ผลของสารสกัดหยาบจากหนอนตายหยากต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อราโรคพืชบางชนิด

Effect of *Stemona curtisii* Hook. f. crude extract on growth inhibition of some pathogenic fungi

นาตยา มนตรี[1*], ชนนิกานต์ ขวัญช่วย[1] และ พรประพา คงตระกูล[1]

Nattaya Montri[1*], Chonnikarn Khunchuay[1] and Pornprapa Kongtrakul[1]

บทคัดย่อ: ผลของสารสกัดหยาบจากหนอนตายหยาก (*Stemona curtisii* Hook. f.) ต่อการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราโรคพืช 3 ชนิด คือ *Pythium deliense*, *Phytophthora parasitica,* และ *Fusarium oxysporum* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Agar (PDA) ที่ระดับความเข้มข้น 0 100 200 400 และ 800 มก./ล. พบว่า อาหารที่ผสมสารสกัดจากหนอนตายหยากทุกระดับความเข้มข้นสามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราทั้ง 3 ชนิด โดยที่ระดับความเข้มข้น 400 มก./ล. ขึ้นไปสามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใย *Phy. parasitica* ได้ 100 % ที่ระยะเวลา 4 วัน ระดับความเข้มข้น 800 มก./ล. สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใย *P. deliense* และ *F. oxysporum* ได้ 100 % ที่ระยะเวลา 1 และ 5 วัน ตามลำดับ

คำสำคัญ: หนอนตายหยาก, สารสกัดหยาบ, เชื้อราโรคพืช

ABSTRACT: The effect of *Stemona curtisii* Hook. f. crude extract on growth inhibition of *Pythium deliense, Phytophthora parasitica* and *Fusarium oxysporum* were examined. The various concentrations at 0 (control), 100, 200, 400 and 800 mg/l crude extract were added to Potato Dextrose Agar (PDA) medium. The results found all concentrations of *S. curtisii* crude extract could inhibit growth of those pathogenic fungi. The percentage inhibition of diameter growth (PI) was increased gradually with higher concentration of crude extract. The 100% PI were found in 400 mg/l treatment and higher concentrations for *Phy. Parasitica* at 4 day and at 800 mg/l treatment for *P. deliense* and *F. oxysporum* at 1 and 5 day, respectively.

Keywords: *Stemona curtisii*, crude extract, pathogenic fungi

บทนำ

จากความต้องการอาหารที่เพิ่มขึ้นตามจำนวนประชากรโลก ทำให้เกษตรกรนำเทคโนโลยีต่างๆ มาใช้เพื่อเพิ่มผลผลิตทางการเกษตร ไม่ว่าจะเป็นสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช สารปราบวัชพืช ฮอร์โมนพืช และสารเคมีซึ่งนอกจากจะเป็นการเพิ่มต้นทุนในการผลิตแล้วยังส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม และมีอันตรายแก่เกษตรกรรวมถึงผู้บริโภค ปัจจุบันทุกประเทศทั่วโลกรวมทั้งประเทศไทยจึงได้มีการตื่นตัวและทำการศึกษาวิจัย

[1] หลักสูตรพืชสวน สาขาเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง วิทยาเขตชุมพรเขตรอุดมศักดิ์

Program in Horticulture, Division of Agricultural Technology, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Prince of Chumphon Campus

* Corresponding author: kmnattay@kmitl.ac.th

การนำสารสกัดจากพืชมาใช้ทดแทนสารเคมี หนอนตายหยากเป็นพืชสมุนไพรในสกุล *Stemona* วงศ์ Stemonaceae (ภาควิชาพฤกษศาสตร์, 2535) พบ 11 ชนิดในประเทศไทย (Inthachub et al., 2009) มีการนำมาใช้ประโยชน์อย่างกว้างขวาง ทั้งทางด้านการแพทย์ (กองวิจัยทางการแพทย์, 2527) และทางการเกษตร มีรายงานการนำพืชสกุล *Stemona* มาใช้ในการป้องกันกำจัดศัตรูพืช (วุฒิ, 2546; Brem et al., 2002) โดยการใช้สารสกัดจากหนอนตายหยากมีความสับสนในการนำไปใช้ เนื่องจากทุกชนิดในสกุลนี้มีชื่อเรียกเหมือนกันคือหนอนตายหยาก หรือ Stemona สำหรับ *Stemona curtisii* Hook.f. เป็นหนอนตายหยากที่พบมากในภาคใต้และภาคตะวันตกเฉียงใต้ของไทย (Inthachub et al., 2009) ในจังหวัดชุมพร พบหนอนตายหยากชนิดนี้อยู่ทั่วไปและพบมากบริเวณป่าชายหาดติดกับทะเลฝั่งอ่าวไทย สามารถเจริญได้ดีในดินทราย มีรายงานการนำสารสกัดจาก *S.curtisii* มาใช้ในการควบคุมศัตรูพืช ทั้งแมลงและเชื้อศัตรูพืช โดย สามารถควบคุมแมลงศัตรูพืช *Phyllotreta chontanica*, *Plutella xylostella*, *Lipaphis erysimi*, *Trichoplusia niand* (Sastraruji, 2006) และ *Spodoptera littoralis* (Kaltenegger *et.al*., 2003; Sastraruji, 2006) โดยไม่เป็นพิษต่อมนุษย์ (Chiranthanut et al., 2011) นอกจากแมลงศัตรูพืชแล้ว ปัทมา (2551) ยังได้รายงานการนำสารสกัดจาก *S. curtisii* มาใช้ยับยั้งเชื้อรา *Collectotrichhum musae* บนอาหาร Potato Dextrose Agar (PDA) พบว่า ที่ความเข้มข้น 800 มก./ล. สามารถควบคุมการเจริญของเชื้อได้ 100 % และ นาตยาและคณะ (2553) ได้รายงานการนำสารสกัด ไปใช้ในการควบคุม *C. musae* ซึ่งเป็นเชื้อสาเหตุของโรคแอนแทรคโนส โรคหลังการเก็บเกี่ยวของกล้วยหอมทอง พบว่า การจุ่มสารสกัดจาก *S. curtisii* ที่ความเข้มข้น 600-1,000 มก./ล. มีการเกิดโรคน้อยกว่าการไม่จุ่มสาร และที่ความเข้มข้น 1,000 มก./ล. มีเปอร์เซ็นต์การเกิดเพียง 22.25 % และกล้วยหอมทองมีอายุการเก็บรักษานาน 8 วัน ในการศึกษาครั้งนี้เป็นการนำสารสกัดหยาบจาก *S. curtisii* มาทดสอบกับเชื้อราก่อโรคในพืช 3 ชนิด คือ *Pythium deliense*, *Phytophthora parasitica* และ *Fusarium oxysporum* ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญในพืช ทั้งในไม้ผล ไม้ดอกไม้ประดับ และพืชเศรษฐกิจ เช่น เชื้อ *P. deliense* ที่ก่อโรคเน่าในผัก และลูกลามก่อผลในวงกว้าง เชื้อ *P. parasitica* ที่เป็นสาเหตุของโรคเน่าในไม้ผลโดยเฉพาะในทุเรียน และเชื้อ *F. oxysporum* ที่เป็นสาเหตุหลักของโรคเหี่ยวในไม้ดอกไม้ประดับ (ปรีชา และนงลักษณ์, 2547) เพื่อเป็นทางเลือกของเกษตรกรในการนำเอาสารสกัดจากหนอนตายหยาก มาใช้ควบคุมศัตรูพืชแทนการใช้สารเคมีสังเคราะห์ ให้ได้ผลผลิตทางการเกษตรที่มีความปลอดภัยจากสารเคมีตกค้าง ได้คุณภาพมาตรฐานเป็นที่ยอมรับของตลาดทั้งในและต่างประเทศต่อไป

วิธีการศึกษา

การเตรียมสารสกัดหนอนตายหยาก

นำรากสดบดให้ละเอียด แช่ในเมทธานอลเก็บไว้ในที่มืดประมาณ 1 วัน กรองเอากากออกจะได้สารลักษณะสีเหลืองขุ่น เอาสารที่ได้สกัดโดยใช้เครื่อง Rotary Evaporator นำสารที่ผ่านการสกัดแล้วผสมกับคลอโรฟอร์มและน้ำในอัตราส่วน 1:1 ใส่กรวยแยกสารจะแบ่งตัวเป็น 2 ส่วน นำส่วนที่ผสมกับคลอโรฟอร์มทำการสกัดต่อด้วยเครื่อง rotary evaporator จนกระทั่งได้สารลักษณะเป็นเกล็ดผงสีน้ำตาล นำไปเตรียมเป็นสารละลายเข้มข้น 10,000 มก./ล.

การเตรียมเชื้อจุลินทรีย์

นำเชื้อรา 3 ชนิดได้แก่ *Pythium deliense* (DOAC 1506), *Phytophthora parasitica* (DOAC 1026), และ *Fusarium oxysporum* (DOAC 1539) จากสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร มาเลี้ยงในอาหาร Potato Dextrose Agar (PDA) เตรียมทดสอบกับสารสกัดจากหนอนตายหยาก

การทดสอบความสามารถของสารสกัดต่อเชื้อรา

วางแผนการทดลองแบบ Completely randomized design (CRD) ประกอบด้วย 5 สิ่งทดลอง ได้แก่ ความเข้มข้นของสารสกัดหนอนตายหยากที่ 0 100 200 400 และ 800 มก./ล. จำนวน 20 ซ้ำ/สิ่งทดลอง ทำการทดลอง 2 ครั้ง โดยนำสารสกัดหยาบที่มีความเข้มข้น 10,000 มก./ล. มาปรับความเข้มข้นเป็น 5 ระดับได้แก่ 0 100 200 400 และ 800 มก./ล. ผสมสารสกัดที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ลงในอาหาร PDA แล้วเทอาหารใส่จานเลี้ยงเชื้อขนาด 10 มม. วางเชื้อที่เตรียมไว้บนอาหารดังกล่าว บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง (29 $\pm$1) บันทึกผลการทดลองโดยการวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (ซม.) แล้วนำมาคำนวณหาค่าเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญเติบโต (Percentage Inhibition of Diameter Growth = PIDG หรือ PI) (เกษม, 2532) ดังนี้

PI = (A-B)/Ax100

โดย A = เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อราใน Control

B = เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อราในจานอาหารเลี้ยงเชื้อร่วม

ผลการศึกษาและวิจารณ์ผล

สารสกัดหยาบจากหนอนตายหยาก (*S. curtisii*) สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราโรคพืชได้สอดคล้องกับการทดลองของ Thobunluepop (2008) ที่ได้ทำการทดลองใช้สารสกัดจาก *S curtisii* ในการยับยั้งเชื้อรา *Collectotricum sp.* และ *Rhizoctonia solani* ปัทมา (2551) และนาตยา และคณะ (2553) ที่พบว่าสามารถยับยั้งเชื้อ *C. Musae* ได้ เนื่องจากในหนอนตายหยากมีสาร alkaloids หลายชนิดเรียก stemona alkaloids (Kaltenegger *et.al*., 2003) ที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ ได้แก่ stemofoline (Kaltenegger et.al., 2003) สามารถยับยั้งเชื้อ *Cryptococcus neoformans* ได้ (จตุรงค์, 2553) stemocurtisinol (Schinnerl et al., 2007) และ stemocurtisine (Mungkornasawakul et al., 2003; Mungkornasawakul et al., 2004; Schinnerl et al., 2007) และจากการศึกษาผลของสารสกัดจาก *S.curtisii* ต่อการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Pythium deliense* (DOAC 1506), *Phytophthora parasitica* (DOAC 1026), และ *Fusarium oxysporum* (DOAC 1539) ในครั้งนี้ โดยใช้สารสกัดที่ระดับความเข้มข้น 100 200 400 และ 800 มก./ล. เปรียบเทียบกับการเจริญของเส้นใยเชื้อราบนอาหาร PDA ที่ไม่มีการเติมสารสกัด พบว่า การเติมสารสกัดมีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราเพิ่มขึ้นตามระดับความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้นในเชื้อราทั้ง 3 ชนิด โดยที่ระดับความเข้มข้น 800 มก./ล. สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *P. deliense* (Table 1) และ *F. oxysporum* (Table 2) ได้ 100 % มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเท่ากับ 0 ซม. ภายหลังการเลี้ยงเชื้อเป็นระยะเวลา 1 และ 5 วัน ตามลำดับ (Table 1-2) ระดับความเข้มข้น 400 มก./ล. สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Phy. parasitica* (Table 3) ได้ 100 % ภายหลังการเลี้ยงเชื้อเป็นระยะเวลา 4 วัน ทำให้มีความเป็นไปได้ในการนำสารสกัดไปประยุกต์ใช้ในการควบคุมโรคที่เกิดจากเชื้อสาเหตุโรคพืช *P. deliense F. oxysporum* และ *Phy. parasitica* ในระดับแปลง รวมทั้งนำสารสกัดดังกล่าวมาแยกสารบริสุทธิ์เพื่อตรวจสอบชนิดของสาร Stemona alkaloids ที่มีฤทธิยับยั้งเชื้อทั้งสามชนิดต่อไป

Table 1 Effects of various concentrations of *Stemona curtisii* Hook. f. crude extract on colony diameter and percent inhibition of diameter growth (PI) of *P. deliense*.

Concentrations (ppm)	Colony diameter [1] (cm)	PI [1,2] (%)
control	5.63±0.27a	0.00±0.00e
100	3.11±0.17b	44.61±4.39d
200	1.91±0.14c	65.93±3.82c
400	0.74±0.07d	86.83±1.40b
800	0.00±0.00e	100.00±0.00a

[1] Within the same column mean values followed by the same letter are not significantly different, ns = non significant, at the 0.1% level (Duncan's Multiple Range test, DMRT)

[2] PI = (A-B)/Ax100

Table 2 Effects of various concentrations of *Stemona curtisii* Hook. f. crude extract on colony diameter and percent inhibition of diameter growth (PI) of *Phy. parasitica*.

Concentrations (ppm)	Colony diameter [1] (cm)	PI [1,2] (%)
control	5.88±0.19a	0.00±0.00d
100	4.12±0.29b	29.77±6.80c
200	0.65±0.05c	88.92±1.09 b
400	0.00±0.00d	100.00±0.00a
800	0.00±0.00d	100.00±0.00a

[1] Within the same column mean values followed by the same letter are not significantly different, ns = non significant, at the 0.1% level (DMRT)

[2] PI = (A-B)/Ax100

Table 3 Effects of various concentrations of *Stemona curtisii* Hook. f. crude extract on colony diameter and percent inhibition of diameter growth (PI) of *F. oxysporum*.

Concentrations (ppm)	Colony diameter [1] (cm)	PI [1,2] (%)
control	5.51±0.10a	0.00±0.00e
100	5.16±0.16b	6.28±3.41d
200	3.96±0.08 c	28.10±2.23c
400	2.80±0.12 d	49.15±2.56b
800	0.00±0.00e	100.00±0.00a

[1] Within the same column mean values followed by the same letter are not significantly different, ns = non significant, at the 0.1% level (DMRT)

[2] PI = (A-B)/Ax100

สรุปผล

สารสกัดหยาบจากหนอนตายหยาก มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราโรคพืช *Pythium deliense*, *Phytophthora parasitica,* และ *Fusarium oxysporum* ได้ 100 % ในความเข้มข้นที่แตกต่างกัน คือ ที่ระดับความเข้มข้นที่ 800 มก./ล. สำหรับเชื้อรา *P. deliense* และ *F. oxysporum* และที่ระดับความเข้มข้น 400 มก./ล. สำหรับเชื้อรา *Phy. parasitica*

คำขอบคุณ

โครงการวิจัยนี้อยู่ภายใต้โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ ของ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี ผู้วิจัยขอขอบคุณ รศ.ดร.ศักดา ไตรศักดิ์ รศ.ดร.วิรัตน์ ภูวิวัฒน์ และ รศ.ดร.จำรูญ เล้าสินวัฒนา ที่ได้ให้ความอนุเคราะห์เครื่องมือในการดำเนินงานวิจัย และสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร สำหรับตัวอย่างเชื้อราบริสุทธิ์

เอกสารอ้างอิง

กองวิจัยทางการแพทย์. 2527. สมุนไพรพื้นบ้าน ตอนที่ 1. กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, กรุงเทพฯ.

เกษม สร้อยทอง. 2532. การใช้ *Chaetomium cupreum* ในการควบคุมโรคไหม้ของข้าวโดยชีววิธี. วารสารโรคพืช. 9(1):28-33.

ขจรศักดิ์ ตระกูลพัว. 2538. ผลของสารสกัดจากพืชสมุนไพร 8 ชนิดต่อการเจริญเติบโตของเชื้อราสาเหตุโรคพืชและโรคผิวหนังที่กำหนด. วิทยานิพนธ์มหาบัณฑิต สาขาชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

จตุรงค์ เหลาแหลม. 2553. สมบัติต้านจุลินทรีย์ของผลสกัดจากรากหนอนตายหยากชนิดต่าง ๆ. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่.

นาตยา มนตรี, กนกพร บุญญะอติชาติ, และพงศ์พล ลือจันทึก. 2553. ผลของการใช้สารสกัดจากหนอนตายหยากต่อการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของกล้วยหอมทอง. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร. 41:1(พิเศษ): 333-336.

ปัทมา จันทร์กระจ่าง. 2551. ผลของสารสกัดจากพืชสมุนไพรบางชนิดต่อการเจริญของเชื้อรา *Collectotrichum musae*. ปัญหาพิเศษปริญญาตรี สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง วิทยาเขตชุมพร. ชุมพร.

ปรีชา สุวรรณพินิจ, และนงลักษณ์ สุวรรณพินิจ. 2547. จุลชีววิทยาทั่วไป. สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. พิมพ์ครั้งที่ 4. กรุงเทพฯ.

ภาควิชาพฤกษศาสตร์. 2535. พรรณพฤกษชาติประเทศไทย. ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. บริษัทอมรินทร์พริ้นติ้งกรุ๊ฟ จำกัด. กรุงเทพ ฯ.

วุฒิ วุฒิธรรมเวช. 2546 . ย่อเภสัชกรรมไทยและสรรพคุณสมุนไพร . บริษัทศิลป์สยามบรรจุภัณฑ์ และ การพิมพ์ จำกัด พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ.

Brem, B., C. Seger, T. Pacher, O. Hofer, S. Vajrodaya, and H. Greger. 2002. Feeding Deterrence and Contact Toxicity of Stemona Alkaloids-A Source of Potent-natural Insecticides. J. Agric. Food Chem. 50:6383-6388.

Chiranthanut, N.., P. Khonsung, A. Jatisatienr, S. Dheeranupatana, and A. Panthong. 2011. Acute dermal toxicity and repeated dose 90-day oral toxicity studies of the bioinsecticide from Stemona curtisii Hook F. J. Nat. Sci. 10: 5–26.

Inthachub, P., S. Vajrodaya, and B.E.E. Duyfjes. 2009. Review of the genus *Stichoneuron* (Stemonaceae). Edinburgh Journal of Botany. 66:213-228.

Kaltenegger E., B. Brem, K Mereiter., H., Kahlig H. Kalchhauser, O. Hofer, S. Vajrodaya and H. Greger. 2003. Insecticidal pyrido (1,2-a)azepine alkaloids and related derivatives from *Stemona* species. Phytochem. 63:803-816.

Mongkornasawakul P., S. G. Pyne, A. Jatisatienr, D. Supyen, W. Lie, A. T. Ung, B. W. Skelton, and A. H. White. 2003. Stemocurtisine, the First Pyrido [1, 2-a] azapine Stemona Alkaloid. J. Nat. Prod. 66: 980-982.

Mungkornasawakul, P.; S.G. Pyne, A. Jatisatienr, D. Supyen; C. Jatisatienr, W. Lie, A.T. Ung; B. W. Skelton, A. H. White. 2004. J. Nat. Prod. 67: 675–677.

Sastraruji, T. 2006. Bioinsecticide production from *Stemona* extract and its application in agricultural use. Ph.D. Thesis. Chiang Mai University, Chiang Mai.

Schinnerl, J., B. Brem, P.P-H. But, S. Vajrodaya, O. Hofer, and H.Greger. 2007. Phytochem. 68:1417–1427.

Thobunluepop, P. 2008. Characterization of a Botanical Fungicide from Thai Origin and Its Efficiency in Rice Production. Cuvillier Verlag, Gottingen.