



สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย
THE THAILAND RESEARCH FUND

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ การคัดเลือกพืชสมุนไพร
เพื่อการควบคุมโรคพืชที่เกิดจากแบคทีเรีย

โดย นางสาว ชลิดา เล็กสมบูรณ์

30 กันยายน พ.ศ.2543

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ การคัดเลือกพืชสมุนไพร
เพื่อการควบคุมโรคพืชที่เกิดจากแบคทีเรีย

นางสาว ชลิดา เล็กสมบูรณ์
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สนับสนุนโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยในโครงการ การคัดเลือกพืชสมุนไพรเพื่อการควบคุมโรคพืชที่เกิดจากแบคทีเรีย ได้รับทุนสนับสนุนจากสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย ระยะเวลา 3 ปี (ส.ค.2540-ก.ค.2543) บัดนี้งานวิจัยได้สำเร็จแล้วตามวัตถุประสงค์ ผู้วิจัยขอขอบคุณบุคคลต่อไปนี้

- 1.รองศาสตราจารย์ ดร.นิพนธ์ ทวีชัยและผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วิชัย โฆสิตรัตน ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ เป็นนักวิจัยที่ปรึกษา
- 2.ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ยิ่งยง ไพสุขสานติวัฒนา ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ให้คำปรึกษาเรื่องพันธุ์พืชสมุนไพร
- 3.รองศาสตราจารย์ ศิริลักษณ์ สุวรรณวงศ์ ภาควิชาคณิตศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ให้คำปรึกษาเรื่องแผนการทดลอง และวิเคราะห์ผลทางสถิติ
- 4.คุณสกุล สมบูรณ์วิทย์ ให้ความอนุเคราะห์พืชสมุนไพรบางชนิดในการทดลอง

บทคัดย่อ

Project Code: PDF/72/2540

Project Title : การคัดเลือกพืชสมุนไพรเพื่อการควบคุมโรคพืชที่เกิดจากแบคทีเรีย

Investigator : ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน

E-mail Address: agrchl@ku.ac.th

Project Period : 1 สิงหาคม 2540 ถึง 30 กันยายน 2543

การทดสอบฤทธิ์ของพืชสมุนไพรไทย 67 ชนิด ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย 13 สายพันธุ์ ซึ่งอยู่ใน 3 สกุล ที่เป็นสาเหตุโรคพืชที่สำคัญในประเทศไทย พบว่า น้ำคั้นสกัดจากพืช 13 ชนิด สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ มะกอกป่า(*Spondias bipinnata*), มะกอกฝรั่ง(*S. cythera*), มะขาม(*Tamarindus indica*), มะขามป้อม(*Phyllanthus emblica*), ทับทิม(*Punica granatum*), กระเจี๊ยบแดง(*Hibiscus subdariffa*), ยูคาลิปต์(*Eucalyptus globulus*), ฝรั่ง(*Psidium guajava*) และบัวผ่น(*Nymphaea stellata*) แสดงผลยับยั้งเชื้อทั้ง 13 สายพันธุ์ พลุ(*Piper betle*) แสดงผลยับยั้งการเจริญของเชื้อ 12 สายพันธุ์ ยกเว้น เชื้อสายพันธุ์เดียวของ *Pseudomonas syringae* pv. *sesami* กระเทียม(*Allium sativum*) และ หูปลาช่อน(*Aster cordifolius*) แสดงผลยับยั้งการเจริญของเชื้อในสกุล *Xanthomonas* และ *Pseudomonas* พะยอม (*Shorea roxburghii*) ยับยั้งการเจริญได้ดีกับเชื้อ *Xanthomonas campestris* เกือบทุกpathovar น้ำคั้นสกัดจากพืชทั้ง 13 ชนิด สามารถลดการเกิดโรคแคงเกอร์เมื่อทำการทดสอบโดยวิธี detached leaf โดยพบว่า *P. granatum*, *T. indica* และ *S. bipinnata* แสดงประสิทธิภาพในการควบคุมโรคได้ดีในการใช้สารก่อน และหลังการปลูกเชื้อเข้าสู่พืช เมื่อนำสารสกัดมาใช้ควบคุมโรคโดยการทดสอบในโรงเรือน พบว่า *T.indica* ให้ผลในการควบคุมโรคแคงเกอร์ดีที่สุด เมื่อใช้สารสกัด 2 ครั้ง ก่อนหรือหลังการปลูกเชื้อ การทดสอบเพื่อนำมะขามมาใช้ควบคุมโรคแคงเกอร์มะนาว โดยการฉีดพ่นสารสกัด 0, 3 และ 5 วันหลังการปลูกเชื้อ พบว่าการเกิดโรค และประชากรเชื้อลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ 0 วัน และเมื่อนำสารสกัดมะขามมาทดสอบใช้ควบคุมโรคในสภาพแปลงโดยการฉีดพ่นสารทุกๆ 7 วัน พบว่าการเกิดโรคลดลง และแตกต่างจากการไม่ใช้สารสกัดฉีดพ่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การศึกษาปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการนำสารสกัดมะขามไปใช้ควบคุมโรคแคงเกอร์ของมะนาว พบว่า สารสกัดมีความคงทนต่ออุณหภูมิสูง(121°C)และอุณหภูมิต่ำ(-20°C) มะขามที่เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4°C หรือที่อุณหภูมิห้อง(28°C) เป็นเวลานาน 12 เดือน สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ ปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ คือพันธุ์พืช ความเข้มข้นและความเป็นกรดของสารสกัดมีความสัมพันธ์ต่อประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ พบว่าสารสกัดก่อให้เกิดการตายของเซลล์พืช และส่งเสริมการเจริญของราซาโปรไฟท์

Keywords: พืชสมุนไพร, สารสกัดพืช, แบคทีเรียสาเหตุโรคพืช, โรคแคงเกอร์

ABSTRACT

Project Code: PDF/72/2540

Project Title : Screening of medicinal plants for control of phytopathogenic bacteria

Investigator : Department of Plant Pathology ,Faculty of Agriculture ,Kasetsart Univ.

E-mail Address: agrchl@ku.ac.th

Project Period : 1 August 1997 - 30 September 2000

Sixty-seven Thai medicinal plants were investigated for antibacterial activity against 13 bacteria representing the three main genera of phytopathogenic bacteria in Thailand. Of 13 aqueous extracts exhibited inhibitory effects against one or more genera of tested bacteria. *Spondias bipinnata*, *S. cythera*, *Tamarindus indica*, *Phyllanthus emblica*, *Punica granatum*, *Hibiscus subdariffa*, *Eucalyptus globulus*, *Psidium guajava* and *Nymphaea stellata* demonstrated broad spectrum of activity. *Piper betle* had a growth inhibition on 12 tested bacteria except one strain of *Pseudomonas syringae* pv. *sesami*. Aqueous extracts of *Allium sativum* and *Aster cordifolius* inhibited growth of tested xanthomonads and pseudomonads whereas the extract of *Shorea roxburghii* performed a good growth inhibition to almost pathovars of *Xanthomonas campestris*. The effect of the thirteen aqueous extracts on the control of canker disease was assessed by using detached leaf method. All aqueous extracts reduced the disease incidence. *P. granatum*, *T. indica* and *S. bipinnata* show the most potent control of the disease either before or after inoculation. In greenhouse, the most effective control of canker was *T. indica* when applied 2 times either before or after inoculation. To test for application of *T. indica* to control of lime canker, the aqueous extract was sprayed at 0, 3 and 5 days after inoculation. Disease incidence and population of canker pathogen from plant treated with the aqueous extract reduced significantly at 0 day after inoculation. Under field condition, there was significant differences in mean disease indices between sprayed or not sprayed lime leaf every seven days. Investigation on the factor for further application, the aqueous extract retained activity after being autoclaved at 121 °C for 15 min or refrigerated at -20 °C. Store at 4 °C and room temperature (28 °C) for 12 months, *T. indica* showed activity against the pathogen. However, there was much more difference in plant variety of *T. indica*. The concentration and pH of the plant extract were related to the ability of the inhibition zone. Unfortunately, the plant extract may cause phytotoxicity and promote growth of saprophytic fungi.

Keywords: medicinal plant, plant extract, phytopathogenic bacteria, canker disease

EXECUTIVE SUMMARY

ในการคัดเลือกพืชสมุนไพรเพื่อการควบคุมโรคพืชที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย เมื่อทำการทดสอบผลของสารสกัดจากพืชสมุนไพรที่มีต่อการเจริญของเชื้อแบคทีเรียในระดับห้องปฏิบัติการจากพืชสมุนไพรที่นำมาใช้ทดสอบจำนวน 67 ชนิด โดยใช้น้ำเป็นตัวแทนหาละลาย ด้วยอัตราส่วนตัวอย่างพืช (กรัม) : น้ำ (มิลลิลิตร) เท่ากับ 1:2 สำหรับตัวอย่างสด และ 1:10 สำหรับตัวอย่างแห้ง ส่วนของตัวอย่างสดจะทำการหั่นและบดให้ละเอียด ถ้าเป็นตัวอย่างแห้งจะนำมาแช่ทิ้งไว้ประมาณ 2-3 ชั่วโมง ทำการแยกส่วนที่เป็นของเหลวและกากพืชออกจากกันด้วยตะแกรงและกระดาษกรองเบอร์ 1 (Whatman No.1) นำส่วนของเหลวกรองผ่านเครื่องกรองแบคทีเรียขนาด 0.45 ไมครอน ได้เป็นสารสกัดปราศจากการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์ นำสารสกัดมาทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคพืชโดยวิธี paper disc diffusion บนอาหาร Nutrient agar เชื้อแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบได้แก่ เชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคพืชที่สำคัญ 3 genus คือ *Xanthomonas* *Pseudomonas* และ *Erwinia* รวมทั้งสิ้น 13 สายพันธุ์ พบว่า สารสกัดจากพืชที่มีผลต่อการเจริญของแบคทีเรียทั้ง 13 สายพันธุ์ ได้แก่ มะกอกป่า มะกอกฝรั่ง มะขาม มะขามป้อม ทับทิม ยูคาลิปต์ กระเจี๊ยบแดง (ดอก) ฝรั่ง และบัวผัน สารสกัดจากพืชที่มีผลต่อการเจริญของแบคทีเรียบางสายพันธุ์ ได้แก่ กระเทียม หูปลาช่อน พะยอม กระเจี๊ยบแดง(ใบ) และพลู โดยที่สารสกัดจากหูปลาช่อน และกระเทียม ให้ผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อใน genus *Xanthomonas* และ *Pseudomonas* สารสกัดจากพะยอมให้ผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อใน genus *Xanthomonas* สารสกัดจากใบกระเจี๊ยบแดงให้ผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อใน genus *Xanthomonas* *Erwinia* และเชื้อแบคทีเรีย *P. syringae* pv. *sesami* สารสกัดจากพลูให้ผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อใน genus *Xanthomonas* *Erwinia* และเชื้อแบคทีเรีย *P. solanacearum* ในการทดลองขั้นต้นนี้ พบว่าสารสกัดแต่ละชนิดแสดงประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อได้แตกต่างกัน และเมื่อเพิ่มปริมาณสารสกัดให้สูงขึ้น ความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียจะเพิ่มขึ้นด้วย

การศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดพืชในการควบคุมโรคแคงเกอร์ของมะนาวด้วยวิธี detached leaf พบว่าสารสกัดจากพืช 13 ชนิด คือ ทับทิม มะขาม มะกอกป่า มะกอกฝรั่ง กระเทียม กระเจี๊ยบแดง หูปลาช่อน ยูคาลิปต์ พะยอม ฝรั่ง บัวผัน มะขามป้อม และพลู ให้ผลในการยับยั้งโรคแตกต่างกันไป โดยสารสกัดทั้ง 13 ชนิด ทำให้ใบมะนาวเป็นโรคลดลงจากการไม่ได้ใช้สารสกัด และการใช้สารสกัดก่อนการปลูกเชื้อ ทำให้การเกิดโรคน้อยกว่า หรือเท่ากับกับการใช้สารสกัดหลังการปลูกเชื้อ สารสกัดจากพืชที่มีประสิทธิภาพสูงสุด ทำให้ใบมะนาวที่ใช้สารสกัดก่อนการปลูกเชื้อ หรือหลังการปลูกเชื้อ ไม่เป็นโรค ได้แก่ ทับทิม มะขาม และ มะกอกป่า เมื่อทำการทดลองใน

โรงเรียนโดยใช้สารสกัดจากพืช 5 ชนิด คือ มะขาม ทับทิม ฝรั่ง กระเจี๊ยบแดง และ มะกอกป่า โดยการฉีดพ่นสารสกัดจากพืชก่อน หรือหลังการปลูกเชื้อ และทำการปลูกเชื้อโดยใช้เข็มแทงให้เกิดบาดแผล พบว่าการใช้สารสกัดฉีดพ่นหลังการปลูกเชื้อให้ผลในการควบคุมโรคดีกว่าการฉีดพ่นสารสกัดก่อนการปลูกเชื้อ สารสกัดจากพืชที่ให้ผลดีที่สุดได้แก่ กระเจี๊ยบแดง รองลงไปได้แก่ มะขาม ทับทิม มะกอกป่า และฝรั่ง ตามลำดับ และถ้าทำการฉีดพ่นสารสกัดจากพืช 2 ครั้ง โดยการฉีดพ่นครั้งที่ 2 หลังจากฉีดพ่นครั้งแรก 7 วัน พบว่าเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคลดลงมากกว่าการฉีดพ่นเพียงครั้งเดียว สารสกัดที่ให้ผลในการยับยั้งการเกิดโรคดีที่สุด คือ สารสกัดจากมะขาม

การใช้สารสกัดมะขามฉีดพ่นทำให้การเกิดโรค และปริมาณเชื้อโรคลดลง โดยระยะเวลาที่เหมาะสมในการฉีดพ่นสารสกัดคือ 0 วันหลังการปลูกเชื้อ ถ้าทำการฉีดพ่นสารสกัดหลังการปลูกเชื้อเป็นเวลานานขึ้นจะทำให้พืชเป็นโรคเพิ่มมากขึ้นแตกต่างกันไป โดยถ้าทำการฉีดพ่นหลังจากปลูกเชื้อมากกว่า 1 วันจะทำให้เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคมักมากกว่า 30% นอกจากนี้ยังพบว่าการฉีดพ่นสารสกัดช่วยลดการแพร่ระบาดของโรคได้ถ้ามีการใช้สารสกัดฉีดพ่นตั้งแต่ 3 ครั้งขึ้นไป เมื่อทดลองใช้สารสกัดมะขามควบคุมโรคแคงเกอร์ในสภาพแปลง พบว่าถ้ามีการใช้สารสกัดฉีดพ่น มะนาวเป็นโรคเท่ากับ 3.59 % ถ้าไม่ได้ใช้สารสกัดฉีดพ่น มะนาวเป็นโรค 9.53 % ซึ่งให้ผลแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

การศึกษาปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับประสิทธิภาพของสารสกัดมะขามเพื่อประโยชน์ในการนำไปใช้ควบคุมโรคแคงเกอร์มะนาว พบว่า พันธุ์พืชที่ใช้ต้องเป็นมะขามพันธุ์เปรี้ยว อุณหภูมิ และระยะเวลาในการเก็บรักษาไม่มีผลต่อประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของเชื้อ น้ำคั้นสกัดมีความคงทนต่ออุณหภูมิสูง (121°C) และอุณหภูมิต่ำ (-20°C) น้ำคั้นสกัดไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อเมื่อมีค่าความเป็นกรด-ด่างเพิ่มขึ้นจนเป็นกลาง หรือเป็นด่าง และประสิทธิภาพของน้ำคั้นสกัดลดลงเมื่อถูกทำให้เจือจางลง สารสกัดมะขามมีค่า MIC (minimal inhibitory concentration) และ MBC (minimal bactericidal concentration) เท่ากับ 1:32 และ 1:4 ตามลำดับ

ในการใช้สารสกัดมะขามฉีดพ่นเพื่อควบคุมโรคแคงเกอร์มะนาว พบว่ามีผลกระทบต่อการเปลี่ยนแปลงประชากรจุลินทรีย์เชื้อรา *Cladosporium* sp. ที่ดำรงชีวิตอยู่ในธรรมชาติแบบไม่เป็นที่ปรารถนา โดยพบเชื้อราเกิดขึ้นบนผิวใบมะนาว แม้ว่ามะนาวจะไม่ถูกเข้าทำลายโดยเชื้อดังกล่าว แต่การเกิดเชื้อราปกคลุมผิวใบ ย่อมส่งผลกระทบต่อกระบวนการสังเคราะห์แสงของพืช จึงควรศึกษาแนวทางการป้องกันกำจัดต่อไป

บทนำ

โรคพิษเป็นปัญหาสำคัญในการผลิตพืช โดยเชื้อแบคทีเรียเป็นจุลินทรีย์ชนิดหนึ่งที่ก่อโรคกับพืช ด้วยสภาพภูมิอากาศที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย ทำให้พบโรคพิษที่เกิดจากแบคทีเรียระบาดทั่วไปในประเทศไทย มีการควบคุมโรคพิษที่เกิดจากแบคทีเรียหลากหลายวิธี แตกต่างกันตามการดำรงชีวิตของเชื้อแต่ละชนิด การใช้สารเคมีในการป้องกันและกำจัดโรคนับเป็นวิธีที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลาย เนื่องจากการใช้สารเคมีเป็นวิธีการที่สะดวก และมีประสิทธิภาพ แต่การใช้สารเคมีเป็นวิธีการที่ก่อให้เกิดปัญหามากมาย โดยเฉพาะปัญหาสารพิษตกค้างในผลผลิต และสิ่งแวดล้อม การใช้สารสกัดพืชทดแทนการใช้สารเคมีจึงเป็นแนวทางหนึ่งในการแก้ปัญหาดังกล่าว การศึกษานี้ได้ทำการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดพืชสมุนไพรในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียชนิดต่างๆที่มีความสำคัญในประเทศไทยในสภาพห้องปฏิบัติการเพื่อคัดเลือกพืชสมุนไพรที่จะนำมาใช้ทดสอบควบคุมโรคพิษที่เกิดจากแบคทีเรีย และศึกษาการใช้สารสกัดพืชควบคุมโรค โดยทำการทดลองควบคุมโรคแคงเกอร์มะนาว ซึ่งเป็นโรคที่แพร่ระบาดทั่วประเทศไทย

วิธีการทดลอง

การคัดเลือกพืชสมุนไพรที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อในห้องปฏิบัติการ

พืชสมุนไพรที่ใช้ในการทดลอง

สำรวจ และเก็บรวบรวมพืชสมุนไพร นำมาใช้ในการทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียในระดับห้องปฏิบัติการ โดยการค้นคว้าจากที่มีรายงานว่าสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคพืช หรือมีผลในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทั่วไป หรือที่มีการนำมาใช้รักษาโรคกับมนุษย์โดยเฉพาะโรคที่มีสาเหตุหรือเกี่ยวข้องกับเชื้อแบคทีเรีย

เชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการทดลอง

แบคทีเรียที่ใช้ในการทดสอบในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ แบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคที่สำคัญในประเทศไทย โดยทำการแยกเชื้อจากพืชที่เป็นโรคด้วยวิธี streak plate ใช้อาหารในการแยกเชื้อตามความเหมาะสมของเชื้อแต่ละชนิด ทำให้ได้เชื้อบริสุทธิ์โดยการ streak plate ให้ได้โคโลนีเดี่ยว 3 ครั้ง นำเชื้อที่แยกได้มาทดสอบยืนยันความสามารถในการทำให้เกิดโรค (pathogenicity) โดยการปลูกเชื้อลงบนพืชอาศัยด้วยวิธีการที่เหมาะสมกับแต่ละโรค และทำการทดสอบคุณสมบัติทางฟิสิกส์และชีวเคมีที่เป็นลักษณะสำคัญในการจำแนกเชื้อแต่ละชนิด เก็บเชื้อไว้ใช้ตลอดการทดลองโดยเก็บไว้ได้น้ำมัน (under oil) ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และเก็บโดยทำ Lyophilization

การเตรียมสารสกัดจากพืชเพื่อใช้ทดลองในห้องปฏิบัติการ

พืชสมุนไพรที่ใช้ในการทดลองมีทั้งส่วนที่เป็นตัวอย่างสดและตัวอย่างแห้ง ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับส่วนของพืชที่นำมาใช้ ส่วนของใบมักจะใช้เป็นตัวอย่างสด ส่วนเนื้อไม้ใช้ตัวอย่างแห้ง ถ้าเป็นตัวอย่างสดจะใช้ตัวอย่างในอัตราส่วนตัวอย่างพืช (gm) : น้ำ (ml) = 1 : 2 สำหรับตัวอย่างแห้งจะใช้ตัวอย่างพืชในอัตราส่วน ตัวอย่างพืช (gm) : น้ำ (ml) = 1 : 10 ส่วนของตัวอย่างสดจะทำการหั่นให้เป็นชิ้นเล็ก ๆ แล้วจึงนำไปบดให้ละเอียดด้วยโกร่งบดยาขนาดใหญ่ หรือด้วยเครื่องบดตัวอย่าง ถ้าเป็นตัวอย่างแห้งจะนำมาแช่ทิ้งไว้นานประมาณ 2-3 ชั่วโมง ทำการแยกส่วนที่เป็นของเหลวและกากพืชออกจากกันด้วยตะแกรงละเอียด จากนั้นนำส่วนของเหลวไปกรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 1 (Whatman No. 1) เพื่อแยกชิ้นส่วนพืชออกจากส่วนของเหลวให้ได้มากที่สุด นำส่วนของเหลวกรองผ่านเครื่องกรองแบคทีเรียขนาด 0.45 ไมครอน ได้เป็นสารสกัด (crude extract) ที่ปราศจากการปนเปื้อนจากเชื้อจุลินทรีย์

การทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย

การศึกษาวิธีการทดสอบ

ทำการเปรียบเทียบวิธีการที่จะนำมาใช้ทดสอบปฏิกริยาระหว่างสารสกัดกับเชื้อแบคทีเรีย เพื่อให้ได้วิธีการที่เหมาะสม โดยทดลอง 2 วิธี คือ paper disc diffusion method และ well - in - agar method

paper disc diffusion method

ใช้กระดาษกรองเบอร์ 3 (Whatman No. 3) ตัดเป็นแผ่นกลม (disc) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร นำแผ่น disc มาผ่านการนั่งฆ่าเชื้อและอบแห้ง หยดสารสกัดจากพืชในปริมาตร 0, 10, 20 และ 30 ไมโครลิตรต่อ disc โดยหยดครั้งละ 10 ไมโครลิตร ปล่อยให้แผ่น disc แห้งจึงนำมาใช้ทดสอบ

well - in - agar method

โดยใช้ที่เจาะรู ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 3 มิลลิเมตร เจาะลงบนอาหารทดสอบ ใช้เข็มเขี่ยปลายงอ เขี่ยชั้นวุ้นออก หยดสารสกัดจากพืชลงในหลุมทดสอบ

การทดสอบ

ย้ายเชื้อแบคทีเรียจากอาหารเลี้ยง Nutrient agar (NA) ที่มีอายุ 24 ชั่วโมง ลงในอาหารเหลว Nutrient broth นำไปวางบนเครื่องเขย่า (shaker) ที่ความเร็วประมาณ 100 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จะได้เชื้อที่มีความขุ่น (optical density, O.D.) เท่ากับ 0.6 - 1.0 เมื่อวัดด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 590 นาโนเมตร ใช้เชื้อปริมาตร 1 มิลลิตร (ml) ใส่ลงในอาหาร NA ปริมาตร 10 ml ซึ่งหลอมและทิ้งไว้ให้มีอุณหภูมิประมาณ 45 องศาเซลเซียส ผสมเชื้อกับอาหารให้เข้ากันดี แล้วเททับบนอาหาร NA ที่มีปริมาตร 10 ml ซึ่งเทเตรียมไว้ในจานเลี้ยงเชื้อ (Petri dish) และแข็งตัวแล้ว (seed layer) เมื่ออาหารและเชื้อส่วนที่เททับแข็งตัวดีแล้ว จึงนำแผ่น disc ที่มีสารสกัดวางลงผิวหน้า (paper disc diffusion method) หรือใช้ที่เจาะรูเจาะลงบนอาหาร

เมื่อนำชิ้นวุ้นออกจึงหยดสารสกัดลงหลุม (well - in - agar method) ทำการทดลอง 2 - 3 ซ้ำ นำจานเลี้ยงเชื้อปมไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ตรวจและบันทึกผลการทดลองโดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางแผ่น disc รวมบริเวณใส (clear zone) นำค่าที่ได้มาคำนวณหาความกว้างบริเวณใส ดังนี้

$$\text{ความกว้างของบริเวณใส (mm)} = \frac{\text{เส้นผ่านศูนย์กลางแผ่น disc รวมบริเวณใส (mm)} - 5}{2}$$

2

การทดสอบประสิทธิภาพของสารที่สกัดด้วยแอลกอฮอล์

ทำการสกัดสารจากพืชโดยใช้แอลกอฮอล์ (95% ethyl alcohol) เป็นตัวทำละลาย โดยแช่ตัวอย่างพืชในแอลกอฮอล์เป็นเวลา 7 วัน กรองแยกนำเฉพาะส่วนของเหลวมาสกัดแยกด้วยเครื่อง rotary evaporator นำสารสกัดที่ได้มาทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อด้วยวิธี paper disc diffusion method ตรวจดูการเกิดบริเวณใส

การศึกษาการใช้พืชสมุนไพรในการควบคุมโรคแคงเกอร์มะนาว

การศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดพืชในการควบคุมโรคแคงเกอร์มะนาว

ด้วยวิธี detached leaf

การเตรียมพืชทดสอบ

ใช้ใบมะนาวที่ปราศจากการโรค นำมาล้างน้ำสะอาดแล้วฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวใบโดยแช่ใบมะนาวในสารละลายคลอโรกซ์ (clorox) 10% เป็นเวลานาน 5 นาที ย้ายใบมะนาวไปแช่ใน clorox 10 % ที่เตรียมใหม่ซ้ำอีกครั้ง ล้างใบมะนาวด้วยน้ำกลั่นหนึ่งฟาเชื่อเพื่อล้าง clorox ออกจากใบมะนาว นำใบมะนาวที่ผ่านการฆ่าเชื้อที่ผิว วางบนอาหาร water agar (agar 1.2%) ในจานเลี้ยงเชื้อ

การเตรียมเชื้อแบคทีเรีย

เลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas campestris* pv. *citri* สายพันธุ์ Xci12 บนอาหาร NGA (peptone 5 g, beef extract 3 g, dextrose 2.5 g, agar 16 g) เมื่อเชื้อเจริญเต็มที่ซึ่งใช้เวลาประมาณ 48 ชั่วโมง นำมาเตรียมเป็นเซลล์แขวนลอยด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการหนึ่งฟาเชื่อ ปริมาณเชื้อด้วยเครื่อง spectrophotometer ให้ได้ค่า OD(optical density) ที่ความยาวคลื่น 590 nm เท่ากับ $0.2 (10^{10} \text{ cfu/ml})$

การเตรียมพืชสมุนไพร

ใช้พืชสมุนไพรที่แสดงผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อสายพันธุ์ Xci12 ในห้องปฏิบัติการ จำนวน 13 ชนิด ได้แก่ กระเทียม มะกอกป่า มะกอกฝรั่ง หูปลาช่อน มะขาม พะยอม มะขามป้อม ทับทิม กระเจี๊ยบแดง ยูคาลิปต์ ฝรั่ง บัวผัน และพลู โดยใช้อัตราส่วนพืช(g)ต่อน้ำ(ml) เท่ากับ 1:2 สำหรับตัวอย่างสด และ 1:10 สำหรับตัวอย่างแห้ง กรองแยกส่วนกากออก แล้วนำสารสกัดผ่านเครื่องกรองแบคทีเรียขนาด 0.45 ไมครอน ได้สารสกัดปราศจากเชื้อพร้อมจะนำไปทดสอบ ทำการปลูก

เชื่อมบนใบมะนาวโดยใช้เข็มฉีดยาแทงบนใบมะนาวให้เกิดรอยแผลแล้วจึงหยดเซลล์แขวนลอยเชื้อ โดยทำการทดลองใช้สารสกัดพืชใน 2 ลักษณะ คือ ปลุกเชื้อก่อนการหยดสารสกัดพืช และปลุกเชื้อ หลังการหยดสารสกัดพืช ใช้สารสกัดพืช และเซลล์แขวนลอยเชื้ออย่างละ 5 ไมโครลิตร ต่อจุดแผล โดยแต่ละช่วงใช้เวลาห่างกัน 30 นาที ทำการปลุกเชื้อ 4 จุดแผลต่อใบ และ 4 ใบต่อชนิดของสารสกัด ปั่นไว้ใน incubator ภายใต้แสง ที่อุณหภูมิ 28 ± 1 °C ตรวจสอบที่ผลการเกิดโรค โดยนับจำนวนจุดแผลที่เป็นโรค

การศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดพืชในการควบคุมโรคแคงเกอร์มะนาว ในสภาพโรงเรือน

การศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดในการควบคุมโรคเมื่อเชื้อเข้าสู่พืชทางบาดแผล นำต้นมะนาวแป้นที่ปลูกในถุงดำขนาด 12 นิ้ว อายุ 12 เดือน เลือกใบที่สมบูรณ์ดี และไม่ปรากฏอาการโรคใช้ในการทดลอง เตรียมเชื้อแบคทีเรียให้มีปริมาณ 10^{10} cfu/ml ด้วยวิธีดังกล่าวแล้วล้างต้น สำหรับการเตรียมสารสกัดจากพืชสมุนไพร เลือกใช้พืชที่แสดงผลในการควบคุมโรคได้ดีด้วยวิธี detached leaf จำนวน 5 ชนิด คือ มะกอกป่า มะขาม ทับทิม กระเจี๊ยบแดง และฝรั่ง โดยใช้สารสกัดพืชอัตราส่วน ตัวอย่างพืช(g) ต่อน้ำ (ml) เท่ากับ 1:5 สำหรับตัวอย่างสด และ 1:10 สำหรับตัวอย่างแห้ง การปรับอัตราส่วนเมื่อใช้ตัวอย่างสด เนื่องจากการเตรียมสารสกัดจำนวนมากต้องใช้เครื่องปั่นช่วยบดตัวอย่าง ถ้าใช้ตัวอย่างพืชต่อน้ำในอัตราส่วน 1:2 พบว่าเครื่องไม่สามารถปั่นบดตัวอย่างได้ การทดลองนี้ใช้วิธีการปลุกเชื้อโดยการทำแผลด้วยเข็มฉีดยา และใช้วิธีฉีดพ่นสารสกัดพืชลงบนใบมะนาว โดยทำการทดลอง 4 กรรมวิธี คือ

กรรมวิธีที่ 1 หลังจากทำแผลบนใบมะนาวโดยใช้เข็มฉีดยา และปลุกเชื้อปริมาตร 5 μ l ลงบนแผล เมื่อใบแห้งทำการฉีดพ่นสารสกัดพืช

กรรมวิธีที่ 2 หลังจากทำแผลบนใบมะนาวโดยใช้เข็มฉีดยา และทำการฉีดพ่นสารสกัดพืชเมื่อใบแห้ง ทำการปลุกเชื้อปริมาตร 5 μ l ลงบนแผล

กรรมวิธีที่ 3 และ 4 ปฏิบัติเช่นเดียวกับกรรมวิธีที่ 1 และ 2 ตามลำดับ และทำการฉีดพ่นสารสกัดอีกครั้ง หลังการฉีดพ่นครั้งแรก 1 สัปดาห์

ทำการปลุกเชื้อโดยซีกหนึ่งของใบใช้เข็มทำแผลแต่ไม่ปลุกเชื้อลงบนแผล เป็นจำนวน 2 จุด อีกซีกใบที่เหลือจึงทำการปลุกเชื้อลงบนแผลจำนวน 2 จุด ทำการทดลองกับใบมะนาวจำนวน 10 ใบต่อต้น และ 2 ต้นต่อกรรมวิธี ตรวจสอบที่ผลโดยนับจำนวนจุดแผลที่เกิดโรค

การศึกษาปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับประสิทธิภาพของสารสกัดมะขาม และประสิทธิภาพในการควบคุมโรคแคงเกอร์มะนาวในแปลงทดลอง

การศึกษาผลของสารสกัดต่อประชากรของเชื้อในสภาพควบคุม

ทำการทดลองหาปริมาณเชื้อ *Xanthomonas campestris* pv. *citri* โดยหยดสารสกัดพืช หลังจากการปลูกเชื้อ ด้วยวิธี detached leaf ดังกล่าวแล้วข้างต้น ทำการตรวจหาเชื้อโดยวิธี dilution plate method และการตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning electron microscope) หลังการปลูกเชื้อเป็นเวลา 0, 7 และ 15 วัน

การศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการฉีดพ่นสารสกัดหลังจากเชื้อเข้าสู่พืช

ทำการทดลองฉีดพ่นสารสกัดมะขามหลังการปลูกเชื้อ *Xanthomonas campestris* pv. *citri* สายพันธุ์ Xci12 Strep^R ซึ่งเป็นเชื้อสายพันธุ์ Xci12 ที่ต้านทานต่อสารปฏิชีวนะ streptomycin 100 ppm ทำการปลูกเชื้อโดยใช้เข็มทำแผล 2 จุด บนซีกหนึ่งของใบ แล้วหยดเชื้อ และทำแผลอีก 2 จุด บนซีกอีกหนึ่งของใบแต่ไม่ใส่เชื้อ เพื่อใช้เปรียบเทียบอาการ ศึกษาการเกิดโรค เมื่อทำการฉีดพ่นสารสกัดหลังการปลูกเชื้อ 0, 3 และ 5 วัน โดยนับจำนวนจุดแผลที่เกิดโรคหลังการปลูกเชื้อ 21 วัน และศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณเชื้อหลังการปลูกเชื้อ 7 และ 14 วัน โดยตัดใบบริเวณจุดแผลที่ปลูกเชื้อมาทำการแยกเชื้อโดยวิธี spread plate และตรวจนับปริมาณเชื้อบนอาหาร NGA ที่ผสมสารปฏิชีวนะ streptomycin 100 ppm ทำการทดลองเปรียบเทียบ (control) โดยการปลูกเชื้อแต่ไม่ฉีดพ่นสารสกัด มะนาวที่ใช้ทดลองเป็นมะนาวอายุ 2 ปี ปลูกในถุงดำ โดยปลูกเชื้อ 10 ใบต่อดัน และทำการทดลอง 5 ซ้ำ

การศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดในการควบคุมการแพร่ระบาดของโรค

ทำการปลูกเชื้อ *Xanthomonas campestris* pv. *citri* สายพันธุ์ Xci12 Strep^R โดยใช้เข็มทำแผล 2 จุด บนซีกหนึ่งของใบ แล้วหยดเชื้อ และทำแผลอีก 2 จุด บนซีกอีกหนึ่งของใบแต่ไม่ใส่เชื้อ เพื่อใช้เปรียบเทียบอาการ ปลูกเชื้อ 10 ใบต่อดัน และทำการทดลอง 5 ซ้ำ ปลอ่ยให้มะนาวเป็นโรคแคงเกอร์ เมื่อมะนาวเป็นโรค 100% (2 สัปดาห์หลังการปลูกเชื้อ) จึงทำการฉีดพ่นสารทุกๆ 7 วัน ทำการทดลองเปรียบเทียบ (control) โดยไม่มีการฉีดพ่นสาร บันทึกการเกิดโรคระบาด หลังการฉีดพ่นสารสกัด 2, 3 และ 4 ครั้ง

การศึกษาระดับความเข้มข้นของสารสกัดที่มีผลต่อการเจริญของเชื้อ

เตรียมสารสกัดมะขามในอัตราส่วนมะขาม (g) ต่อน้ำ (ml) เท่ากับ 1:1 นำน้ำคั้นผ่านเครื่องกรองแบคทีเรียเพื่อให้ได้สารสกัดที่ปราศจากการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์ ทำการเจือจางสารสกัดด้วยน้ำที่ผ่านการนิ่งฆ่าเชื้อแล้ว โดยการเจือจางลงเป็น 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32, 1:64 และ 1:128 นำ

สารสกัดแต่ละความเข้มข้นจำนวน 1 ส่วน (1ml) ผสมกับอาหาร 2xNGB(peptone 10 g, beef extract 6 g, dextrose 5 g) จำนวน 1 ส่วน (1ml) เลี้ยงเชื้อ *Xanthomonas campestris* pv. *citri* สายพันธุ์ Xci12 ในอาหาร NGB เมื่อเชื้ออายุ 24 ชั่วโมง นำเซลล์แขวนลอยของเชื้อ (10^8 cfu/ml) ปริมาตร 100 μ l ผสมลงในแต่ละหลอด สำหรับหลอดเปรียบเทียบผสมน้ำ 1 ส่วน (1ml) แทนการใส่สารสกัดพืช จากนั้นนำหลอดทดสอบวางบนเครื่องเขย่าที่ความเร็ว 125 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 28°C เป็นเวลานาน 24 ชั่วโมง ตรวจดูความขุ่นเพื่อหาระดับความเข้มข้นของสารต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ (minimal inhibitory concentration; MIC) และตรวจหาปริมาณเชื้อโดยวิธี spread plate บนอาหาร NGA เพื่อหาระดับความเข้มข้นของสารต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อได้ทั้งหมด (minimal bactericidal concentration; MBC)

การศึกษาประสิทธิภาพของสารออกฤทธิ์ และความคงทนต่ออุณหภูมิของสารสกัดมะขาม

ทดลองปรับระดับความเป็นกรด-ด่างของสารสกัด แล้วทำการทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของเชื้อโดยวิธี paper disc diffusion และทำการเจือจางสารสกัดมะขาม แล้วตรวจวัดความเป็นกรด-ด่าง ของสารสกัดที่แต่ละความเข้มข้น ทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของเชื้อโดยวิธี paper disc diffusion

นำน้ำคั้นสกัดมะขามไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20°C เป็นเวลา 1 เดือน และนำอีกส่วนไปหนึ่งที่อุณหภูมิ 121°C เป็นเวลา 15 นาที แล้วทำการทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของเชื้อโดยวิธี paper disc diffusion

การทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของเชื้อโดยวิธี paper disc diffusion ใช้วิธีการดังกล่าวข้างต้นแล้ว

การศึกษาพันธุ์มะขาม และอุณหภูมิในการเก็บรักษา

นำมะขาม 2 พันธุ์ คือ มะขามเปรี้ยว(ซึ่งใช้ในทุการศึกษาทดลอง) และมะขามหวานพันธุ์สีทองเตรียมเป็นสารสกัดด้วยวิธีการข้างต้น แล้วทำการทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของเชื้อโดยวิธี paper disc diffusion

นำมะขามเก็บรักษาไว้ในสภาพอุณหภูมิห้อง(ประมาณ 28°C) และเก็บไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4°C จากนั้นนำมาทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของเชื้อโดยวิธี paper disc diffusion เดือนละครั้ง เป็นเวลา 12 เดือน

การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดมะขามในการควบคุมโรคแคงเกอร์มะนาวในสภาพแปลงทดลอง

ทำการศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดมะขาม ในการควบคุมโรคแคงเกอร์ที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติกับต้นมะนาวแป้นอายุ 3 ปี เริ่มสำรวจการเกิดโรค และทำการฉีดพ่นสารสกัดมะขามทุกๆ

7 วัน โดยใช้สารสกัดพืชในอัตราส่วนตัวอย่างพืช(g)ต่อน้ำ(ml) เท่ากับ 1:5 ประเมินโรคโดย นับใบที่เป็นโรค และจำนวนจุดแผลที่เกิดขึ้นแต่ละใบ ทำการทดลองเปรียบเทียบ (control) โดยไม่ฉีดพ่นสารสกัด การทดลองมี 4 ซ้ำ

ผลการทดลอง

การคัดเลือกพืชสมุนไพรที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อในห้องปฏิบัติการ

พืชสมุนไพร และเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการทดลอง

พืชสมุนไพรที่ใช้ในการทดลองทั้งหมด 67 ชนิด อยู่ใน 37 วงศ์ (ตารางที่ 1) ได้เก็บตัวอย่างและรวบรวมพันธุ์พืชสมุนไพรบางชนิดเพื่อใช้ในการทดลองขั้นต่อไป แบคทีเรียที่ใช้ในการทดลอง 13 สายพันธุ์ อยู่ใน 3 สกุล คือ *Xanthomonas* *Pseudomonas* และ *Erwinia* เชื้อทั้ง 13 สายพันธุ์เป็นเชื้อที่ก่อให้เกิดโรคสำคัญ รายละเอียดแหล่งที่มาของเชื้อ แสดงไว้ในตารางที่ 2

การทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย

การทดสอบปฏิกริยาระหว่างสารสกัดจากพืชกับเชื้อแบคทีเรียในห้องปฏิบัติการ พบว่า วิธี paper disc diffusion เป็นวิธีการที่สะดวก ให้ผลได้ชัดเจน และที่สำคัญคือ ใช้เวลาน้อยกว่าวิธี well - in - agar ฉะนั้นในการทดลอง จึงเลือกใช้วิธี paper disc diffusion เป็นวิธีการทดสอบในห้องปฏิบัติการขั้นต้น

ในการทดลองได้ทำการทดสอบปฏิกริยาระหว่างสารสกัดจากพืช 67 ชนิดกับเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคพืช 13 สายพันธุ์ ในสภาพห้องปฏิบัติการโดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย พบว่ามีพืชสมุนไพรจำนวน 13 ชนิด ที่ให้ผลยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย (ตารางที่ 3) คือ กระเทียม มะกอกป่า มะกอกฝรั่ง หูปลาช่อน มะขาม พะยอม มะขามป้อม ทับทิม กระเจี๊ยบแดง ยูคาลิปต์ ฝรั่ง บัวผัน และพลู โดยให้ผลในการยับยั้งแตกต่างกัน คือ พืชกลุ่มที่หนึ่ง ให้ผลยับยั้งเชื้อทุกสายพันธุ์ที่ทดสอบได้แก่ มะกอกป่า มะกอกฝรั่ง มะขาม มะขามป้อม ทับทิม ดอกกระเจี๊ยบแดง ยูคาลิปต์ ฝรั่ง และบัวผัน พืชกลุ่มที่สองให้ผลยับยั้งเชื้อบางสายพันธุ์ ได้แก่ กระเทียม หูปลาช่อน พะยอม ใบกระเจี๊ยบแดง และพลู โดยที่กระเทียม ใบกระเจี๊ยบแดง และพลูให้ผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อใน genus *Xanthomonas* ทุกสายพันธุ์ ส่วนหูปลาช่อนและพะยอม ให้ผลยับยั้งการเจริญของเชื้อใน genus *Xanthomonas* เกือบทุกสายพันธุ์ สายพันธุ์ที่ไม่สามารถยับยั้งการเจริญได้คือ สายพันธุ์ Xcm9 ซึ่งเป็น pathovar *manihotis* กระเทียม หูปลาช่อน และพลู ให้ผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Pseudomonas solanacearum* ทั้ง 3 สายพันธุ์ กระเทียม หูปลาช่อน และใบกระเจี๊ยบแดง ให้ผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Pseudomonas syringae* pv. *sesami* ใบกระเจี๊ยบแดงและพลูให้ผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ genus *Erwinia* ทั้ง 2 สายพันธุ์ พืชแต่ละชนิดในทั้ง 2 กลุ่ม แสดง

ประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแต่ละสายพันธุ์ได้แตกต่างกัน (ตารางที่ 4) และเมื่อใช้สารสกัดในปริมาณสูงขึ้น ความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียจะเพิ่มขึ้น

การทดสอบประสิทธิภาพของสารที่สกัดด้วยแอลกอฮอล์

ได้ทำการทดลองสกัดสารจาก มะกอกป่า มะขาม ทับทิม ดอกกระเจี๊ยบแดง ข่า บอระเพ็ด และฝรั่ง โดยใช้แอลกอฮอล์เป็นตัวทำละลาย พบว่าสารสกัดจากพืช 5 ชนิด คือ มะกอกป่า มะขาม ทับทิม ดอกกระเจี๊ยบแดง และฝรั่ง แสดงผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Xanthomonas campestris* pv. *citri* สายพันธุ์ Xci12

ตารางที่ 1 พืชสมุนไพรที่ใช้ในการทดลอง

Botanical name	Native name	Plant part used
ACANTHACEAE		
<i>Andrographis paniculata</i>	ฟ้าทะลายโจร	ใบ
<i>Barleria lupulina</i>	เสลดพังพอนตัวผู้	ใบ
<i>Clinacanthus nutans</i>	เสลดพังพอนตัวเมีย	ใบ
<i>Rhinacanthus nasutus</i>	ทองพันชั่ง	ใบ
ALLIACEAE		
<i>Allium cepa</i>	หอมหัวใหญ่	ลำต้นใต้ดิน
<i>A. cepa</i> var. <i>aggregatum</i>	หอมหัวเล็ก	ลำต้นใต้ดิน
<i>A. sativum</i>	กระเทียม	ลำต้นใต้ดิน
AMARYLLIDACEAE		
<i>Crinum asiaticum</i>	พลับพลึงดอกขาว	ใบ
<i>Spondias bipinnata</i>	มะกอกป่า	ใบ
<i>Spondias cytherea</i>	มะกอกฝรั่ง	ใบ
APOCYNACEAE		
<i>Alstonia scholaris</i>	พญาสัตบรรณ	เปลือกต้น
<i>Wrightia tomentosa</i>	โมกมัน	เปลือกต้น
ARALIACEAE		
<i>Schefflera leucantha</i>	หนุमानประสาณกาย	ใบ
ASTERACEAE (COMPOSITAE)		
<i>Aster cordifolius</i>	หุปลาซ้อน	ใบ
<i>Eupatorium odoratum</i>	สาบเสือ	ใบ
<i>Solidago polyglossa</i>	สร้อยทอง	ใบ
BALSAMINACEAE		
<i>Impatiens balsamina</i>	เทียนบ้าน	ใบ
CAESALPINIACEAE (LEGUMINOSAE / FABACEAE)		
<i>Tamarindus indica</i>	มะขาม	ผล
COMBRETACEAE		
<i>Quisqualis indica</i>	เล็บมือนาง	กิ่งก้าน
COMMELINACEAE		
<i>Rhoco discolor</i>	ว่านกาบหอยใหญ่	ใบ

ตารางที่ 1 (ต่อ)

Botanical name	Native name	Plant part used
CYPERACEAE		
<i>Cyperus alternifolius</i>	กกลังกา	ต้น
DIPTEROCARPACEAE		
<i>Shorea roxburghii</i>	พะยอม	ต้น
EUPHORBIACEAE		
<i>Croton oblongifolius</i>	เปล้าใหญ่	ใบ
<i>Croton sublyratus</i>	เปล้าน้อย	ใบ, ต้น
<i>Gelonium multiflorum</i>	ชันทองพยามาท	ต้น
<i>Phyllanthus emblica</i>	มะขามป้อม	ผล
FLACOURTIACEAE		
<i>Hydnocarpus anthelminthicus</i>	กระเบา	เมล็ด
GRAMINEAE (POACEAE)		
<i>Cymbopogon citratus</i>	ตะไคร้	ใบ
GRANATACEAE (PUNICACEAE)		
<i>Punica granatum</i>	ทับทิม	เปลือกผล
GUTTIFERAE (CLUSIACEAE)		
<i>Garcinia mangostana</i>	มังคุด	เปลือกผล
LABTATAE		
<i>Ocimum sanctum</i>	กะเพรา	กิ่งก้าน
MALVACEAE		
<i>Abelmoschus esculentus</i>	กระเจี๊ยบ	ใบ
<i>Hibiscus rosa - sinensis</i>	ชบา	ใบ
<i>H. subdariffa</i>	กระเจี๊ยบแดง	ใบ, ดอก
MELIACEAE		
<i>Azadirachta indica var siamensis</i>	สะเดาบ้าน	ต้น
MENISPERMACEAE		
<i>Tiliacora triandra</i>	ย่านาง	ใบ
<i>Tinospora tuberculata</i>	บอระเพ็ด	ต้น
MORACEAE		
<i>Artocarpus heterophyllus</i>	ขนุน	ต้น
<i>Streblus asper</i>	ข่อย	ต้น

ตารางที่ 1 (ต่อ)

Botanical name	Native name	Plant part used
MUSACEAE		
<i>Musa sapientum</i>	กล้วยน้ำว้า	ผลแห้ง
MYRTACEAE		
<i>Eucalyptus globulus</i>	ยูคาลิปต์	ใบ
<i>Eugenia caryophyllus</i>	กานพลู	ดอก
<i>Psidium guajava</i>	ฝรั่ง	ใบ
NYMPHAEACEAE		
<i>Nymphaea stellata</i>	บัวผัน	ดอกแห้ง
<i>Nelumbo nucifera</i>	บัวหลวง	เกสร, เหง้า
PIPERACEAE		
<i>Piper betle</i>	พลู	ใบ
<i>P. nigrum</i>	พริกไทย	ใบ
<i>P. retrofractum</i>	ติบลิ	ผล
<i>P. sarmentosum</i>	ชะพลู	ใบ
PLUMBAGINACEAE		
<i>Limonium sinuatum</i>	บานไม่รู้โรย	ดอก
POLYGONACEAE		
<i>Rheum palmatum</i>	โกฐน้ำเต้า	ต้น
POLYPODIACEAE		
<i>Adiantum spp.</i>	เฟินก้านดำ	ใบ
<i>Asplenium nidus</i>	ข้าหลวงหลังลาย	ใบ
<i>Drynaria quercifolia</i>	กระแตไต่ไม้	ใบ
ROSACEAE		
<i>Rosa sp.</i>	กุหลาบ	ใบ
RUTACEAE		
<i>Aegle marmelos</i>	มะตูม	ผลแห้ง
<i>Zanthoxylum limonella</i>	กำจัดต้น	ต้น
SAPINDACEAE		
<i>Sapindus emarginatus</i>	มะคำดีควาย	ผล

ตารางที่ 1 (ต่อ)

Botanical name	Native name	Plant part used
SOLANACEAE		
<i>Datura metel</i>	ล้าโพง	ดอก
<i>Nicotiana tabacum</i>	ยาสูบ	ใบแห้ง
STEMONACEAE		
<i>Stemona tuberosa</i>	หนอนตายหยาก	ต้น
TERNSTROEMACEAE		
<i>Camellia sinensis</i>	ชา	ใบแห้ง
UMBELLIFERAE (APIACEAE)		
<i>Centella asiatica</i>	บัวบก	ใบ
ZINGIBERACEAE		
<i>Alpinia nigra</i>	ข่า	ลำต้นใต้ดิน
<i>Boesenbergia rotunda</i>	กระชาย	ลำต้นใต้ดิน
<i>Curcuma longa</i>	ขมิ้นชัน	ลำต้นใต้ดิน
<i>C. zedoaria</i>	ขมิ้นอ้อย	ลำต้นใต้ดิน

ตารางที่ 2 เชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการทดลอง

แบคทีเรีย	สายพันธุ์	พืชอาศัย	สาเหตุโรค
<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i>	Xc1	กะหล่ำ	เน่าดำ
<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>citri</i>	Xci11, Xci12	มะนาว	แคงเกอร์
<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>glycines</i>	Xcg1	ถั่วเหลือง	ใบจุดนูน
<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>manihotis</i>	Xcm9	มันสำปะหลัง	ใบไหม้
<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>vesicatoria</i>	Xcv21	พริก	ใบจุด
<i>Xanthomonas campestris</i>	Xc41 ^{a/}	ผักบุ้ง	ใบจุด
<i>Pseudomonas solanacearum</i>	J3 ^{b/}	มะเขือเทศ	เหี่ยว
<i>Pseudomonas solanacearum</i>	P220	พริก	เหี่ยว
<i>Pseudomonas solanacearum</i>	Ps5 ^{c/}	มันฝรั่ง	เหี่ยว
<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>sesami</i>	Pss1 ^{d/}	งา	ใบจุด
<i>Erwinia carotovora</i> subsp. <i>carotovora</i>	PE ^{c/}	มันฝรั่ง	เน่าเละ
<i>Erwinia carotovora</i> subsp. <i>carotovora</i>	SR1	กะหล่ำปลี	เน่าเละ

a/ b/ c/ d/ เป็นสายพันธุ์ที่มีอยู่เดิม

a/ ชลิดา เล็กสมบูรณ์, นิพนธ์ ทวีชัย และวิชัย โฆสิตรัตน. โรคใบจุดแบคทีเรียของผักบุ้งจีน, หน้า 277-283. ประชุมวิชาการ ครั้งที่ 29 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ 4-7 กุมภาพันธ์ 2534, กรุงเทพฯ.

b/ Chalida Leksomboon. 1994. Investigation on Bacterial Wilt Resistance of Tomato and Molecular Cloning of Hypersensitive Reaction and Pathogenicity Genes of *Pseudomonas solanacearum*. Ph.D. Thesis Kasetsart University, Bangkok.

c/ ปริญญา จันทศรี. 2532. การเปลี่ยนแปลงประชากรและการถูกทำลายของเชื้อ soft rot erwinias ที่ได้จากแปลงปลูกหัวพันธุ์มันฝรั่งในบริเวณดอยอ่างขาง. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

d/ ชลิดา เล็กสมบูรณ์, นิพนธ์ ทวีชัย และสุรพล ยินอัสวพรรณ. 2534. การปรากฏโรคแบคทีเรียใบจุดของงาในประเทศไทย. วารสารโรคพืช 11 : 1-8.

ตารางที่ 3 ปฏิกริยาระหว่างสารสกัดจากพืชกับเชื้อแบคทีเรียในห้องปฏิบัติการ

[illegible]

ตารางที่ 3 (ต่อ)

พืชสมุนไพร	ปฏิกิริยาระหว่างสารสกัดจากพืชกับเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ต่าง ๆ												
	Xc1	Xci11	Xci12	Xcg1	Xom9	Xcv21	Xc41	J3	P220	Pa5	Pss1	PE	SR1
บอระเพ็ด	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ขมิ้น	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ขมิ้น	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
กล้วยน้ำว้า	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ยูคาลิปต์	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
กานพลู	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ฝรั่ง	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
บัวผัน	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
บัวหลวง	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
พลู	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
พริกไทย	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ติบลิ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ชะพลู	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
บานไม่รู้โรย	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
โกฐน้ำเต้า	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
เฟินก้านดำ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ข้าหลวงหลังลาย	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
กระแตไต่ไม้	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
กุหลาบ	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
มะตูม	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
กำจัดต้น	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
มะคำดีควาย	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ลำโพง	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ยาสูบ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
หนอนตายหยาก	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ชา	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
บัวบก	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ข่า	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
กระชาย	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ขมิ้นชัน	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ขมิ้นอ้อย	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

+ เกิดบริเวณใส

- ไม่เกิดบริเวณใส

N ไม่ได้ทดสอบ เนื่องจากสารสกัดเป็นเมือก ไม่สามารถกรองได้

ตารางที่ 4 ผลของสารสกัดของพืชสมุนไพร 13 ชนิดต่อการเจริญของแบคทีเรียสาเหตุโรคพืช 13 สายพันธุ์

พืชสมุนไพร	ความกว้างของบริเวณใส (mm) ^{a/}												
	Xc1	Xci11	Xci12	Xcg1	Xcm9	Xcv21	Xc41	J3	P220	Ps5	Pss1	PE	SR1
กระเทียม	1.5	1.4	1.3	1.4	1.3	1.1	2	1.4	1.3	1.3	+ ^{b/}	0	0
มะกอกป่า	1	1	1	1	1	1	1	0.8	0.8	1	1	1	1.3
มะกอกฝรั่ง	1	1	1	1	1	1	1	0.8	0.8	1	1	1	1.3
หุปลาช่อน	+	3.8	3.9	3	0	2	3.6	2	2	2	3.8	0	0
มะขาม	7.8	3.8	5.3	4.5	3.5	4	10	3.8	3	3.3	7.3	6.3	5.5
พะยอม	6	3.8	3	4.5	0	4.8	1.2	0	0	0	0	0	0
มะขามป้อม	1	1	1	1.3	1.4	1	1.6	1	1	1	1	1	1
ทับทิม	7	8	8	7	7	7	7	4	4	4.3	10	+	+
ใบกระเจียวแดง	1	1	0.8	1	1	1.1	1.2	0	0	0	0.8	1	0.8
ดอกกระเจียวแดง	1	1	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	+	1	0.5	1	1
ยูคาลิปต์	1.5	3	3	2.7	2	2.5	3.7	1.5	0.8	1.5	3.3	+	+
ฝรั่ง	3.4	3.5	3.5	3	3.5	3.2	3	2.5	2	2.5	3.5	3.5	3
บัวผัน	+	+	+	+	+	+	+	2	2.3	2	+	+	+
พลู	+	+	+	+	3	+	1	+	+	+	0	+	+

a/ ค่าเฉลี่ยความกว้างบริเวณใสที่เกิดจากการใช้สารสกัดจากพืช 30 µl

b/ + = เกิดความกว้างบริเวณใสน้อยกว่า 0.5 mm

การศึกษาการใช้พืชสมุนไพรในการควบคุมโรคแคงเกอร์มะนาว

การศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดพืชในการควบคุมโรคแคงเกอร์มะนาว

ด้วยวิธี detached leaf

การใช้พืชสมุนไพรควบคุมโรคแคงเกอร์ของมะนาว ภายใต้สภาพควบคุม โดยการตัดใบมะนาว มาทดลองด้วยวิธี detached leaf พบว่าสารสกัดจากพืช 13 ชนิด คือ ทับทิม มะขาม มะกอกป่า มะกอกฝรั่ง กระเทียม กระเจี๊ยบแดง หูปลาช่อน ยูคาลิปต์ พะยอม ฝรั่ง บัวผัน มะขามป้อม และพลู ให้ผลในการยับยั้งโรคแตกต่างกันไป (ตารางที่ 5) โดยสารสกัดทั้ง 13 ชนิด ทำให้ใบมะนาวเป็นโรคลดลงจากการไม่ได้ใช้สารสกัด (control) และการใช้สารสกัดก่อนการปลูก เชื้อ ทำให้การเกิดโรคน้อยกว่า หรือเท่ากับกับการใช้สารสกัดหลังการปลูกเชื้อ สารสกัดจากพืชที่มี ประสิทธิภาพสูงสุด ทำให้ใบมะนาวที่ฉีดพ่นสารสกัดก่อนการปลูกเชื้อ หรือหลังการปลูกเชื้อ ไม่เป็น โรค ได้แก่ ทับทิม มะขาม และ มะกอกป่า สารสกัดที่มีประสิทธิภาพรองลงไป ได้แก่ ฝรั่ง กระเจี๊ยบแดง มะกอกฝรั่ง หูปลาช่อน มะขามป้อม บัวผัน พลู พะยอม กระเทียม และยูคาลิปต์ ตามลำดับ

การศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดพืชในการควบคุมโรคแคงเกอร์มะนาว

ในสภาพโรงเรือน

เมื่อทำการทดลองในโรงเรือนโดยใช้สารสกัดจากพืช 5 ชนิด คือ มะขาม ทับทิม ฝรั่ง กระเจี๊ยบแดง และ มะกอกป่า โดยการฉีดพ่นสารสกัดจากพืชก่อน หรือหลังการปลูกเชื้อ และทำ การปลูกเชื้อโดยใช้เข็มแทงให้เกิดบาดแผล พบว่า การใช้สารสกัดฉีดพ่นหลังการปลูกเชื้อให้ผล ในการควบคุมโรคดีกว่าการฉีดพ่นสารสกัดก่อนการปลูกเชื้อ และ สารสกัดจากพืชที่ให้ผลดีที่สุด ได้แก่ กระเจี๊ยบแดง รองลงไปได้แก่ มะขาม ทับทิม มะกอกป่า และฝรั่ง ตามลำดับ สารสกัดจาก ฝรั่ง มีประสิทธิภาพต่ำสุดโดยทำให้เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเมื่อใช้สารสกัดฉีดพ่น ก่อนการปลูกเชื้อ เท่ากับ 96.5% (ตารางที่ 6) และถ้าทำการฉีดพ่นสารสกัดจากพืช 2 ครั้ง โดยการฉีดพ่นครั้งที่ 2 หลังจากฉีดพ่นครั้งแรก 7 วัน พบว่าเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคลดลงมากกว่าการฉีดพ่นเพียงครั้ง เดียว สารสกัดที่ให้ผลในการยับยั้งการเกิดโรคดีที่สุด คือ สารสกัดจากมะขาม โดยมีเปอร์เซ็นต์การ เกิดโรค เท่ากับ 17.5% นอกจากมะขามแล้ว สารสกัดที่ทำให้เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคน้อยกว่า 50 % เมื่อฉีดพ่นสารสกัด 2 ครั้ง ได้แก่ สารสกัดกระเจี๊ยบแดง

ตารางที่ 5 ประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืชในการควบคุมโรคแคงเกอร์ของมะนาวในสภาพควบคุม ด้วยวิธี detached leaf

สารสกัดพืชสมุนไพร	เปอร์เซ็นต์การเกิดโรค (%)	
	เมื่อใช้สารสกัดก่อนการปลูกเชื้อ	เมื่อใช้สารสกัดหลังการปลูกเชื้อ
ทับทิม	0	0
มะขาม	0	0
มะกอกป่า	0	0
มะกอกฝรั่ง	0	16.7
กระเทียม	41.7	50
กระเจี๊ยบแดง	0	16.7
หูลาซอน	16.7	16.7
ยูคาลิปต์	83.3	83.3
พะยอม	33.3	66.7
ฝรั่ง	0	8.3
บัวผ้น	0	33.3
มะขามป้อม	0	25
พลู	25	25
น้ำ(ไม่ใช้สารสกัดพืช)	100	100

$$\text{เปอร์เซ็นต์การเกิดโรค (\%)} = \frac{\text{จำนวนจุดแผลที่เกิดโรค} \times 100}{\text{จำนวนจุดแผลที่ทำการปลูกเชื้อ}}$$

ตารางที่ 6 ประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืชสมุนไพรในการควบคุมโรคแคงเกอร์ในสภาพโรงเรือน

สารสกัดพืชสมุนไพร	เปอร์เซ็นต์การเกิดโรค (%)			
	ใช้สารสกัด 1 ครั้ง		ใช้สารสกัด 2 ครั้ง	
	ก่อนปลูกเชื้อ	หลังปลูกเชื้อ	ก่อนปลูกเชื้อ	หลังปลูกเชื้อ
กระเจี๊ยบแดง	80	37.5	32.5	20
มะขาม	80	57.5	17.5	17.5
ทับทิม	86.5	65	85	52.5
มะกอกป่า	93.5	85	85	70
ฝรั่ง	96.5	100	100	95

เมื่อไม่ได้ฉีดพ่นสารสกัดเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเท่ากับ 100%

การศึกษาปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับประสิทธิภาพของสารสกัดมะขาม และประสิทธิภาพในการควบคุมโรคแคงเกอร์มะนาวในแปลงทดลอง

การศึกษาผลของสารสกัดต่อประชากรของเชื้อในสภาพควบคุม

การศึกษาการเปลี่ยนแปลงประชากรเชื้อสาเหตุโรคโดยการทดลองด้วยวิธี detached leaf พบว่า ไม่สามารถตรวจพบเชื้อบนใบมะนาวเมื่อใช้สารสกัดมะขามหลังจากปลูกเชื้อ เป็นเวลา 7 วัน (ตารางที่ 7) และเมื่อศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด พบว่า บนใบมะนาวที่มีการใช้สารสกัดมะขามมีเซลล์แบคทีเรียจำนวนน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับใบมะนาวที่ไม่ใช้สารสกัด และเซลล์แบคทีเรียที่พบมีรูปร่างลักษณะที่เปลี่ยนไปหลังจากการทดสอบ 7 วัน

การศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการฉีดพ่นสารสกัดหลังจากเชื้อเข้าสู่พืช

จากการทดลองฉีดพ่นสารสกัดหลังการปลูกเชื้อ 0, 3 และ 5 วัน พบว่าเมื่อทำการฉีดพ่นสารสกัดหลังการปลูกเชื้อ 0 วัน ทำให้การเกิดโรคน้อยที่สุดโดยมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเท่ากับ 16.96 % โดยให้ผลแตกต่างกับการใช้สารสกัดฉีดพ่นหลังการปลูกเชื้อ 3 และ 5 วัน และการไม่ฉีดพ่นสารสกัด อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 8) การปลูกเชื้อโดยไม่มีการฉีดพ่นสารสกัด ทำให้พืชเป็นโรค 100 % ให้ผลแตกต่างจากการใช้สารสกัดฉีดพ่นหลังการปลูกเชื้อ 0 และ 5 วัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แม้ว่าการฉีดพ่นสารสกัดหลังการปลูกเชื้อ 3 วัน สามารถยับยั้งการเกิดโรคได้ 17.70 % แต่ผลที่ได้ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับการไม่ฉีดพ่นสารสกัด ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเท่ากับ 100%

การเปลี่ยนแปลงปริมาณเชื้อเมื่อฉีดพ่นสารสกัดหลังการปลูกเชื้อ 0, 3 และ 5 วัน พบว่าการเปลี่ยนแปลงปริมาณเชื้อหลังการปลูกเชื้อ 7 วัน ในทุกการทดสอบ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ การเปลี่ยนแปลงปริมาณเชื้อหลังการปลูกเชื้อ 14 วัน ให้ผลแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ โดยเมื่อทำการฉีดพ่นสารสกัดหลังการปลูกเชื้อ 0 วัน พบปริมาณเชื้อต่ำที่สุด เท่ากับ 7.4×10^4 cfu/จุดแผล เมื่อทำการฉีดพ่นสารสกัดหลังการปลูกเชื้อ 3 และ 5 วัน พบปริมาณเชื้อ เท่ากับ 2.08×10^7 และ 7.2×10^6 cfu/จุดแผล ปริมาณเชื้อที่พบเมื่อมีการฉีดพ่นสารสกัดหลังการปลูกเชื้อ 0 วัน มีปริมาณเชื้อแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับปริมาณเชื้อที่พบเมื่อมีการฉีดพ่นสารสกัดหลังการปลูกเชื้อ 3 วัน และเมื่อไม่มีการฉีดพ่นสารสกัด แต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับปริมาณเชื้อที่พบเมื่อมีการฉีดพ่นสารสกัดหลังการปลูกเชื้อ 5 วัน (ตารางที่ 9)

ได้ทำการทดลองเพิ่มช่วงระยะการฉีดพ่นสารสกัด โดยการฉีดพ่นสารสกัดหลังการปลูกเชื้อ 1 และ 2 วัน พบว่าการฉีดพ่นสารสกัดหลังการปลูกเชื้อ 1 และ 2 วัน ให้ผลแตกต่างกัน และต่างกับการไม่ฉีดพ่นสารสกัดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 10) การฉีดพ่นสารสกัดหลังการปลูกเชื้อ 1 และ 2 วัน พบพืชเป็นโรค 28 และ 50 % ตามลำดับ ถ้าไม่มีการฉีดพ่นสารสกัด พบว่าพืชเป็นโรค 100% หลังการปลูกเชื้อ 21 วัน

การศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดในการควบคุมการแพร่ระบาดของโรค

เมื่อทำการฉีดพ่นสารสกัดทุกๆ 7 วัน หลังจากพืชเป็นโรค 100 % จากที่ได้ทำการปลูกเชื้อไว้ 20 จุดผลต่อต้น พบว่าหลังการฉีดพ่นสารสกัด 2 ครั้ง เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเมื่อมีการใช้และไม่ใช้สารสกัดฉีดพ่นบนใบที่ไม่ได้ทำการปลูกเชื้อ ให้ผลไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่หลังจากการฉีดพ่นสารสกัดพืช 3 และ 4 ครั้ง พบว่า เปอร์เซ็นต์การเกิดโรค มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ(ตารางที่ 11) โดยเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเมื่อไม่มีการใช้สารสกัดพืช มีเปอร์เซ็นต์สูงกว่าเมื่อมีการใช้สารสกัดพืชฉีดพ่น

การศึกษาระดับความเข้มข้นของสารสกัดที่มีผลต่อการเจริญของเชื้อ

การศึกษาระดับความเข้มข้นของสารสกัดที่มีผลต่อการเจริญของเชื้อโดยการตรวจดูความขุ่นเพื่อหาระดับความเข้มข้นของสารต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ (minimal inhibitory concentration; MIC) พบว่า สารสกัดมะขามมีค่า MIC ที่ระดับปริมาณสารสกัด 1:32 และเมื่อตรวจหาปริมาณเชื้อโดยวิธี spread plate บนอาหารNGA เพื่อหาระดับความเข้มข้นของสารต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อได้ทั้งหมด (minimal bactericidal concentration; MBC) พบว่า สารสกัดมะขามมีค่า MBC ที่ระดับปริมาณสารสกัด 1:4

การศึกษาประสิทธิภาพของสารออกฤทธิ์ และความคงทนต่ออุณหภูมิของสารสกัดมะขาม

จากการทดลองปรับระดับความเป็นกรด-ด่างของสารสกัดที่เตรียมในอัตราส่วน 1:2 แล้วทำการทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของเชื้อโดยวิธี paper disc diffusion พบว่าสารสกัดที่มีค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 7 และ 11 ไม่แสดงผลยับยั้งการเจริญของเชื้อ สารสกัดจากมะขามที่ไม่ได้ปรับค่าความเป็นกรด-ด่างแสดงผลยับยั้งการเจริญของเชื้อ และเมื่อทำการเจือจางสารสกัดแล้วตรวจวัดความเป็นกรด-ด่างของสารสกัดที่แต่ละความเข้มข้น ผลการทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของเชื้อโดยวิธี paper disc diffusion พบว่าความกว้างของบริเวณใสเมื่อใช้สารสกัดที่เตรียมในอัตราส่วน 1:2, 1:5 และ 1:10 เท่ากับ 5.6, 3.7 และ 1.7 ตามลำดับ

เมื่อนำน้ำคั้นสกัดมะขามไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20°C เป็นเวลา 1 เดือน และนำอีกส่วนไปหนึ่งที่อุณหภูมิ 121°C เป็นเวลา 15 นาที แล้วทำการทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของเชื้อโดยวิธี paper disc diffusion พบว่า สารสกัดยังคงประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ

การศึกษาพันธุ์มะขาม และอุณหภูมิในการเก็บรักษา

เมื่อนำมะขาม 2 พันธุ์ คือ มะขามเปรี้ยว(ซึ่งใช้ในทุกการทดลอง) และ มะขามหวานพันธุ์สีทอง เตรียมเป็นสารสกัด แล้วทำการทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของเชื้อโดยวิธี paper disc diffusion พบว่าเฉพาะมะขามเปรี้ยวที่แสดงปฏิกิริยายับยั้งการเจริญของเชื้อ

เมื่อนำมะขามเก็บรักษาไว้ในสภาพอุณหภูมิห้อง(อุณหภูมิประมาณ 28°C) และเก็บไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4°C นำมาทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของเชื้อโดยวิธี paper disc

diffusion เดือนละครั้ง เป็นเวลา 12 เดือน พบว่า สารสกัดที่เตรียมจากมะขามที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ และระยะเวลาการเก็บรักษาต่างๆยังคงประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ

การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดมะขามในการควบคุมโรคแคงเกอร์มะนาว ในสภาพแปลงทดลอง

จากการศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดมะขาม ในการควบคุมโรคแคงเกอร์ที่เกิดขึ้นเอง ตามธรรมชาติกับต้นมะนาวแป้นอายุ 3 ปี โดยทำการฉีดพ่นสารสกัดมะขามทุกๆ 7 วัน พบว่าในช่วงเริ่มการทดลอง(เดือน มกราคม) มะนาวเป็นโรคแคงเกอร์เพียงเล็กน้อยโดยเฉลี่ยทุกต้นไม่เกิน 20 ใบต่อต้น เนื่องจากเป็นช่วงฤดูกาลที่ไม่เหมาะต่อการเกิดโรค จึงทำการทดลองจนถึงฤดูฝน (เดือนสิงหาคม) เมื่อตรวจนับจำนวนใบทั้งต้นพบว่าต้นมะนาวที่มีการใช้สารสกัดฉีดพ่นมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคแตกต่างจากต้นที่ไม่ใช้สารสกัดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ(ตารางที่ 12) โดยเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคของมะนาวที่ทำการฉีดพ่นสารสกัดเท่ากับ 3.59 % มะนาวที่ไม่ได้ฉีดพ่นสารสกัดเป็นโรค 9.53 % สำหรับเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรคไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ รายละเอียดผลการทดลองแสดงไว้ในตารางที่ 13

ตารางที่ 7 ปริมาณเชื้อ *Xanthomonas campestris* pv. *citri* บนใบมะนาว เมื่อใช้สารสกัดมะขามในการควบคุมโรคแคงเกอร์ ด้วยวิธี detached leaf

กรรมวิธี	ปริมาณเชื้อ(CFU/จุดแผล)		
	0 วัน	7 วัน	15 วัน
ปลูกเชื้อ	2.8×10^8	1.6×10^6	1.8×10^7
ปลูกเชื้อ/สารสกัดพืช	8.5×10^8	0	0

ตารางที่ 8 ประสิทธิภาพของสารสกัดมะขามในการควบคุมโรคแคงเกอร์ของมะนาวหลังการปลูกเชื้อ 21 วัน โดยทำการฉีดพ่นสารสกัดหลังการปลูกเชื้อ 0, 3 และ 5 วัน

การทดลอง	%การเกิดโรค ^{1/}	%การยับยั้งการเกิดโรค ^{2/}
ปลูกเชื้อและไม่ฉีดพ่นสารสกัด (control)	100 a ^{3/}	0 cd ^{3/}
ปลูกเชื้อและฉีดพ่นสารสกัดหลังปลูกเชื้อ 0วัน	16.96 c	83.04 a
ปลูกเชื้อและฉีดพ่นสารสกัดหลังปลูกเชื้อ 3วัน	82.30 ab	17.70 bc
ปลูกเชื้อและฉีดพ่นสารสกัดหลังปลูกเชื้อ 5วัน	66.94 b	33.06 b

1/ % การเกิดโรค = $\frac{\text{จำนวนจุดแผลที่เป็นโรค}}{\text{จำนวนจุดที่ทำการปลูกเชื้อ}} \times 100$

2/ % การยับยั้งการเกิดโรค = $\frac{\text{จำนวนจุดแผลที่ไม่เป็นโรค}}{\text{จำนวนจุดที่ทำการปลูกเชื้อ}} \times 100$ หรือ = $100 - \text{\%การเกิดโรค}$

3/ อักษรที่แตกต่างกันในแนวดิ่งแสดงว่าค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p < 0.05$)

ตารางที่ 9 การเปลี่ยนแปลงปริมาณเชื้อ *Xanthomonas campestris* pv. *citri* สายพันธุ์ Xci12 Strep^R หลังการปลูกเชื้อ 7 และ 14 วัน เมื่อทำการฉีดพ่นสารสกัดหลังการปลูกเชื้อ 0, 3 และ 5 วัน

การทดลอง	ปริมาณเชื้อ (CFU/lesion)	
	7วัน	14 วัน
ปลูกเชื้อและไม่ฉีดพ่นสารสกัด(control)	1.89×10^7	2.43×10^7 a ^{1/}
ปลูกเชื้อและฉีดพ่นสารสกัดหลังปลูกเชื้อ 0วัน	4.63×10^4	7.4×10^4 d
ปลูกเชื้อและฉีดพ่นสารสกัดหลังปลูกเชื้อ 3วัน	3.13×10^6	2.08×10^7 abc
ปลูกเชื้อและฉีดพ่นสารสกัดหลังปลูกเชื้อ 5วัน	1.58×10^6	7.2×10^6 cd

1/ อักษรที่แตกต่างกันในแนวดิ่งแสดงว่าค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p < 0.05$)

ตารางที่ 10 ประสิทธิภาพของสารสกัดมะขามในการควบคุมโรคแคงเกอร์ของมะนาวหลังการปลูกเชื้อ 21 วัน โดยทำการฉีดพ่นสารสกัดหลังการปลูกเชื้อ 0 และ 2 วัน

การทดลอง	%การเกิดโรค
ปลูกเชื้อและไม่ฉีดพ่นสารสกัด (control)	100 a ^{1/}
ปลูกเชื้อและฉีดพ่นสารสกัดหลังปลูกเชื้อ 0 วัน	28 c
ปลูกเชื้อและฉีดพ่นสารสกัดหลังปลูกเชื้อ 2 วัน	50 b

1/ อักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้งแสดงว่าค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p < 0.05$)

ตารางที่ 11 ประสิทธิภาพของสารสกัดมะขามในการควบคุมการระบาดของโรคแคงเกอร์มะนาวหลังจากใบที่ทำการปลูกเชื้อเป็นโรค 100% โดยทำการฉีดพ่นสารสกัด ทุกๆ 7 วัน

การทดลอง	%การเกิดโรค ^{1/}		
	หลังการฉีดพ่น 2 ครั้ง	หลังการฉีดพ่น 3 ครั้ง	หลังการฉีดพ่น 4 ครั้ง
ปลูกเชื้อ/ไม่ใช้สารสกัด	5.10 a ^{2/}	5.83 a	6.26 a
ปลูกเชื้อ/ใช้สารสกัด	1.69 a	1.11 b	1.15 b

1/ ตรวจนับจากใบที่ไม่ได้ทำการปลูกเชื้อ

2/ อักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้งแสดงว่าค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p < 0.05$)

ตารางที่ 12 ประสิทธิภาพของสารสกัดมะขามในการควบคุมโรคแคงเกอร์มะนาวในสภาพแปลง

การทดลอง	เส้นผ่าศูนย์กลางลำต้น (mm)	จำนวนใบทั้งต้น	%ความรุนแรงของโรค	%การเกิดโรค
ใช้สารสกัด	47.13	6176.25	2.10	3.59 b ^{1/}
ไม่ใช้สารสกัด	49.88	7824.50	5.21	9.53 a

1/ อักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้งแสดงว่าค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p < 0.05$)

ตารางที่ 13 ประสิทธิภาพของสารสกัดมะขามในการควบคุมโรคแดงเกอร์มะนาวในสภาพแปลง
(แสดงข้อมูลในรายละเอียด)

Treatment ^{1/}	เส้นผ่าศูนย์กลางโคนต้น (mm)	จำนวนใบทั้งหมด	จำนวนใบที่เป็นโรคระดับอาการต่างๆ ^{2/}					% ความรุนแรงของโรค ^{3/}	% การเกิดโรค ^{4/}
			0	1	2	3	รวมใบที่เป็นโรค		
T1 R1	56	5,841	5,661	122	19	39	180	1.58	3.10
T1 R2	48.5	7,078	6,827	124	1	126	251	2.37	3.55
T1 R3	39	6,827	6,552	168	7	100	275	2.35	4.03
T1 R4	45	4,959	4,777	111	11	60	182	2.10	3.67
T2 R1	47.5	7,465	6,936	345	10	174	529	3.88	7.09
T2 R2	51	8,910	7,968	599	32	311	942	5.97	10.57
T2 R3	63	8,772	7,996	476	25	275	776	5.13	8.85
T2 R4	38	6,151	5,438	514	30	169	713	5.86	11.59

1/ T1 การทดลองฉีดพ่นสารสกัด

T2 การทดลองไม่ฉีดพ่นสารสกัด

R1-R4 การทดลองซ้ำที่ 1 ถึง 4

2/ ระดับอาการโรค

0 = จำนวนจุดแผล 0 จุด ต่อใบ

1 = จำนวนจุดแผล 1-5 จุด ต่อใบ

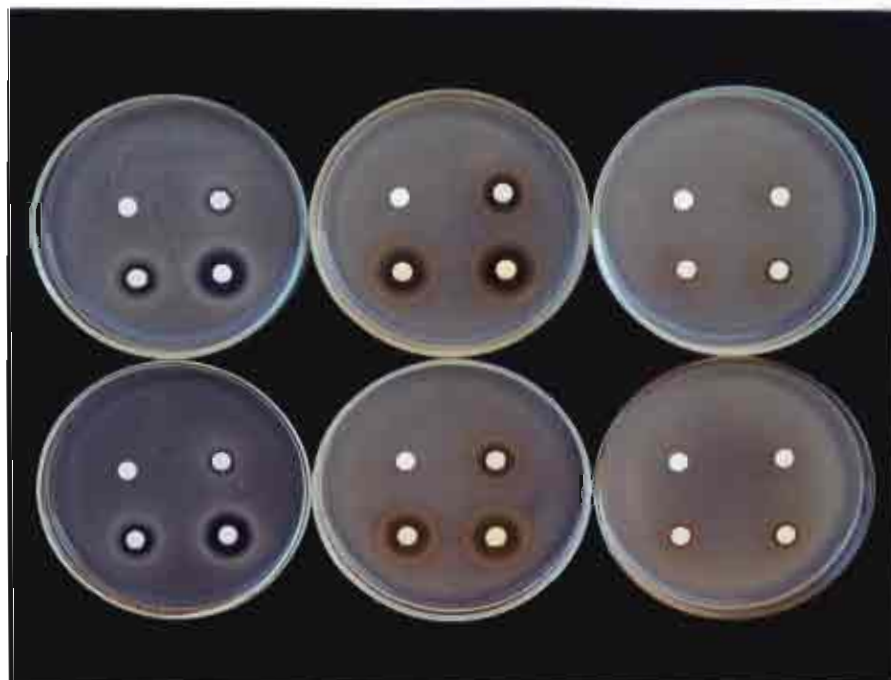
2 = จำนวนจุดแผล 6-20 จุด ต่อใบ

3 = จำนวนจุดแผล มากกว่า 20 จุด ต่อใบ

3/ % ความรุนแรงของโรค

= $\frac{\text{ผลรวมของผลคูณระหว่างระดับอาการโรคกับจำนวนใบที่แสดงอาการโรคในแต่ละระดับ} \times 100}{\text{จำนวนระดับอาการโรค} \times \text{จำนวนใบทั้งหมด}}$

4/ % การเกิดโรค = $\frac{\text{จำนวนใบที่เป็นโรค} \times 100}{\text{จำนวนใบทั้งหมด}}$



ภาพที่ 1 การทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อโดยวิธี paper disc diffusion



ภาพที่ 2 การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืชสมุนไพรในการควบคุมโรคแคงเกอร์มะนาว ในสภาพโรงเรือนโดยการฉีดพ่นสารสกัด และปลูกเชื้อโดยใช้เข็มฉีดยาแทงบนใบพร้อมทั้งหยดเชื้อ ลงบนแผล(ซ้ายมือ) ทำการทดลองเปรียบเทียบรอยแผลที่ปรากฏโดยใช้เข็มฉีดยาทำให้เกิดแผลแต่ ไม่ใส่เชื้อ(ขวามือ)โดยอยู่บนใบเดียวกัน รูปซ้ายเป็นใบที่ปลูกเชื้อและไม่ฉีดพ่นสารสกัด รูปขวาเป็น ใบที่ปลูกเชื้อและฉีดพ่นสารสกัด



ภาพที่ 3 การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืชสมุนไพรในการควบคุมโรคแคงเกอร์มะนาว ในสภาพแปลง รูปบน:ใบที่เกิดโรคขึ้นเองตามธรรมชาติโดยไม่มีการฉีดพ่นสารสกัด รูปกลาง:ใบที่มีการฉีดพ่นสารสกัดทุกๆ 7 วัน การเกิดโรคลดลงแต่พบการแห้งตาย และรา saprophyte บนใบ รูปล่าง:ขยายให้เห็นลักษณะของราบนใบมะนาว

บทวิจารณ์

การคัดเลือกพืชสมุนไพรเพื่อนำมาใช้ในการควบคุมโรคพืชที่สำคัญในประเทศไทย โดยใช้วิธี paper disc diffusion ซึ่งเป็นวิธีที่ใช้ในการศึกษาทางด้านแบคทีเรีย มีพืชสมุนไพร 13 ชนิด ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคพืช 13 สายพันธุ์ โดยพืชแต่ละชนิดมักจะ สามารถยับยั้งเชื้อโรคได้หลายชนิดหรือหลายสกุล เช่นเดียวกับที่มีรายงานไว้(Grainge,1987;Small และคณะ,1964) แสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากพืชมีฤทธิ์กว้างในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ การนำพืชสมุนไพรมาทดสอบการควบคุมโรคได้เลือกทดลองกับโรคแคงเกอร์มะนาว ซึ่งเป็นโรคหนึ่งที่มีความสำคัญ เกิดจากแบคทีเรีย *Xanthomonas campestris* pv.*citri* พืชที่เป็นโรคแสดงอาการแผลแห้งตายเป็นสีน้ำตาลนูนขึ้นจากผิวใบ โดยปรากฏอาการที่ใบ กิ่งก้าน ลำต้น และผล(Hartung และ Civerolo,1989) พืชตระกูลส้มในประเทศไทยที่มีรายงานว่า เป็นโรคแคงเกอร์ ได้แก่ มะนาว มะกรูด ส้มโอ ส้มKing Mandarin ส้มเขียวหวาน และส้มเกลี้ยง ส้มตรา(พัฒนา และคณะ,2537) โรคแคงเกอร์ระบาดไปทั่วประเทศและมีความรุนแรงในช่วงฤดูฝน มะนาวเป็นพืชตระกูลส้มที่เป็นโรครุนแรงที่สุด โดยเฉพาะมะนาวแป้นซึ่งเป็นที่ต้องการในตลาด การปลูกมะนาวใน1-3 ปีแรก เกษตรกรจะใช้สารประกอบคอปเปอร์ ฉีดพ่นสัปดาห์ละ 2 ครั้ง และสัปดาห์ละ 1 ครั้งหลังจากนั้น แสดงให้เห็นว่ามีการใช้สารเคมีจำนวนมากซึ่งผลกระทบที่เกิดขึ้นอย่างแน่นอนคือปัญหาการดื้อยาหรือการต้านทานของแบคทีเรียโดยเฉพาะการต้านทานสารประกอบคอปเปอร์ที่มีรายงานไว้(ณัฐจิมา,2534;Cooksey, 1990) การใช้สารสกัดจากพืชนับว่าเป็นแนวทางหนึ่งเพื่อทดแทนสารเคมีที่มีการใช้เป็นจำนวนมาก ในการทดลองนำสารสกัดจากพืชมาใช้ควบคุมโรคแคงเกอร์มะนาว เนื่องจากพืชมีแสดงประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อมีมากถึง 13ชนิด จึงได้ทำการทดสอบเบื้องต้นในห้องปฏิบัติการ โดยวิธี detached leaf พบว่าสารสกัดพืชทั้ง 13ชนิด สามารถลดการเกิดโรคได้แตกต่างกันไป โดยมีสารสกัดพืช 9 ชนิด สามารถยับยั้งการเกิดโรคได้มากกว่า 75 เปอร์เซ็นต์ เมื่อใช้สารสกัดหลังการปลูกเชื้อ และสารสกัดพืช 10 ชนิด สามารถยับยั้งการเกิดโรคได้มากกว่า 75 เปอร์เซ็นต์เมื่อใช้สารสกัดก่อนการปลูกเชื้อ เมื่อนำสารสกัดมาทดสอบกับมะนาวในสภาพโรงเรือน โดยเลือกใช้สารสกัดพืช 5 ชนิด พบว่าสารสกัดพืชทั้ง 5 ชนิดมีประสิทธิภาพลดลง โดยสารสกัดมะขามมีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคดีที่สุดหลังจากการฉีดพ่น2ครั้ง การที่สารสกัดพืชมีประสิทธิภาพลดลง เนื่องจากปริมาณสารที่ลดลงจากการใช้ที่อัตราส่วน1ต่อ2 เป็น1ต่อ5 ซึ่งผลการทดลองเกี่ยวกับปัจจัยในการใช้สารสกัดมะขาม การหาค่าMIC และ MBCของสารสกัดมะขาม แสดงให้เห็นว่าการนำสารสกัดไปใช้จะต้องเตรียมสารสกัดในอัตราส่วน1ต่อ4 จึงสามารถฆ่าเชื้อได้ทั้งหมด

การศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดมะขามในการควบคุมโรคแคงเกอร์ในสภาพแปลงทดลอง โดยการฉีดพ่นสารสกัดทุกๆ7วัน ทำการประเมินโรคโดยนับใบที่เป็นโรคเพื่อหาเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค และนับจำนวนจุดแผลบนใบที่เป็นโรคเพื่อหาเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรค การประเมินโรคในแปลงในช่วงเริ่มต้นการทดลองทำการประเมินโดยการสุมนับใบที่เป็นโรค เมื่อสิ้นสุดการทดลองทำการตรวจเช็คโรคและนับใบทั้งต้น เพื่อให้เกิดความผิดพลาดน้อยที่สุด จึงตัดใบทั้งต้น

มาตรวจนับ ผลการทดลองพบว่า การใช้สารสกัดมะขามทำให้เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคลดลง และแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับต้นเปรียบเทียบ(control) ซึ่งไม่ได้ฉีดพ่นสารสกัดพืช โดยเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเมื่อมีการฉีดพ่นสารสกัดมีค่าเท่ากับ 3.59 และเมื่อไม่มีการฉีดพ่นสารสกัดมีค่าเท่ากับ 9.53 เมื่อเปรียบเทียบความรุนแรงของโรคที่เกิดขึ้นบนใบที่เป็นโรค พบว่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ในการใช้สารสกัดมะขามแล้วพืชยังคงปรากฏโรคเนื่องจากสารสกัดมะขามจะสามารถควบคุมโรคได้ดีที่สุดเมื่อทำการฉีดพ่นได้เร็วที่สุดหลังจากที่เชื้อสัมผัสกับพืช ซึ่งเป็นข้อมูลที่ได้จากการศึกษาปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการใช้สารสกัดมะขามควบคุมโรค อย่างไรก็ตามในการทดลองการแพร่ระบาดของโรคแสดงให้เห็นว่าสารสกัดมะขามทำให้การระบาดของโรคน้อยลง ผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นศักยภาพการนำสารสกัดจากพืชมาใช้ควบคุมโรค นอกจากประสิทธิภาพในการควบคุมโรคแล้ว ยังมีความสะดวกในการใช้ และไม่มีปัญหาการขาดแคลนวัตถุดิบแม้ว่ามะขามจะให้ผลผลิตเพียงปีละครั้ง เพราะจากการทดลองแสดงให้เห็นว่าสามารถเก็บมะขามไว้ใช้ได้ตลอดทั้งปีในอุณหภูมิห้อง

ปัญหาในการนำสารสกัดมะขามมาใช้ควบคุมโรคแคงเกอร์มะนาวคือ การตายของเนื้อเยื่อพืชบริเวณที่สารสกัดค้างขังอยู่ ซึ่งต้องแก้ปัญหาที่วิธีการฉีดพ่น และปัญหาสำคัญที่พบคือการเกิดเชื้อราพวกsaprophyteบนใบเป็นจำนวนมาก จึงควรมีการศึกษาแก้ปัญหาดังกล่าว หรือทำการทดลองใช้สารสกัดพืชชนิดอื่นๆทดแทน หรือร่วมกันต่อไป

เอกสารอ้างอิง

- ชลิดา เล็กสมบูรณ์ นิพนธ์ ทวีชัย และวิชัย โฆสิตรัตน์. 2534ก. โรคใบจุดแบคทีเรียของ
ผักบุ้งจีน.ประชุมวิชาการ ครั้งที่ 29 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ , กรุงเทพฯ. วันที่ 4-7
กุมภาพันธ์ 2534. หน้า277-283.
- ชลิดา เล็กสมบูรณ์ นิพนธ์ ทวีชัย และสุรพล ยินอัสวพรรณ.2534ข. การปรากฏโรคแบคทีเรียใบ
จุดของงาในประเทศไทย. วารสารโรคพืช 11:1-8.
- ณัฐริมา บุญวัฒน์.2534.บทบาทของพลาสมิด ดี เอ็น เอ ของเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคแคงเกอร์
ของส้ม (*Xanthomonas campestris* pv. *citri* (Hasse)Dye) ต่อการต้านทานสารเคมี
ควบคุมโรคพืชประเภททองแดง.วิทยานิพนธ์ปริญญาโท.มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์,
กรุงเทพฯ.
- ปริญญา จันทศรี. 2532. การเปลี่ยนแปลงประชากรและการถูกทำลายของเชื้อ soft rot erwinias
ที่ได้จากแปลงปลูกหัวพันธุ์มันฝรั่ง ในบริเวณดอยอ่างขาง. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- พัฒนา สนธิรัตน์, ประไพศรี พิทักษ์ไพรวรรณ, ธนวัฒน์ กำแหงฤทธิรงค์, วิรัช ชูบำรุง, และอุบล
คือประโคน.2537.ดรรชนีโรคพืชในประเทศไทย.กลุ่มงานวิทยาไมโค กองโรคพืชและ
จุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร.พิมพ์ที่ สหมิตรพรินติ้ง,นนทบุรี.285น.
- Cooksey,D.A. 1990. Genetics of bactericide resistance in plant pathogenic bacteria
Annu.Rev.Phytopathol.28:201-219.
- Grainge, M.D. and A.M. Alvarez.1987. Antibacterial and antifungal activity of *Artabotrys*
hexapetalus leaf extracts. International-Journal-of-Tropical- Plant-Disease 5(2):
173-179 .
- Hartung, J.S. and E.L.Civerolo.1989. Restriction fragment length polymorphisms
distinguish *Xanthomonas campestris* strains isolated from florida citrus nurseries
from *Xanthomonas campestris* pv. *citri*.Phytopathology 79:793-799.
- Leksomboon, C. 1994. Investigation on bacterial wilt resistance of tomato and
Molecular cloning of hypersensitive reaction and pathogeneticity genes of
Pseudomonas solanacearum. Ph.D.Thesis Kasetsart University, Bangkok.
- Small, B.C., R.A. Wilson and H.L. Keil. 1964. A survey of green plants for antimicrobial
substances. Phytopathology 54:748. (Abstract)

Output

1.ผลงานการตีพิมพ์วารสาร

ชลิดา เล็กสมบูรณ์, นิพนธ์ ทวีชัย, วิชัย โฉมรัตน์, และยิ่งยง ไพสุขตานติวัฒนา.2543.ฤทธิ์
ต้านเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคพืชของสารสกัดจากพืชสมุนไพร.วารสารวิทยาศาสตร์
54:91-97.

ชลิดา เล็กสมบูรณ์, นิพนธ์ ทวีชัย, วิชัย โฉมรัตน์, และยิ่งยง ไพสุขตานติวัฒนา.2543.การควบคุม
โรคแคงเกอร์มะนาวด้วยสารสกัดจากพืชสมุนไพร.วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร (in press)

2.นำเสนอผลงานวิจัยในประชุมวิชาการ ครั้งที่ 36 ณ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ

ชลิดา เล็กสมบูรณ์, นิพนธ์ ทวีชัย, และวิชัย โฉมรัตน์.2541.ผลของสารสกัดจากพืชสมุนไพร
ไทยต่อการเจริญของแบคทีเรียสาเหตุโรคพืช.ในรายงานการประชุมทางวิชาการครั้งที่36,
3-5 กุมภาพันธ์ 2541มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์,กรุงเทพฯ.

ภาคผนวก

กิจกรรมอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้อง ได้แก่

1. ได้รับเชิญไปเสนอผลงานในรายการ 92 สนทนา ทางวิทยุศึกษา F.M. 92 M.Hz. และ A.M. 1161 H.Hz. ที่อาคารศูนย์เทคโนโลยีทางการศึกษา ถนนศรีอยุธยา เขตราชเทวี กรุงเทพฯ 10400 วันที่ 12 มีนาคม 2541 เวลา 10.00-11.00 น.
2. นำเสนอในนิทรรศการ งานเกษตรแห่งชาติ พ.ศ.2542 ณ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน กรุงเทพฯ
- 3.ให้นำเสนอในนิทรรศการ งานเกษตร กำแพงแสน พ.ศ.2543 ณ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ อำเภอกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม
4. นำไปสอนในวิชาหลักการควบคุมโรคพืช รหัสวิชา008371 สำหรับระดับปริญญาตรี 3หน่วยกิต

Output

ชลิดา เล็กสมบูรณ์, นิพนธ์ ทวีชัย, และวิชัย ไชยรัตน์.2541.ผลของสารสกัดจากพืชสมุนไพรไทยต่อการเจริญของแบคทีเรียสาเหตุโรคพืช.ในรายงานการประชุมทางวิชาการครั้งที่36, 3-5 กุมภาพันธ์ 2541มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์,กรุงเทพฯ.