ประสิทธิภาพของสารสกัดพืชในการต่อต้าน *Alternaria* sp. และ *Colletotrichum* spp. ที่คัดแยกจากใบยางพาราที่เกิดโรคใบจุด

Efficiency of plant extracts against *Alternaria* sp. and *Colletotrichum* spp. isolated from leaf spot disease of para rubber tree

พัชรวรรณ สิทธิศาสตร์[1] และ สิริพร ยศแสน[1]
Patcharawan Sittisart[1] and Siriporn Yossan[1]

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของการศึกษาครั้งนี้เพื่อค้นหาประสิทธิภาพต้านเชื้อราของสารสกัดน้ำจากพริก หอมแดง (พันธุ์ศรีสะเกษ) และกระเทียม (พันธุ์ศรีสะเกษ) ต่อ *Alternaria* sp. จำนวน 1 ไอโซเลท (*Alternaria* sp. SSK2.1) และ *Colletotrichum* spp. จำนวน 3 ไอโซเลท (*Colletotrichum* sp. SSK5.3, SSK6.1 และ SSK7.2) ที่ถูกคัดแยกได้จากโรคใบจุดของยางพารา (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.) ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าทุกความเข้มข้น (20%, 40%, 60% และ 80%) ของสารสกัดพริก หอมแดง และกระเทียม มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อราทดสอบทั้งหมด โดยสารสกัดน้ำจากกระเทียมที่ความเข้มข้นสูงสุด มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราต่อทุกไอโซเลทมากถึง 100% ซึ่งมากกว่ากลุ่มสารมาตรฐานเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา (0.25% propineb) และสารสกัดน้ำจากหอมแดงและพริกที่ความเข้มข้นสูงสุด โดยสรุปผลการศึกษาครั้งนี้บ่งชี้ได้ว่าสารสกัดน้ำจากกระเทียมมีคุณสมบัติต้านเชื้อราที่ถูกคัดแยกได้จากใบยางพาราที่เกิดโรคใบจุดได้ดีที่สุด

คำสำคัญ: พริก หอมแดง กระเทียม โรคใบจุด คุณสมบัติต้านเชื้อรา

[1] คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏศรีสะเกษ ต.โพธิ์ อ.เมือง จ.ศรีสะเกษ 33000
[1] Faculty of Liberal Arts and Sciences, Sisaket Rajabhat University 3300

Abstract

The objective of this study was to determine the efficiency of water extracts from chillies, shallots (Sisaket variety) and garlics (Sisaket variety) against one isolate of *Alternaria* sp. (*Alternaria* sp. SSK2.1) and three isolates of *Colletotrichum* spp. (*Colletotrichum* sp. SSK5.3, SSK6.1 and SSK7.2) which were isolated from leaf spot disease of para rubber tree (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.). The results showed that all concentrations (20%, 40%, 60% and 80%) of chilli, shallot and garlic extracts inhibited the growth of all fungi isolates. At the highest concentration of water extract from garlics, the total inhibition of mycelial growth at 100% of all fungal isolates were higher than those of standard fungicide (0.25% propineb) and the highest concentration of shallot and chilli extracts. This study indicated that water extract from garlics possessed strong antifungal property which were isolated from leaf spot disease of para rubber tree.

Keywords: chilli, shallot, garlic, leaf spot disease, antifungal property

บทนำ

เชื้อรา *Alternaria* spp. และ *Colleto-trichum* spp. เป็นสาเหตุการเกิดโรคในพืชเศรษฐกิจหลายชนิด โดยเชื้อรา *Alternaria alternate*, *Colletotrichum gloeosporioides* และ *Colletotrichum* spp. เป็นเชื้อราก่อโรคที่พบได้ในส่วนของใบและกระพี้ไม้ของต้นยางพารา (Gazis and Chaverri, 2010) นอกจากนี้ยังพบการติดเชื้อ *Alternaria* sp. ในส่วนของเมล็ดอีกด้วย (Theodoro and Batista, 2014) *Colletotrichum* spp. จัดเป็นเชื้อราสำคัญที่ก่อให้เกิดโรคในพืช ซึ่งเป็นเชื้อสาเหตุของโรคแอนแทรคโนส โดยเฉพาะ *C. gloeosporioides* ที่ก่อให้เกิดโรคใบจุดนูนในใบยางพารา (สถาบันวิจัยยาง, 2557) รวมถึงอาการตายจากยอดในต้นกล้า ซึ่งเป็นปัญหาอย่างมากในเกษตรกรผู้ผลิตกล้ายางพาราสำหรับจำหน่าย (บัณฑิต และคณะ, 2557) ดังนั้นอาการหรือโรคเหล่านี้จึงเป็นสาเหตุสำคัญที่ก่อให้เกิดความเสียหายต่อต้นยางพารา และส่งผลกระทบต่อผลผลิตทั้งทางด้านปริมาณและคุณภาพ ด้วยเหตุนี้เกษตรกรชาวสวนยางจึงนิยมใช้สารเคมีในปริมาณสูงอย่างต่อเนื่องเพื่อดูแลบำรุงรักษา

ปัจจุบันงานวิจัยเกี่ยวกับการควบคุมโรคพืชด้วยวิธีทางชีวภาพโดยการใช้สารสกัดจากพืชสมุนไพรยังคงได้รับความสนใจอย่างต่อเนื่อง เพราะมีฤทธิ์ค่อนข้างจำเพาะเจาะจงต่อศัตรูพืช และสลายตัวได้เร็ว จึงปลอดภัยต่อสิ่งแวดล้อมมากกว่าการใช้สารเคมี จากการศึกษาของ Bussaman et al. (2012) ได้แสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากพืชสมุนไพรหลายชนิดสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยและการงอกของสปอร์ *C. gloeosporioides* ที่คัดแยกจากมะม่วงที่เกิดโรคแอนแทรคโนสได้ นอกจากนี้ยังพบว่าพืชสมุนไพรที่ใช้ประโยชน์ทางยารักษาโรคของชาวอุรุกวัย(Uruguay) ก็มีฤทธิ์ยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา *Alternaria* spp. ที่เป็นสาเหตุการเกิดโรคในพืชได้ (Dellavalle et al., 2011) พริก หอมแดง และกระเทียม เป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย ที่มีฤทธิ์หลากหลายทางชีวภาพ รวมถึงฤทธิ์ต้านเชื้อราอีกด้วย โดย Ogbebor et al. (2007) พบว่าสารสกัดจากกระเทียมสามารถยับยั้งเชื้อรา *C. gloeosporioides* ที่คัดแยกจากใบยางพารา กรรณิกา(2547) พบว่าสารสกัดจากกระเทียมและหอมแดงมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อรา *C. gloeosporioides* และ *Fusarium* sp. นอกจากนี้ Soumya และ Nair (2012) ยังพบว่าสารสกัดจากพริกมีผลปกป้องการติดเชื้อราในเมล็ดถั่วลิสง ด้วยเหตุนี้สารสกัดจากพริก หอมแดงพันธุ์ศรีสะเกษ และกระเทียมแก้วศรีสะเกษ ก็น่าจะมีประสิทธิภาพต้านเชื้อรา *Alternaria* sp. และ *Colletotrichum* sp. ที่คัดแยกจากใบยางพาราที่เกิดโรคใบจุด

วิธีการวิจัย

1. การคัดแยกเชื้อรา

เก็บใบยางพารา พันธุ์ RRIM 600 ที่มีลักษณะเกิดโรคจากสวนยางพาราที่มีอายุ 2 - 7 ปี ในเขต อ. กันทรลักษ์ จังหวัดศรีสะเกษ ตัดชิ้นส่วนบริเวณที่เป็นโรคขนาดประมาณ 1 x 1 เซนติเมตร แล้วนำไปทำให้ปลอดเชื้อโดยจุ่มลงไปในสารละลาย 0.1% โซเดียมไฮโปคลอไรด์ นาน 1 นาที และล้างผ่านน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 5 ครั้ง ซับให้แห้งด้วยกระดาษกรองฆ่าเชื้อ นำชิ้นส่วนพืชไปวางลงบนอาหาร potato dextrose agar (PDA) ที่เติมยาปฏิชีวนะ (chloramphenicol) 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ในจานแก้วเลี้ยงเชื้อ และบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 28 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 - 5 วัน จนเส้นใยเจริญออกมา ทำการแยกเชื้อให้บริสุทธิ์อีกครั้งโดยใช้วิธีการ hyphal tip isolation technique ด้วยการใช้เข็มเขี่ยที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว เขี่ยปลายเส้นใยของเชื้อแล้ววางเลี้ยงในอาหาร PDA และบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 28 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน แล้วทำการขยายจำนวนเชื้อบริสุทธิ์ให้มากเพื่อใช้ในการศึกษาต่อไป การจำแนกเชื้อราทำได้โดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยา เริ่มต้นด้วยการตรวจสอบความบริสุทธิ์ของเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิดสเตอริโอที่กำลังขยาย 4.5x จากนั้นเขี่ยเส้นใยบนตัวอย่างมาวางบนอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร PDA และบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน และตรวจสอบลักษณะของโคนิเดียโดยเขี่ยเส้นใยบริสุทธิ์มาศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิดคอมพาวน์ที่กำลังขยาย 40x

2. ตัวอย่างพืชและการเตรียมสารสกัดจากพืช

เก็บตัวอย่างพริก (*Capsicum frutescens* L.) พันธุ์พริกขาว หอมแดง (*Allium ascalonicum* Hort.) พันธุ์ศรีสะเกษ และกระเทียม (*Allium sativum* L.) พันธุ์ศรีสะเกษ (นิยมเรียกว่า กระเทียมแก้ว) จากแปลงผักสวนครัวของเกษตรกรใน อ.กันทรารมย์ จ.ศรีสะเกษ ที่ปลูกแบบเกษตรอินทรีย์ เพื่อเป็นการป้องกันการปนเปื้อนของสารเคมีที่ใช้ควบคุมศัตรูพืช จากนั้นทำความสะอาดตัวอย่างพืชทั้งหัวของหอมแดง และกระเทียมที่ปลอกเปลือกแล้ว และผลของพริก โดยเปิดให้น้ำประปาไหลผ่าน ซับน้ำส่วนเกินออกด้วยกระดาษทิชชู ผึ่งไว้ให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำตัวอย่างพืชชนิดละ 100 กรัม มาบดให้ละเอียดในน้ำกลั่นปลอดเชื้อ 100 มิลลิลิตร (100 กรัม/100 มิลลิลิตรl, W/V) ด้วยเครื่องปั่น แล้วกรองเอาเฉพาะส่วนใส (ความเข้มข้นของสารสกัดเท่ากับ 100%) ผ่านผ้าก๊อซที่พับซ้อนหนาประมาณ 3 - 4 ชั้น และนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 3,500x*g* ภายใต้อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที ด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงแบบตั้งโต๊ะ เก็บสารสกัดหยาบไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และทำให้ปลอดเชื้อด้วยการกรองใน Vacuum filtration ขนาด 0.22 ไมครอน แล้วนำสารสกัดพืชแต่ละชนิดมาทำการเจือจางด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร PDA ให้มีความเข้มข้นสุดท้ายเท่ากับ 20%, 40%, 60% และ 80% (กลุ่มทดสอบที่เติมสารสกัดจากพืช) พร้อมเตรียมจานอาหารเลี้ยงเชื้อกลุ่มสารมารตรฐาน ด้วยการเติมสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา 0.25% propineb (0.175% polymeric zince propylenebis (dithiocarbamate)) และเตรียมจานอาหารเลี้ยงเชื้อกลุ่มควบคุมที่ปราศจากสารสกัดและสารมาตรฐาน โดยกำหนดให้จานอาหารเลี้ยงเชื้อทุกจาน ทั้งจานควบคุม จานที่ผสมสารสกัด และจานที่ผสมสารมาตรฐาน มีปริมาณองค์ประกอบของสารอาหาร PDA ในสัดส่วนเท่ากัน

3. การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อรา

ทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อราด้วยวิธี Poisoned food technique โดยนำชิ้นวุ้นที่ได้จากการใช้ cork borer ที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.6 เซนติเมตร เจาะเส้นใยรอบโคโลนีเชื้อราที่มีอายุ 7 วัน วางลงบนจุดกึ่งกลางของจานอาหารเลี้ยงเชื้อกลุ่มทดสอบที่ผสมสารสกัด กลุ่มของสารมาตรฐานที่มีสาร propineb หรือกลุ่มควบคุมที่มีเฉพาะสารอาหาร PDA โดยทำการทดลองอย่างน้อย 3 ครั้ง ด้วยการทดลองอย่างละ 3 ซ้ำ จากนั้นนำเชื้อไปบ่มที่อุณหภูมิ 28 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน สังเกตการเจริญเติบโต และวัดความยาวเส้นผ่าศูนย์กลาง (มิลลิเมตร) ของโคโลนีเชื้อราเพื่อหาค่าเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อราโดยใช้สูตรดังนี้

$$\% \text{ inhibition} = (C-T)/C \times 100$$

เมื่อ C = ความยาวเส้นผ่าศูนย์กลางของโคโลนีเชื้อราในจานควบคุม (มีเฉพาะ PDA)

T = ความยาวเส้นผ่าศูนย์กลางของโคโลนีเชื้อราในจานผสมสารสกัดหรือสารมาตรฐาน

4. การวิเคราะห์ข้อมูล

การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อราจะแสดงเป็นค่าเฉลี่ยของเปอร์เซ็นต์บวกลบค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดสอบ 3 ซ้ำ (Mean ± SD, n = 3) และเป็นตัวแทนจากการทดลอง 3 ครั้ง ด้วยสถิติ one way ANOVA และเปรียนเทียบความ

แตกต่างระหว่างกลุ่มการทดลอง (p = 0.05) โดยการวิเคราะห์ด้วย *post hoc* Tukey's ด้วยซอฟต์แวร์ GraphPad Prisim 5.1 (สหรัฐอเมริกา)

ผลการวิจัยและวิจารณ์

1. ผลการคัดแยกเชื้อรา

การคัดแยกเชื้อราจากตัวอย่างของใบยางพาราที่เกิดโรคใบจุด ในสวนยางพาราเขต จ.ศรีสะเกษ โดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยาในการจัดจำแนก พบเชื้อราสกุล *Alternaria* จำนวน 1 ไอโซเลท และ *Colletotrichum* จำนวน 3 ไอโซเลท โดยให้ชื่อแต่ละไอโซเลทตามแหล่งที่ค้นพบและลำดับในการเก็บตัวอย่างคือ *Alternaria* sp. SSK2.1, *Colletotrichum* sp. SSK5.3, *Colletotrichum* sp. SSK6.1 และ *Colletotrichum* sp. SSK7.2 โดยเชื้อรา *Alternaria* sp. สามารถพบได้ทั้งในส่วนของใบ กระพี้ไม้ รวมถึงเมล็ดยางพาราในเขตทวีปอเมริกาใต้ (Gazis and Chaverri, 2010; Theodoro and Batista, 2014) นอกจากนี้ Cai และคณะ (2014) ยังพบว่า *Alternaria heveae* เป็นสาเหตุการก่อให้เกิดโรคใบจุดสีดำในใบยางพาราเป็นครั้งแรกในประเทศจีน ซึ่งการศึกษาในครั้งนี้ได้ค้นพบเชื้อรา *Colletotrichum* sp. และ *Alternaria* sp. ซึ่งเป็นเชื้อสาเหตุการเกิดโรคในพืชที่คัดแยกได้จากโรคใบจุดของยางพารา ในแหล่งปลูกยางใหม่ของประเทศไทยคือ อ.กันทรลักษ์ จ.ศรีสะเกษ

2. ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา

ลักษณะโคโลนีของราสกุล *Alternaria* ที่เลี้ยงบนอาหาร PDA (Figure 1A) เป็นราที่มีการเจริญเติบโตเร็ว เส้นใยมีลักษณะบางละเอียด เมื่ออ่อนมีสีขาวครีมและแก่เป็นสีเทา หรือเทาเข้มเกือบดำ โคนิดิโอฟอร์เกิดเดี่ยว ๆ หักงอแบบ geniculate มีสีน้ำตาลทอง ผนังเรียบ และมีผนังกั้น ลักษณะของโคนิเดีย (Figure 1B) มีขนาดใหญ่ อาจเรียงต่อกัน มีผนังกั้นทั้งแบบตามยาวและตามขวาง รูปร่างของโคนิเดียมีลักษณะเป็นกระบองและมีสีเข้ม ผิวขรุขระ โคนิเดียอันแรกเกิดที่ปลายก้านโคนิดิโอฟอร์ และสามารถทำหน้าที่เป็นโคนิดิโอฟอร์โดยที่บริเวณรูปลายของโคนิเดียจะทำให้เกิดโคนิเดียต่อกันเป็นลูกโซ่ยาว ที่ส่วนฐานเซลล์โคนิเดียมีลักษณะกลมแล้วค่อย ๆ เรียวยาวขึ้นด้านบน

ลักษณะโคโลนีของราสกุล *Colletotrichum* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA (Figure 2A, 2D และ 2F) พบว่ามีสีขาวอมเทา ตั้งแต่สีเทาเข้มจนถึงสีน้ำตาลอมเทา โคโลนีของเชื้อรามีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 9 เซนติเมตร เมื่อเลี้ยงเป็นระยะเวลานานประมาณ 7 วัน และมีการสร้างกลุ่มเมือกของสปอร์สีส้มหรือสีส้มแซลมอน มีการสร้างโคนิดิโอฟอร์ดัง Figure 2C ซึ่งให้กำเนิดโคนิเดีย ดัง Figure 2B, 2E และ 2G โคนิเดียมีเซลล์เดียว ใส ไม่มีสี รูปร่างทรงกระบอกตรง ปลายมน อาจพบบ้างที่ปลายด้านหนึ่งเรียว

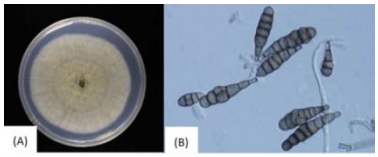

Figure 1 Morphology of *Alternaria* sp. SSK2.1: characteristics of colony which were observed under a stereo microscope at 4.5x magnification (A); characteristics of conidia which were observed under a compound microscope at 40x magnification (B)

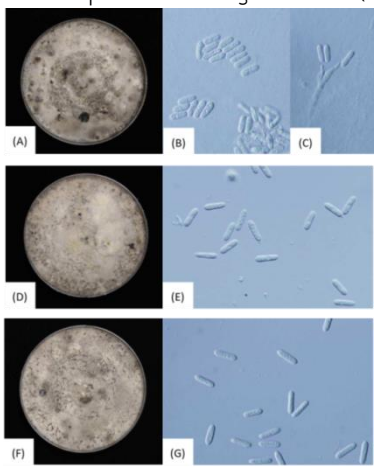

Figure 2 Morphology of *Colletotrichum* spp. Characteristics of colony of *Colletotrichum* sp. SSK5.3 (A); SSK6.1 (D); SSK7.2 (F) observed under a stereo microscope at 4.5x magnification. Characteristics of conidia of *Colletotrichum* sp. SSK5.3 (B); SSK6.1 (E); SSK7.2 (G) and characteristics of conidia and conidiophore of *Colletotrichum* sp. SSK5.3 (C) observed under a compound microscope at 40x magnification.

3. ผลของสารสกัดต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อรา

ผลของสารสกัดน้ำจากพริก หอมแดง และกระเทียม (20%, 40%, 60% และ 80%) ต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อรา *Alternaria* sp. SSK2.1 แสดงค่าเป็นเปอร์เซ็นต์ดังใน Table 1 ซึ่งสามารถสังเกตได้อย่างชัดเจนว่าทุกความเข้มข้นที่เท่ากันของทั้ง 3 สารสกัด สารสกัดจากกระเทียมมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราได้ดีที่สุด อีกทั้งที่ความเข้มข้นต่ำสุดยังสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อราได้ถึง 69.45% ซึ่งยับยั้งได้มากกว่าที่ความเข้มข้นสูงสุดของสารสกัดจากพริก 2.6 เท่า และหอมแดง 2 เท่า นอกจากนี้ยังพบว่าที่ความเข้มข้นสูงสุดของสารสกัดกระเทียมสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อราได้อย่างสมบูรณ์ และยับยั้งได้มากกว่าสารมาตรฐาน propineb (0.25%) ถึง 1.4 เท่า อย่างไรก็ตามที่ความเข้มข้นสูงสุดของแต่ละสารสกัดก็มีประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราได้ดีที่สุด และเมื่อพิจารณาที่ความเข้มข้นสูงสุดของแต่ละสารสกัด ยังพบว่าสารสกัดจากกระเทียมมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตได้ดีที่สุด รองลงมาเป็นสารสกัดจากหอมแดงและพริก (Figure 3) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p < 0.05$ ดัง Table1

Table 1 Effect of various concentrations of plant extracts amended with PDA on mycelial growth of *Alternaria* sp. SSK2.1 incubated at 28 ± 2 °C for 7 days.

Concentrations (%)	Percentage inhibition of mycelial growth		
	Chilli extract	Shallot extract	Garlic extract
0	0.00 ± 0.00^{a}	0.00 ± 0.00^{a}	0.00 ± 0.00^{a}
20	6.54 ± 1.86^{b,B}	2.18 ± 1.08^{ac,A}	69.45 ± 1.26^{b,C}
40	6.18 ± 0.65^{b,A}	5.08 ± 1.64^{bc,A}	82.18 ± 0.74^{c,B}
60	7.27 ± 0.65^{b,A}	28.73 ± 0.81^{d,B}	80.73 ± 0.70^{c,C}
80	26.91 ± 0.46^{c,A}	33.82 ± 0.91^{e,B}	100.00 ± 0.00^{d,C}
Propineb (0.25%)	71.64 ± 1.10^{d}	71.64 ± 1.10^{f}	71.64 ± 1.10^{b}

Values are mean ± SD (n = 3) and are representative of three independent experiments with similar results. Different lower case letters within the same column of each isolates are significantly different at $p < 0.05$. Different capital letters within the same row are significantly different at $p < 0.05$.

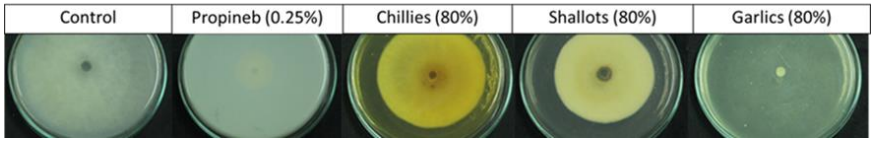

Figure 3 Inhibition of mycelial growth of *Alternaria* sp. SSK2.1 by the standard (0.25% propineb), chilli (80%), shallot (80%) and garlic (80%) extracts after incubation at 28 ± 2°C for 7 days.

เมื่อทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดน้ำจากพืชทั้ง 3 ชนิด ต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อรา *Colletotrichum* sp. SSK5.3, SSK6.1 และ SSK7.2 ผลการศึกษาแสดงเป็นเปอร์เซ็นต์การยับยั้งดังแสดงใน Table 2 โดยพบว่าสารสกัดจากพืชทั้ง 3 ชนิด ทุกความเข้มข้นของแต่ละสารสกัดสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ได้ทั้ง 3 ไอโซเลท และเมื่อพิจารณาที่ความเข้มข้นเดียวกันของแต่ละสารสกัดที่ทดสอบกับเชื้อราทั้ง 3 ไอโซเลท พบว่าสารสกัดกระเทียมสามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราได้ดีที่สุด โดยที่ความเข้มข้นสูงสุดของสารสกัดจากกระเทียมสามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราทั้ง 3 ไอโซเลทได้อย่างสมบูรณ์ และมากกว่าสารมาตรฐาน propineb (0.25%) ดังแสดงใน Figure 4 ผลจากการวิจัยนี้ยังแสดงให้เห็นว่าที่ความเข้มข้นสูงสุดของสารสกัดพริกและหอมแดงสามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Colletotrichum* sp. SSK6.1 และ SSK7.2 ได้ไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ $p < 0.05$ แต่เมื่อ

ให้สารสกัดชนิดเดียวกันที่ความเข้มข้นสูงสุดกับ *Colletotrichum* sp. SSK5.3 กลับพบว่าสารสกัดจากหอมแดงสามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา ได้ดีกว่าสารสกัดจากพริกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p < 0.05$ (Table 2)

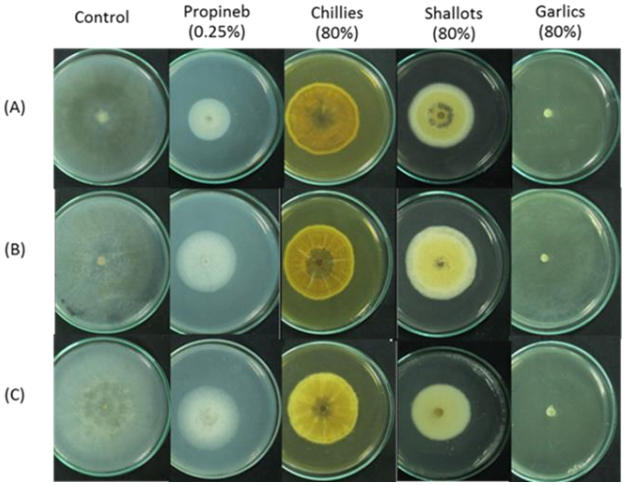

Figure 4 Inhibition of mycelial growth of *Colletotrichum* sp. SSK5.3 (A); SSK6.1 (B); SSK7.2 (C) by the standard (0.25% propineb), chilli (80%), shallot (80%) and garlic (80%) extracts after incubation at 28 ± 2°C for 7 days.

จากการศึกษาข้างต้นของสารสกัดต่อการยับยั้งเชื้อรา *Alternaria* sp. และ *colletotrichum* spp. แสดงให้เห็นได้อย่างชัดเจนว่าสารสกัดจากกระเทียมมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อราดีกว่าสารสกัดจากพริกและหอมแดง ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ กรรณิกา (2547) ที่แสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากกระเทียมมีผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตของสปอร์เชื้อราที่ก่อโรคในพืชได้ดีถึง 100% และยับยั้งได้ดีกว่าสารสกัดจากหอมแดง นอกจากนี้ Mukherjee และคณะ (2011) รายงานว่าสารสกัดจากพืชหลายชนิดสามารถยับยั้งเชื้อราที่เป็นสาเหตุการเกิดโรคแอนแทรคโนสในมะม่วง โดยพบว่าสารสกัดจากกระเทียมมีประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อรา *C. gloeosporioides* ได้ดีที่สุด และยังมีผลการวิจัยบ่งชี้ถึงประสิทธิภาพของสารสกัดจากกระเทียมต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อรา *C. gloeosporioides* ที่เป็นสาเหตุการเกิดโรคในยางพาราได้ถึง 100% (Ogbebor et al., 2007) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาในครั้งนี้ที่พบว่าสารสกัดจากกระเทียมที่ความเข้มข้นสูงสุด (80%) มีประสิทธิภาพในการยับยั้ง *Colletotrichum* ทั้ง 3 ไอโซเลท ได้ถึง 100%

capsaicin เป็นสารสำคัญที่เป็นองค์ประกอบหลักของสารสกัดที่ได้จากพริก อีกทั้งมีฤทธิ์ต้านเชื้อรา (Kraikruan et al., 2008) จึงเป็นไปได้ว่าประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราโดยสารสกัดจากพริกในครั้งนี้อาจเนื่องมาจาก capsaicin ในขณะเดียวกันกระเทียมและหอมแดงมีสารสำคัญชนิดหนึ่งคือ allicin เป็นองค์ประกอบ ที่มีคุณสมบัติเด่นในการยับยั้งแบคทีเรียและเชื้อรา รวมถึงฤทธิ์ต้านเชื้อราที่เป็นสาเหตุการเกิดโรคในพืชอีกด้วย ในหัวของพืชเหล่านี้ปกติจะมีสาร alliin ที่เมื่อถูกทำให้แตก สาร alliin จะถูกเปลี่ยนเป็น allicin โดยเอนไซม์ alliinase (Mikaili et al., 2013; Borlinghaus et al., 2014) การศึกษานี้ได้สกัดกระเทียมและหอมแดงสดด้วยการปั่นในน้ำ จึงเป็นไปได้ว่าฤทธิ์ของสารสกัดจากกระเทียมและหอมแดงที่ยับยั้งเชื้อราอาจเนื่องมาจากการแสดงออกของ allicin และประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราทุกการทดสอบได้ดีที่สุดโดยสารสกัดกระเทียมอาจจะขึ้นอยู่กับปริมาณของ allicin หรือสารประกอบอื่น ๆ ในกระเทียม ทั้งนี้ผลของการยับยั้งเชื้อราโดยสารสกัดทั้ง 3 ชนิด ยังขึ้นอยู่กับชนิดของสายพันธุ์เชื้อราอีกด้วย

Table 2 Effect of various concentrations of plant extracts amended with PDA on mycelial growth of *Colletotrichum* spp. incubated at 28 ± 2°C for 7 days.

Colletotrichum sp. isolates	Concentrations (%)	Percentage inhibition of mycelial growth		
		Chilli extract	Shallot extract	Garlic extract
SSK5.3	0	0.00 ± 0.00^{a}	0.00 ± 0.00^{a}	0.00 ± 0.00^{a}
	20	41.39 ± 0.72^{b,B}	20.07 ±1.59^{b,A}	63.52 ± 0.49^{b,C}
	40	42.20 ± 1.08^{b,B}	37.69 ±1.26^{c,A}	69.67 ± 0.47^{c,C}
	60	42.20 ± 1.08^{b,A}	49.99 ±1.07^{d,B}	77.45 ± 1.07^{d,C}
	80	44.24 ± 1.65^{b,A}	52.04 ±1.26^{d,B}	100.00 ± 0.00^{e,C}
	Propineb (0.25%)	61.87 ± 1.76^{c}	61.87 ± 1.76^{e}	61.87 ± 1.76^{b}
SSK6.1	0	0.00 ± 0.00^{a}	0.00 ± 0.00^{a}	0.00 ± 0.00^{a}
	20	36.06 ± 1.02^{b,B}	13.93 ± 0.47^{b,A}	58.18 ± 1.68^{b,C}
	40	40.97 ± 1.10^{c,B}	27.84 ± 2.61^{c,A}	67.20 ± 2.08^{c,C}
	60	40.97 ± 1.10^{c,A}	45.90 ± 0.30^{d,B}	70.48 ± 0.55^{c,C}
	80	43.03 ± 0.46^{c,A}	45.49 ± 0.43^{d,A}	100.00 ± 0.00^{d,B}
	Propineb (0.25%)	58.18 ± 1.82^{d}	58.18 ± 1.82^{e}	58.18 ± 1.82^{b}
SSK7.2	0	0.00 ± 0.00^{a}	0.00 ± 0.00^{a}	0.00 ± 0.00^{a}
	20	36.90 ± 2.06^{b,B}	13.49 ± 1.82^{b,A}	46.83 ± 5.99^{b,C}
	40	42.86 ± 1.19^{c,B}	19.84 ± 3.00^{b,A}	56.75 ± 2.48^{c,C}
	60	45.63 ± 0.69^{c,B}	31.35 ± 4.18^{c,A}	61.51 ± 3.00^{d,C}
	80	44.84 ± 1.82^{c,A}	51.19 ± 7.81^{d,A}	100.00 ± 0.00^{e,B}
	Propineb (0.25%)	53.57 ± 1.19^{d}	53.57 ± 1.19^{e}	53.57 ± 1.19^{c}

Values are mean ± SD (n = 3) and are representative of three independent experiments with similar results. Different lower case letters within the same column of each isolates are significantly different at $p < 0.05$. Different capital letters within the same row are significantly different at $p < 0.05$.

สรุปผลการวิจัย

การศึกษานี้บ่งชี้ได้ว่าสารสกัดน้ำจากพริกขาวหอมแดงศรีสะเกษ และกระเทียมแก้วศรีสะเกษ มีประสิทธิภาพต้านเชื้อราด้วยการยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อราทุกไอโซเลท ได้แก่ *Alternaria* sp. SSK2.1, *Colletotrichum* sp. SSK5.3, *Colletotrichum* sp. SSK6.1 และ *Colletotrichum* sp. SSK7.2 ที่คัดแยกจากใบยางพาราที่เกิดโรคใบจุด โดยพบว่าสารสกัดจากกระเทียมมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อราทุกไอโซเลทได้ดีที่สุด โดยที่ความเข้มข้นสูงสุดแสดงเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อราทุกไอโซเลทได้อย่างสมบูรณ์ และสามารถยับยั้งได้มากกว่าสารมาตรฐาน propineb (0.25%) ดังนั้นกระเทียมที่เหลือจากการใช้ประโยชน์หรือคัดขนาดสำหรับจำหน่าย จึงมีความเป็นไปได้ในการนำไปพัฒนาหรือประยุกต์ใช้ในการควบคุมศัตรูพืช โดยเฉพาะกับเชื้อราทั้ง 2 สกุล ที่เป็นสาเหตุการเกิดโรคในใบยางพารา โดยอาจนำหัวของกระเทียมไปปั่นในน้ำ กรอง แล้วนำสารสกัดที่ได้ไปฉีดพ่นบริเวณส่วนของใบยางพาราที่เกิดโรคทั้งในระยะต้นกล้าและโตเต็มที่

กิตติกรรมประกาศ

การวิจัยนี้ได้รับทุนวิจัยสนับสนุนจาก มหาวิทยาลัยราชภัฏศรีสะเกษ ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2558 และคณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏศรีสะเกษ ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2559

เอกสารอ้างอิง

กรรณิกา เนืองภา. 2547. ประสิทธิภาพของพืชสมุนไพรบางชนิดที่มีผลการยับยั้งการเจริญเติบโตของ *Colletotrichum gloeosporioides* และ *Fusarium* sp. วิทยานิพนธ์มหาบัณฑิต ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา.

บัณฑิต โสภณ เนตรนภิส เขียวขำ และ สมศิริ แสงโชติ. 2557. การพัฒนาโรคของดอก เมล็ด และต้นกล้ายางพารา พันธุ์ RRIM 600. วิทยาศาสตร์เกษตร. 45(2)(พิเศษ), 381-384.

สถาบันวิจัยยาง. 2557. โรคและศัตรูยางพารา. ค้นเมื่อ 25 ธันวาคม 2558, จาก http://www.rubberthai.com/information/Wichakan50/14.pdf

Borlinghaus, J., F. Albrecht, M.C.H. Gruhlke, I.D. Nwachukwu and A. Slusarenko. 2014. Allicin: chemistry and biological properties. Molecules. 19, 12591-12618.

Bussaman, P., P. Namsena, P. Rattanasena, and A. Chandrapatya. 2012. Effect of Crude Leaf Extracts on *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Sacc. Psyche: A Journal of Entomology. 2012, 1-6.

Cai, Z.Y., Y.X. Liu, G.X. Huang, M. Zhou, G.Z. Jiang, H.J. Mu, H.Q. Li, and G.H. Li. 2014. First report of *Alternaria heveae* causing black leaf spot of rubber tree in China. Plant Disease. 98(7), 1011–1011.

Dellavalle, P.D., A. Cabrera, D. Alem, P. Larrañaga, F. Ferreira, and M. Dalla Rizza. 2011. Antifungal activity of medicinal plant extracts against phytopathogenic fungus *Alternaria* spp. Chilean Journal of Agricultural Research. 71(2), 231-239.

Gazis, R., and P. Chaverri. 2010. Diversity of fungal endophytes in leaves and stems of wild rubber trees (*Hevea brasiliensis*) in Peru. Fungal ecology. 3(3), 240–254.

Kraikruan, W., S. Sangchote, and S. Sukprakarn. 2008. Effect of capsaicin on germination of *Colletotrichum capsici* conidia. Kasetsart Journal-Natural Science. 42(3), 417–422.

Mikaili, P., S. Maadirad, M. Moloudizargari, S. Aghajanshakeri, and S. Sarahroodi. 2013. Therapeutic uses and pharmacological properties of garlic, shallot, and their biologically active compounds. Iranian journal of basic medical sciences. 16(10), 1031-1048..

Mukherjee, A., S. Khandker, M.R. Islam, and S.B. Shahid. 2011. Efficacy of some plant extracts on the mycelial growth of *Colletotrichum gloeosporioides*. Journal of Bangladesh Agricultural University. 9(1), 43–47.

Ogbebor, N.O., A.T. Adekunle, and D.A. Enobakhare. 2007. Inhibition of *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz) Sac. causal organism of rubber (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.) leaf spot using plant extracts. African Journal of Biotechnology. 6(3), 213–218.

Soumya, S.L., and B.R. Nair. 2012. Antifungal efficacy of *Capsicum frutescens* L. extracts against some prevalent fungal strains associated with groundnut storage. Journal of Agricultural Technology. 8(2), 739–750.

Theodoro, G. F., and T.S. Batista. 2014. Detection of fungi in rubber tree (*Hevea brasiliensis*) seeds harvested in northeast of Mato Grosso do Sul, Brazil. Agrarian. 7(24), 365–368.