริญเชื้อรา *P. aphanidermatum* ได้ 100 เปอร์เซ็นต์ เช่นเดียวกับ สารสกัดจากสะเดาและผักแขยงที่ระดับความเข้มข้น 50,000 ppm ในขณะที่สารสกัดจากข่า เละขมิ้นชันในตัวทำละลายอะซิโตนที่ระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 10,000-50,000 ppm สามารถยับยั้งการเจริญเชื้อรา *P.aphanidermatum* ได้อย่างสมบูรณ์ Suleiman et al.(2009) กล่าวว่า คุณสมบัติในการละลายน้ำ ในตัวทำละลายที่แตกต่างกันของสารสกัดจากพืชมีผลต่อการออกฤทธิ์ยับยั้งหรือชะลอการเจริญของเชื้อรา แสดงว่าสารสำคัญที่ได้จากพืชที่ สกัดด้วยเอทานอลมีสารออกฤทธิ์ที่มีผลต่อการเจริญเชื้อราดังกล่าว ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับโครงสร้างทางเคมี และกิจกรรมของสารออกฤทธิ์ที่ส่งเสริมกันของสารที่เป็นองค์ประกอบ ซึ่งประไพพิศ (2552) รายงานว่า สารสกัดจากขมิ้น และกานพลูสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *P.aphanidermatum* ก่อโรคเน่าคอดินในพืชตระกูลกะหล่ำที่ระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 0.04-0.1 เปอร์เซ็นต์ได้อย่างสมบูรณ์ ซึ่งเห็นได้ว่าสารสกัดจากพืชจะมีประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญเชื้อรา *P.aphanidermatum* เพิ่มขึ้นตามระดับความเข้มข้นที่สูงขึ้น จากการทดลองครั้งนี้พืชแต่ละชนิดควรใช้ตัวทำละลายที่เหมาะสมเพื่อให้ได้สารที่มีคุณสมบัติเฉพาะในการยับยั้งเชื้ออยู่สูงจึงทำให้เห็นผลยับยั้งได้ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ

สรุป

พืชแต่ละชนิดที่สกัดด้วยตัวทำละลายชนิดเดียวกันที่ระดับความเข้มข้นเดียวกันสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *P. aphanidermatum* ได้แตกต่างกันขึ้นอยู่กับคุณสมบัติของสารออกฤทธิ์ จากพืชนั้นๆ

คุณสมบัติเฉพาะของตัวทำละลายที่เหมาะสมกับสารออกฤทธิ์ในพืชมีผลทำให้ที่ระดับความเข้มข้นต่ำยับยั้งเชื้อรานั้นได้ ดังนั้นในการทดลองนี้สารสกัดจากข่าและ ขมิ้นชัน ที่ใช้อะซิโตนเป็นตัวทำละลายที่ระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 10,000-50,000 ppm สามารถยับยั้งการเจริญเชื้อรา *P. aphanidermatum* ได้ 100 เปอร์เซ็นต์

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ ภาควิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ที่ให้การสนับสนุนเครื่องมือและอุปกรณ์ในการทำวิจัยครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

กาญจนา ศรีประเสริฐ. 2551. การควบคุมเชื้อโรคในเมล็ดพันธุ์โดยการเคลือบการอินทรีย์. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่.

ประไพพิศ สุวิทย์ชยานนท์. 2552. ผลของสารสกัดจากกานพลู ขมิ้น ชา และพริก ในการควบคุมโรคของพืชตระกูลกะหล่ำ. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่.

รวีวรรณ เดื่อมขันมณี. 2551. การทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยและสารสกัดจากข่าต่อเชื้อราสาเหตุโรคพืชบางชนิด. วารสารวิทยาศาสตร์กษตร 37 (6) (พิเศษ):667-670.

รัตนา อินทรานุกรณ์. 2547. การตรวจสอบและการสกัดแยกสารสำคัญจากสมุนไพร. สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพมหานคร.

Agrios, G.N. 2005. Plant Pathology. 5th Edition. Academic Press. New York. USA.

Suleiman, M.N. and S..A. Emua, 2009. Efficacy of four plant extracts in the control of root rot disease of cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp). African Journal of Biotechnology 8 : 3806-3808.

Mayachiew, P., and S. Devahastin. 2008. Antimicrobial and antioxidant activities of Indian gooseberry and galangal extracts. LW. Food Science and Technology 41 : 1153-1159.

The International Institute of Tropical Agriculture. 2010. Cowpea, *Vigna unguiculata* (L.) Walp. http://old.iita.org/cms/details/cowpea_project_details.asp. Accessed 20 Dec 2010.

Table 1 Mean percentage of fungal growth inhibition on *P.aphanidermatum* at five concentrations and 3 different solvent 3 days after inoculation respectively

Treatment	Fungal growth inhibition (%)		
	ethanol	acetone	hexane
Crude plant extract			
Allium sativum (Linn.)	57.95 ^{d}	65.00 ^{b}	68.54 ^{b}
Alpinia galanga (Linn.)	98.88 ^{a}	100.00 ^{a}	24.89 ^{e}
Curcuma longa (Linn.)	82.53 ^{c}	100.00 ^{a}	27.19 ^{d}
Cymbopogon nardus (Linn.)	89.21 ^{b}	45.24 ^{cd}	87.98 ^{a}
Azadirachta indica var. *Siamensis* Valeton	52.08 ^{e}	38.10 ^{e}	38.04 ^{c}
Polygonum odoratum Lour.	52.02 ^{e}	46.27 ^{c}	14.44 ^{f}
Limnophila aromatica (Lomk.) Merr.	55.34 ^{de}	42.86 ^{d}	86.91 ^{a}
F-test	*	*	*
Concentrations (ppm)			
10,000	39.47 ^{e}	37.08 ^{e}	24.76 ^{e}
20,000	55.26 ^{d}	49.14 ^{d}	41.73 ^{d}
30,000	64.21 ^{c}	58.12 ^{c}	57.63 ^{c}
40,000	91.57 ^{b}	77.19 ^{b}	60.63 ^{b}
50,000	98.07 ^{a}	90.96 ^{a}	63.80 ^{a}
F-test	*	*	*
Crude plant extract X Concentrations	*	*	*
CV.(%)	9.19	7.29	7.29

ns = not significant, * Significant at P<0.05

Means v in the same column with different letters were significantly different at P≤0.05 by DMRT

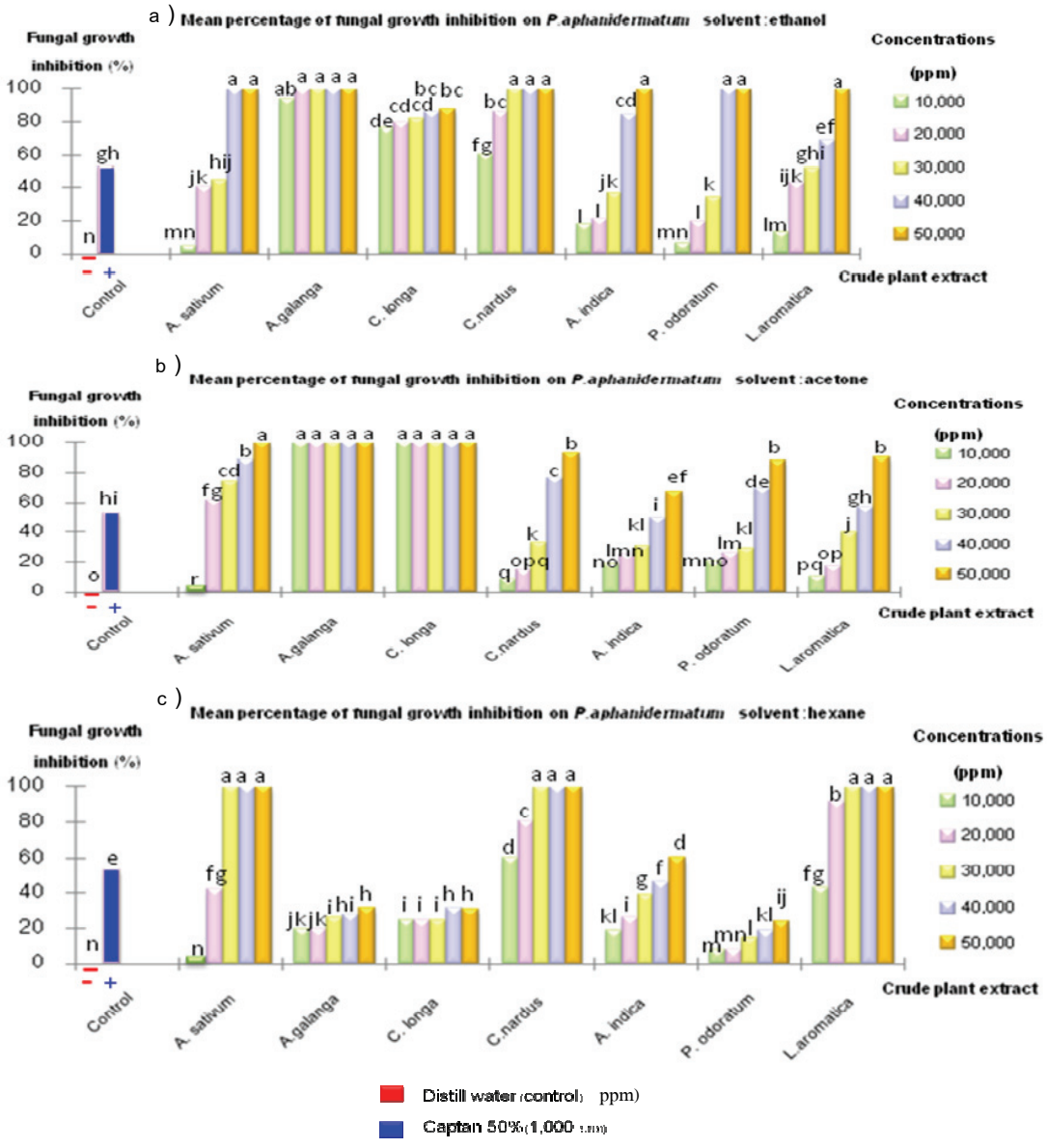

Figure 1 Mean percentage of fungal growth inhibition on *P. aphanidermatum* at five concentrations and 3 different solvent a) ethanol b) acetone c) hexane compared with distill water and captan 1,000 ppm)