



ขอรับรองว่าผลงานวิจัย

เรื่อง

ผลของสารสกัดจากพืชสมุนไพรไทยต่อการเจริญของแบคทีเรียสาเหตุโรคพืช

โดย

ชลิดา เล็กสมบูรณ์ นิพนธ์ ทวีชัย และ วิชัย โหมสินรัตน์

ได้ผ่านการพิจารณาจากคณะกรรมการผู้ทรงคุณวุฒิให้นำเสนอในการประชุมทางวิชาการ
ของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 36 สาขาพืช
ระหว่าง วันที่ 3 - 5 กุมภาพันธ์ 2541

(ศาสตราจารย์ สมเพียร เกษมทรัพย์)

รองอธิการบดีฝ่ายวิชาการ

ประธานคณะกรรมการดำเนินการจัดการประชุมทางวิชาการ ครั้งที่ 36

ผลของสารสกัดจากพืชสมุนไพรไทยต่อการเจริญของแบคทีเรียสาเหตุโรคพืช

Effect of Thai Medicinal Plant Extracts on Growth of Phytopathogenic Bacteria

ชลิดา เล็กสมบุญ นิพนธ์ ทวีชัย และ วิชัย โพลิตรัตน์

Chalida Leksomboon, Niphone Thaveechai and Wichai Kositratana

บทคัดย่อ

สารสกัดของพืชสมุนไพรไทย 8 ชนิด คือ เสลดพังพอนตัวเมีย (*Clinacanthus nutans*), ทองพันชั่ง (*Rhinacanthus nasutus*), สาบเสือ (*Eupatorium odoratum*), พะยอม (*Shorea roxburghii*), เปล้าใหญ่ (*Croton oblongifolius*), กระเจียนแดง (*Hibiscus subdariffa*), ฝรั่ง (*Psidium guajava*) และ ขะพู่ (*Piper sarmentosum*) ได้มาจากการสกัดเนื้อเยื่อใบด้วยน้ำในอัตราส่วน 1:2 ของน้ำหนักสด (กรัม) ต่อปริมาตร (มิลลิลิตร) ยกเว้น *S. roxburghii* สกัดมาจากส่วนเนื้อเยื่อส่วนลำต้น ในอัตราส่วน 1:10 ของน้ำหนักแห้ง (กรัม) ต่อปริมาตร (มิลลิลิตร) นำสารสกัดของพืชดังกล่าวมาทดสอบ การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคพืช 12 สายพันธุ์ ในสภาพห้องทดลอง โดยใช้วิธี paper disc diffusion บนอาหาร Nutrient agar สารสกัดของพืช 3 ชนิด ได้แก่ ฝรั่ง, พะยอม และกระเจียนแดงเท่านั้นที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียที่ทดสอบ โดยที่สารสกัดของฝรั่งมีประสิทธิภาพสูงสุด และกระเจียนแดงมีประสิทธิภาพต่ำสุด สารสกัดของฝรั่งยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียได้ทุกสายพันธุ์ แต่สารสกัดของพะยอมมีประสิทธิภาพในการยับยั้งได้คลี่กับเชื้อ *X. campestris* เกือบทุก pathovar เมื่อเพิ่มปริมาณของสารสกัดให้สูงขึ้น ความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียจะเพิ่มขึ้นด้วย

ABSTRACT

Eight Thai medicinal plant extracts were prepared from *Clinacanthus* (*Clinacanthus nutans*), *Rhinacanthus* (*Rhinacanthus nasutus*), Bitter bush (*Eupatorium odoratum*), Phayom (*Shorea roxburghii*), Plau-Yai (*Croton oblongifolius*), Roselle (*Hibiscus subdariffa*), Guava (*Psidium guajava*) and Wildbetel leafbush (*Piper sarmentosum*) by extraction leaf tissues with water at 1:2 ratio of fresh weight by volume except extract of *S. roxburghii* was from stem tissues in water at 1:10 ratio of dry weight by volume. The crude plant extracts were performed growth inhibition activity against 12 strains of phytopathogenic bacteria by *in vitro* paper disc diffusion method on Nutrient agar medium. Only 3 extracts from *P. guajava*, *S. roxburghii* and *H. subdariffa* had growth inhibition on tested bacteria in which *P. guajava* was the most effective and *M. subdariffa* was the lowest effective. Extract of *P. guajava* inhibited growth of all bacterial strains whereas extract of *S. roxburghii* performed good inhibition to almost pathovars of *X. campestris*. The more volume of plant extracts the more inhibition on the bacteria growth was usually observed.

พืชสมุนไพรไทย เป็นพืชที่คนไทยรู้จักและนำมาใช้เป็นยารักษาโรคมาแต่โบราณ แต่ความนิยมในการใช้พืชสมุนไพรรักษาโรคนั้นค่อยๆ ลดลงไป เมื่อมีการนำวิธีการรักษาโรคแบบประเทศทางตะวันตกมาใช้ เนื่องจากยาแผนปัจจุบันให้ผลในการรักษาโรคได้รวดเร็ว และรูปแบบของยาสะดวกในการใช้ ปัจจุบันยาสมุนไพรเริ่มกลับมาได้รับความนิยม ทั้งนี้เนื่องจากเหตุผลทางด้านเศรษฐกิจ สิ่งแวดล้อม และที่สำคัญคือประสิทธิภาพของตัวยาในพืชสมุนไพรที่เป็นสารเคมีธรรมชาติ มีอันตรายน้อยและไม่ค่อยมีผลข้างเคียง ฉะนั้นคงไม่เป็นการยากเกินไปที่จะกลับมารื้อฟื้นการใช้ยาสมุนไพรไทยในการรักษาโรคทั้งในด้านแหล่งทรัพยากรวัตถุดิบด้านพืชพันธุ์และทรัพยากรบุคคลผู้ที่มีความรู้ด้านการรักษาโรคแบบดั้งเดิม

พืชคล้ายกับมนุษย์ คือ มีโรคคุกคาม เกิดได้จากหลายสาเหตุ ทั้งจากสิ่งมีชีวิตและสิ่งไม่มีชีวิต แบคทีเรียเป็นจุลินทรีย์ชนิดหนึ่งที่สามารถก่อให้เกิดโรคกับพืช ในประเทศไทยพบระบาดทั่วไปตามแหล่งเพาะปลูกพืชชนิดต่าง ๆ เนื่องจากประเทศไทยมีสภาพภูมิอากาศเหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย โดยพบว่าพืชที่เป็นโรคจากแบคทีเรียมากกว่า 60 ชนิด (พัฒนา และคณะ, 2537) การใช้สารเคมีหรือสารปฏิชีวนะเพื่อป้องกันกำจัดโรคพืชจากเชื้อแบคทีเรีย เป็นวิธีการที่รู้จักและนิยมใช้กันอย่างแพร่หลาย แต่สารเคมีเหล่านี้จะมีผลทำลายสภาพแวดล้อมเป็นอย่างมาก (FAO, 1978) โดยมีผลกระทบทั้งในสิ่งแวดล้อม ดิน และน้ำ นอกจากนี้ยังก่อให้เกิดปัญหาการดื้อสารเคมีของเชื้อสาเหตุโรคพืชอีกประการหนึ่ง โดยเฉพาะเชื้อแบคทีเรียจะดื้อสารเคมีได้ง่าย เนื่องจากการเจริญพันธุ์รวดเร็ว ใช้เวลาสั้นในการทวีจำนวน และมีการสืบพันธุ์ที่ส่งเสริมให้เกิดการดื้อสารเคมีได้ง่าย ทำให้ต้องมีการใช้สารเคมีเพิ่มมากขึ้น จึงเป็นอันตรายต่อเกษตรกรผู้ใช้ ผู้บริโภค และสภาพแวดล้อม เพราะนอกจากสารพิษที่ตกค้างแล้ว สารเคมียังไปทำลายสิ่งมีชีวิตอื่น ๆ ที่เป็นประโยชน์ทำให้กระทบต่อลูกโซ่สายใยอาหารในระบบนิเวศวิทยา (FAO, 1978 ; Gunn และ Stevens, 1976)

ประเทศไทยเป็นประเทศหนึ่งที่มีการพัฒนาทางเศรษฐกิจ และเทคโนโลยีอย่างรวดเร็ว เพื่อป้องกันประเทศไทยไม่ให้เผชิญกับปัญหาด้านสิ่งแวดล้อมที่ร้ายแรงในอนาคต จึงมีการศึกษาทดลองเพื่อหาหนทางแก้ปัญหาดังกล่าว และการใช้พืชสมุนไพรควบคุมโรคพืชนั้นเป็นแนวทางหนึ่งที่น่าสนใจในขณะนี้ เนื่องจากการนำสารธรรมชาติ ซึ่งนอกจากเป็นการแก้ปัญหาโรคพืชแล้ว ยังเป็นการแก้ปัญหาสิ่งแวดล้อมอีกด้วย ดังนั้น งานวิจัยนี้เป็นการทดลองขั้นแรกเพื่อการศึกษาคัดเลือกพืชสมุนไพรที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคพืชในประเทศไทย โดยศึกษาผลของสารสกัดของพืชสมุนไพรที่มีต่อการเจริญของเชื้อแบคทีเรียในระดับห้องปฏิบัติการ เพื่อนำไปประยุกต์ใช้ควบคุมโรคพืชจากเชื้อแบคทีเรียต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

1. เชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการทดลอง

เชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคพืชที่ใช้ในการทดลองนี้จำนวน 12 สายพันธุ์ (strain) จาก 3 ยีนส์ (genus) ได้ทำการแยกมาจากพืชที่เป็นโรค โดยนำมาแยกเชื้อบริสุทธิ์บนอาหาร nutrient agar (NA) เชื้อบริสุทธิ์ที่แยกได้จะนำไปทดสอบยืนยันความสามารถในการทำให้เกิดโรคกับพืชอาศัย และศึกษาคุณสมบัติต่าง ๆ เพื่อจำแนกเชื้อตามวิธีของ Schaad (1988) ซึ่งประกอบด้วยเชื้อ *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*, *X. campestris* pv. *citri*, *X. campestris* pv. *glycines*, *X. campestris* pv. *manihotis*, *X. campestris* pv. *vesicatoria*, *Pseudomonas solanacearum*, *P. syringae* pv. *sesami*, *Erwinia carotovora* subsp. *Carotovora* เชื้อที่ใช้ในการศึกษาเหล่านี้จะเลี้ยงเชื้อบนอาหาร NA ให้มีอายุ 24-48 ชั่วโมง แล้วเก็บรักษาเชื้อไว้ในตู้เย็น อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส เพื่อไว้ใช้ตลอดการทดลอง เมื่อต้องการศึกษาจะนำเชื้อที่เก็บไว้มาเพาะเลี้ยงบนอาหาร NA ให้มีอายุ 24-48 ชั่วโมง ก่อนนำไปทดสอบต่อไป

2. การเตรียมสารสกัดจากพืช

พืชสมุนไพรที่ใช้ในการทดลองได้แก่ กระเจี๊ยบแดง, ขะพลู่, ทองพันชั่ง, เปล้าใหญ่, ฝรั่ง, พะยอม, สาบเสือ, เสดลพังพอนตัวเมีย (Table 2) (สมภพ, 2539) โดยใช้ส่วนใบสด ชกวัน พะยอมใช้ส่วนเนื้อไม้ ทำการคั่วใบจากส่วนยอดประมาณ 1 ฟุต นำใบมาหั่นให้เป็นชิ้นเล็ก ๆ จากนั้นนำไปชั่งน้ำหนัก นำตัวอย่างใบที่หั่นแล้วใส่ลงในโถร่งบดขนาดใหญ่ เติมน้ำในอัตราส่วน ตัวอย่างพืช (gm) : น้ำ (ml) = 1:2 แล้วทำการบดใบพืชให้ละเอียด สำหรับพะยอม นำส่วนของเนื้อไม้มาแช่น้ำ ในอัตราส่วน ตัวอย่างพืช (gm) : น้ำ (ml) = 1:10 แช่ทิ้งไว้ประมาณ 2 ชั่วโมง ทำการแยกส่วนที่เป็นของเหลว และส่วนกากพืชออกจากกัน จากนั้นนำส่วนของเหลวไปกรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 1 (Whatman No. 1) เพื่อแยกชิ้นส่วนพืชออกจากส่วนของเหลวให้ได้มากที่สุด นำส่วนของเหลวกรองผ่านเครื่องกรองแบคทีเรียขนาด 0.45 ไมครอน (μm) ได้เป็นสารสกัด (crude extract) ที่ปราศจากเชื้อ

3. การทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย

นำสารสกัดหยดลงบนแผ่นกระดาษกรองเบอร์ 3 ที่ตัดเป็นแผ่นกลม (disc) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร (mm) และผ่านการึ่งฆ่าเชื้อแล้ว หยดสารสกัดปริมาณ 0, 10, 20 และ 30 ไมโครลิตร (μL) ต่อ disc โดยหยดครั้งละ 10 μL ปล่อยให้แห้งแล้วจึงหยดเพิ่มอีกครั้งละ 10 μL หลังจากนั้น ทำการทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อโดยวิธี paper-disc diffusion โดยย้ายเชื้อแบคทีเรียจากอาหารเลี้ยง 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 ใช้เชื้อปริมาณ 1 มิลลิลิตร (ml) ใส่ลงในอาหาร NA ปริมาตร 10 ml ซึ่งหลอมและทิ้งไว้ให้มีอุณหภูมิประมาณ 45 องศาเซลเซียส ผสมเชื้อและอาหารให้เข้ากันดี แล้วเททับบนอาหาร NA ที่มีปริมาตร 10 ml ซึ่งเตรียมไว้ในจานเลี้ยงเชื้อ (Petri dish) และแข็งตัวแล้ว (seed layer) เมื่ออาหารและเชื้อส่วนที่เททับ seed layer แข็งตัวดีแล้ว จึงนำแผ่น disc ที่มีสารสกัดวางลงผิวหน้า โดยวาง 4 ตำแหน่งต่อหนึ่งจานเลี้ยงเชื้อ (Figure 1) โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ นำจานเลี้ยงเชื้อไปบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ตรวจและบันทึกผลการทดลองโดยวัดเส้นผ่าศูนย์กลางแผ่น disc รวมบริเวณใส (clear zone) ทั้งแนวตั้งและแนวนอน แล้วนำค่าที่ได้มาคำนวณหาความกว้างบริเวณใส ดังนี้

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

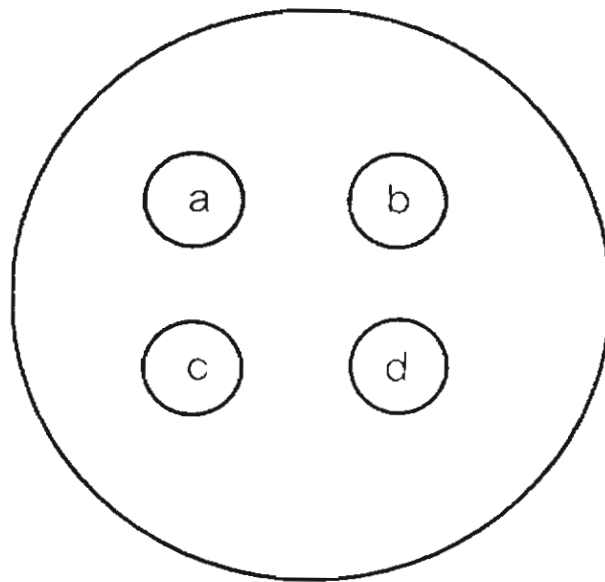


Figure 1. Diagram of plant extract discs on petri dish for bacterial growth inhibition test consisted of the following :
0 μ l of plant extract (control) (a) ; 10 μ l of plant extract (b) ; 20 μ l of plant extract (c) and 30 μ l of
plant extract (d).

Table 1. Strains of phytopathogenic bacteria from various host plants and diseases used in this study

Bacteria	Strain	Host plant	Disease
<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i>	Xc 1	Crucifer	Black rot
<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>citri</i>	Xc11, Xc12	Lemon	Canker
<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>glycines</i>	Xcg1	Soybean	Bacterial pustule
<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>manihotis</i>	Xcm9	Cassava	Bacterial blight
<i>Xanthomonas campestris</i>	Xc41	Water Morning glory	Leaf spot
<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>vesicatoria</i>	Xcv21	Pepper	Bacterial spot
<i>Pseudomonas solanacearum</i>	J3	Tomato	Bacterial wilt
<i>Pseudomonas solanacearum</i>	P220	Pepper	Bacterial wilt
<i>Pseudomonas solanacearum</i>	Ps5	Potato	Bacterial wilt
<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>sesami</i>	Pss1	Sesame	Bacterial spot
<i>Erwinia carotovora</i> subsp. <i>Carotovora</i>	PE	Potato	Soft rot

Table 2. List of medicinal plant species, family and common name used in the study

Family	Scientific name	Common name
Acanthaceae	<i>Clinacanthus nutans</i> (Burm. F.) Lindau	Clinacanthus (เสลดพังพอนตัวเมีย)
Acanthaceae	<i>Rhinacanthus nasutus</i> (L.) Kurz	Rhinacanthus (ทองพันชั่ง)
Crassulaceae	<i>Eupatorium odoratum</i>	Bitter bush, Siam weed (สาบเสือ)
Dipterocarpaceae	<i>Shorea roxburghii</i> G. Don	Phayom (พะยอม)
Eupobiaceae	<i>Croton oblongifolius</i>	Plau-Yai (แปล้าใหญ่)
Malvaceae	<i>Hibiscus subdariffa</i> Linn.	Roselle (กระเจี๊ยบแดง)
Myrtaceae	<i>Psidium guajava</i> Linn.	Guava (ฝรั่ง)
Piperaceae	<i>Piper sarmentosum</i> Roxb. ex Hunter	Wildbetel leafbush (ชะพลู)

ผลการทดลอง

จากการนำสารสกัดของพืชทั้ง 8 ชนิดมาทดสอบการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย 12 สายพันธุ์ พบว่ามีสารสกัดของพืชเพียง 3 ชนิด คือ กระเจี๊ยบแดง, ฝรั่ง และพะยอม ที่แสดงปฏิกิริยายับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย โดยเกิดบริเวณใส ที่มีขนาดแตกต่างกัน โดยสารสกัดจากฝรั่ง (20 และ 30 μ l) สามารถยับยั้งแบคทีเรียได้ทุกชนิด รองลงมาคือสารสกัดจากพะยอม และน้อยที่สุดคือสารสกัดจากกระเจี๊ยบแดง (Table 3) เชื้อแบคทีเรียใน genus *Xanthomonas* ถูกยับยั้งการเจริญโดยสารสกัดจากพะยอม และฝรั่ง ได้ดีกว่าสารสกัดจากกระเจี๊ยบแดง ยกเว้น *X. campestris* pv. *manihotis* Xcm9 จะไม่ถูกยับยั้งด้วยสารสกัดจากพะยอม เชื้อต่าง pathovar และ strain ถูกยับยั้งด้วยสารสกัดจากพะยอมและฝรั่งแตกต่างกัน (Figure 2, 3) เชื้อที่ถูกยับยั้งการเจริญโดยสารสกัดจากพะยอมดีกว่าสารสกัดจากฝรั่ง คือ *X. campestris* pv. *campestris* xcc1,

X. campestris pv. *citri* Xci1, *X. campestris* pv. *glycines* Xcg1, *X. campestris* pv. *vesicatoria* Xcv21 และเชื้อที่ถูกยับยั้งการเจริญโดยสารสกัดจากฝรั่งดีกว่าสารสกัดจากพะยอม คือ *X. campestris* pv. *citri* Xci12, *X. campestris* pv. *manihotis* Xcm9, *X. campestris* Xc41

สำหรับเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas solanacearum* ทั้ง 3 สายพันธุ์ พบว่า ถูกยับยั้งด้วยสารสกัดจากฝรั่งได้เพียงชนิดเดียว เชื้อแบคทีเรีย *P. syringae* pv. *sesami* Pss1 และ *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* PE ถูกยับยั้งการเจริญด้วยสารสกัดจากกระเจี๊ยบแดง และฝรั่ง แต่ถูกยับยั้งเพียงเล็กน้อย เมื่อใช้สารสกัดจากกระเจี๊ยบแดง (1 mm) สารสกัดจากพืชทั้ง 3 ชนิดที่มีปริมาณมาก (30 μ l) จะมีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียโรคพืชทุกชนิดได้มากกว่าสารสกัดที่มีปริมาณน้อย (10 μ l และ 20 μ l) (Table 3 ; Figure 2, 3)

Table 3. Effect of crude extracts of *Shorea roxburghii*, *Hibiscus subdariffa* and *Psidium guajava* on growth inhibition of 12 strains of phytopathogenic bacteria

Bacterial strain	Clear zone (mm)											
	<i>Shorea roxburghii</i>				<i>Hibiscus subdariffa</i>				<i>Psidium guajava</i>			
	0 μ l	10 μ l	20 μ l	30 μ l	0 μ l	10 μ l	20 μ l	30 μ l	0 μ l	10 μ l	20 μ l	30 μ l
Xcc1	0	5	5.5	6	0	0	1	1	0	1	2.5	3.4
Xci11	0	2	3.5	3.8	0	0	0	1	0	0.2	2	3.5
Xci12	0	0	2.5	3	0	0	0	0.8	0	1.1	2.5	3.5
Xcg1	0	3	3.5	4.5	0	0	0.8	1	0	0.8	2.5	3
Xcm9	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	2.5	3.5
Xcv21	0	3.8	4.5	4.8	0	0	0.8	1.1	0	0.8	2.2	3.2
Xc41	0	0	0.8	1.2	0	0	0	1.2	0	0.8	1.5	3
J3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1.5	2.5
P220	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	2
Ps5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1.5	2.5
Pss1	0	0	0	0	0	0	0	0.8	0	1	2.5	3.5
PE	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1.8	3	3.5

Figure 2. Effect of crude extract from *Shorea roxburghii* at volume of 0 μ l, 10 μ l, 20 μ l, and 30 μ l on growth inhibition of *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* Xcc1.

Figure 3. Effect of crude extract from *Psidium guajava* at volume of 0 μ l, 10 μ l, 20 μ l and 30 μ l on growth inhibition of *Xanthomonas campestris* pv. *citri* Xc11 (A) and *Pseudomonas solanacearum* P220 (B).

วิจารณ์

การศึกษาสารสกัดพืชสมุนไพร 8 ชนิด พบว่า สารสกัดจากใบฝรั่งเท่านั้นที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Pseudomonas solanacearum* สายพันธุ์ J3, P220 และ Ps5 ส่วนเชื้อ *Pseudomonas syringae* pv. *sesami* และ *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* ถูกยับยั้งการเจริญด้วยสารสกัดจากใบฝรั่ง และถูกยับยั้งการเจริญได้เล็กน้อยด้วยสารสกัดจากใบกระเจียบแดง แต่จะไม่ถูกยับยั้งโดยสารสกัดจากเนื้อไม้พะยอม สำหรับเชื้อ *Xanthomonas campestris* pathovars และสายพันธุ์ต่าง ๆ ที่ใช้ในการทดลองนี้ ถูกยับยั้งการเจริญได้ด้วยสารสกัดจากเนื้อไม้พะยอม, ใบฝรั่ง และใบกระเจียบแดง โดยสารสกัดจากใบกระเจียบแดงสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้เพียงเล็กน้อยเช่นเดียวกับเชื้อใน genus *Pseudomonas* และ *Erwinia* เชื้อแบคทีเรีย *X. campestris* pv. *manihotis* สายพันธุ์ Xcm9 เป็นเชื้อเคียวใน genus *Xanthomonas* ที่ทำการทดลองแล้วพบว่า สารสกัดจากเนื้อไม้พะยอมไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ อย่างไรก็ตาม จากผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าเชื้อแบคทีเรียใน genus เดียวกัน ก็มีแนวโน้มว่าจะถูกยับยั้งการเจริญด้วยสารสกัดจากพืชชนิดเดียวกันได้

สารสกัดที่ได้จากพืชนั้นมีหลายประเภท ถ้าจะแบ่งสารประกอบทางเคมีในพืชสมุนไพร สามารถจำแนกได้เป็น 2 พวกใหญ่ ๆ คือ primary metabolite และ secondary metabolite สาร primary metabolite เป็นสารที่มีอยู่ในพืชชั้นสูงทั่วไปเป็นผลิตภัณฑ์ได้จากการสังเคราะห์แสง ส่วนสาร secondary metabolite เป็นสารที่มีลักษณะพิเศษและแตกต่างกันไปตามแต่ชนิดของพืช ซึ่งโดยส่วนใหญ่แล้วสารพวก secondary metabolite จะมีสรรพคุณทางยา เช่น สารไกลโคไซด์, น้ำมันหอมระเหย, แทนนิน และอัลคาลอยด์ (สุนทรี, 2535) ในการทดลองนี้ได้ทำการสกัดสารจากพืช 8 ชนิด ซึ่งพืชทั้ง 8 ชนิดนี้เป็นพืชที่ขึ้นได้ทั่วไปในประเทศไทย หาได้ง่าย เจริญเติบโตเร็ว และได้เลือกสกัดจากส่วนของใบพืชก่อน เนื่องจากว่าถ้าส่วนของใบพืชมีสารสกัดที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อที่ดี ใบพืชก็จะเป็นแหล่งวัตถุดิบที่ดี กล่าวคือ สะดวกในการนำมาใช้และมีปริมาณมาก อีกทั้งไม่ต้องมีการปลูกขึ้นมาใหม่ หรือต้องทำให้ต้นพืชตายเพื่อเก็บส่วนอื่น ๆ ของพืชมาใช้ อย่างเช่น ราก เป็นต้น ในพืช 8 ชนิด มีเพียง ชนิดเดียว คือ พะยอม ที่ใช้ส่วนของเนื้อไม้ การคัดเลือกพืชและส่วนของพืช นอกจากจะเลือกใช้ส่วนของใบพืชเป็นอันดับแรกแล้ว ยังใช้ความรู้จากภูมิปัญญาท้องถิ่นมาประกอบการตัดสินใจ ทั้งนี้เนื่องจากมีพืชมากกว่า 2,500 ชนิด (species) ที่มีคุณสมบัติในการควบคุมศัตรูพืช สำหรับทางด้านแบคทีเรียสาเหตุโรคพืช ในประเทศไทยมีรายงานว่า น้ำมันที่ได้จากเปลือกมะม่วงหิมพานต์สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุโรคใบจุดบนของถั่วเหลือง (ประเทืองศรี และคณะ, 2536) สารสกัดจากพลูโดยใช้แอลกอฮอล์เป็นตัวทำละลาย ให้ผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Pseudomonas solanacearum* สาเหตุโรคเหี่ยวของมันฝรั่ง (วงศ์ และคณะ, 2538) และสารสกัดจากเปลือกกรากหม่อนสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *X. campestris* pv. *malvacearum*, *P. syringae* pv. *mori* และ *Pseudomonas* sp. (รังษี และคณะ, 2536)

จากงานทดลองในขั้นแรกนี้ เป็นการศึกษาเพื่อคัดเลือกพืชที่มีคุณสมบัติยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียสาเหตุโรคพืชชนิดต่าง ๆ ยังต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมทั้งในส่วนของคุณสมบัติพืช และปัจจัยต่าง ๆ ที่เนื่องมาจากพืชสมุนไพร ได้แก่ ระยะเวลาในการเก็บวัตถุดิบเพื่อให้ได้ด้วยสูงสุด ในด้านการนำไปใช้จะต้องคำนึงถึงความเป็นพิษของสารสกัดรูปแบบการนำไปใช้เพื่อให้มีประสิทธิภาพสูงในการป้องกันกำจัดโรค และสะดวกในการใช้ ระยะเวลาในการเสื่อมสลายของสารสกัดเมื่อฉีดพ่นหรือเก็บรักษา ตลอดจนการขยายพันธุ์พืชสมุนไพร ซึ่งการทดลองนี้แสดงว่า สามารถนำสารสกัดจากฝรั่งและพะยอมไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์สำหรับใช้ป้องกันกำจัดโรคพืชที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพต่อไปได้

สรุป

พืชสมุนไพรไทยทั้ง 8 ชนิดที่ใช้ในการทดสอบผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคพืช 12 สายพันธุ์ พบว่า มีพืชสมุนไพรเพียง 3 ชนิด ที่ให้ผลในการยับยั้ง คือ พะยอม, ฝรั่ง และกระเจี๊ยบแดง โดยกระเจี๊ยบแดงมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ดีที่สุด และฝรั่งยับยั้งได้ดีที่สุด พะยอมและฝรั่งให้ผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *genus Xanthomonas* ได้ แตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดและสายพันธุ์ของเชื้อ ฝรั่งให้ผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Pseudomonas solanacearum*, *P. syringae* pv. *sesami* และ *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* ในขณะที่พะยอมไม่ให้ผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อทั้ง 3 ชนิดนี้ สารสกัดจากพืชทั้ง 3 ชนิด คือ พะยอม, ฝรั่ง และกระเจี๊ยบ ทำให้เกิดบริเวณใส ขนาดใหญ่ขึ้น เมื่อมีปริมาณสารสกัดมากขึ้น

คำขอบคุณ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) คณะผู้วิจัยขอขอบคุณมา ณ โอกาสนี้ และขอขอบคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ อังยง โพธิ์สุสานติวัฒนา ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ในการให้คำปรึกษาเรื่องพันธุ์พืชสมุนไพร

เอกสารอ้างอิง

- ประเทืองศรี สันชัยศรี สุดฤติ ประเทืองวงศ์ อุคม กักผล และเนื่องพนิช สันชัยศรี. 2536. สารสกัดจากเปลือกเมล็ดมะม่วงหิมพานต์ในการป้องกันกำจัดโรคพืชที่สำคัญของพืชเศรษฐกิจในประเทศไทย. หน้า 93-102 ใน รายงานการสัมมนาการใช้สารสกัดจากพืชเพื่อป้องกันกำจัดศัตรูทางการเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- พัฒนา สอนธิรัตน์, ประไพศรี พัทธกัญไพรวิน, ธนวัฒน์ กำแหงฤทธิรงค์, วิรัช ชูบำรุง และอุบล คือประโคน. 2537. ธรรมชาติโรคพืชในประเทศไทย. กลุ่มงานวิทยาไมโค กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร. พิมพ์ที่ สหมิตรพรินติ้ง, นนทบุรี. 285 หน้า.
- รังษิ เจริญสถาพร สมาน แก้วบุญเรือง ประเสริฐ ปิ่นประยงค์ และทวี เก้าศิริ. 2536. การศึกษาปฏิกิริยาต่อต้านเชื้อราและแบคทีเรียสาเหตุโรคพืชเส้นใยของสารสกัดจากหม่อนพันธุ์ต่าง ๆ ในประเทศไทย. รายงานผลงานวิจัย พ.ศ. 2536 กลุ่มงานวิจัยโรคพืชเส้นใย กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร. หน้า 55-57.
- วงศ์ บุญสืบสกุล สุเนตรา ภาวิจิตร และ สุทธิพงษ์ ญาณาวิ. 2538. การศึกษาสารสกัดจากพลูและพริกไทยต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคเหี่ยวของมันฝรั่ง. กลุ่มงานแบคทีเรียวิทยา กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร. หน้า 123-135.
- สมภพ ประธานธรรารักษ์. 2539. อนุกรมวิธานพืชสมุนไพร. สำนักพิมพ์โอเคียนสโตร์. 150 หน้า.
- สุนทรี สิงห์บุตร. 2535. สรรพคุณสมุนไพร 200 ชนิด. บริษัท คุณ 39, กรุงเทพฯ. 260 หน้า

FAO 1978. Pesticides residue in food : 1977 evaluations. Report of the 1977 Joint Meeting of the FAO Panel of Experts on Pesticide Residues and the Environment and the WHO Expert Group on Pesticide Residues, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome. 459 p.

Gunn, D. L. and J. G. R. Stevens. 1976. Pesticides and human welfare. Oxford University, Great Britain. 278 p.

Schaad, N.W. 1988. Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacterial. The American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota. 158 p.

Output

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

ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคพืชของสารสกัดจากพืชสมุนไพร

ชลิดา เล็กสมบูรณ์^{1/} นิพนธ์ ทวีชัย^{1/} วิชัย โฆสิตรัตน์^{1/} และ ยิ่งยง ไพสุขานติวัฒนา^{2/}

^{1/} ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

^{2/} ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

บทคัดย่อ

การศึกษาปฏิบัติการด้านเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคพืชของสารสกัดจากพืชสมุนไพรโดยการทดสอบด้วยพืชสมุนไพร 58 ชนิดกับแบคทีเรียสาเหตุโรคพืช 3 สกุล 13 สายพันธุ์ คือ *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* สาเหตุโรคเน่าและมันฝรั่งและกะหล่ำปลี *Pseudomonas solanacearum* สาเหตุโรคเหี่ยวมะเขือเทศ พริก และมันฝรั่ง *P. syringae* pv. *sesami* สาเหตุโรคใบจุดงา *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* สาเหตุโรคเน่าดำกะหล่ำ *X. c.* pv. *citri* สาเหตุโรคแคงเกอร์มะนาว *X. c.* pv. *manihotis* สาเหตุโรคใบไหม้มันสำปะหลัง *X. c.* pv. *vescatoria* สาเหตุโรคใบจุดมะเขือเทศ และ *X. campestris* สาเหตุโรคใบจุดผักบุ้ง พบว่าสารสกัดจากพืชที่มีผลยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทั้งหมด 3 สกุล 13 สายพันธุ์ ได้แก่มะกอกป่า มะกอกฝรั่ง มะขาม มะขามป้อม ทับทิม ยูคาลิปต์ และบัวผัน สารสกัดจากพลูให้ผลยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทั้ง 3 สกุล ยกเว้น *P. syringae* pv. *sesami* สารสกัดจากกระเทียมและหุบปลาช่อนไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อในสกุล *Erwinia* ทั้ง 2 สายพันธุ์ แต่ให้ผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อในสกุล *Pseudomonas* และ *Xanthomonas* ทุกสายพันธุ์ ยกเว้น *X. c.* pv. *manihotis* ซึ่งเป็นเชื้อสายพันธุ์เดียวในสกุล *Xanthomonas* ที่สารสกัดจากหุบปลาช่อนไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ สารสกัดจากพืชอื่นๆ 48 ชนิดไม่แสดงผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อทุกสายพันธุ์ที่ทำการทดสอบ

คำนำ

แบคทีเรียเป็นจุลินทรีย์ประเภทหนึ่งที่ทำให้พืชเป็นโรค เชื้อแบคทีเรียสกุลสำคัญที่ทำให้พืชเป็นโรค ได้แก่ *Agrobacterium* *Clavibacter* *Erwinia* *Pseudomonas* และ *Xanthomonas* เชื้อสามารถเข้าทำลายทั้งพืชไร่ พืชผักสวนครัว ไม้ดอกไม้ประดับ และไม้ผล โดยทำให้พืชเป็นโรค 4 ลักษณะ คือ เกิดการตายของเซลล์ทำให้พืชแสดงลักษณะใบจุด ใบไหม้ เกิดลักษณะอาการเหี่ยว ลักษณะอาการเน่าและ และลักษณะการเจริญผิดปกติ ทำให้พืชแสดงอาการปุ่มปม แบคทีเรียเข้าทำลายพืชได้ทางบาดแผลและทางช่องเปิดธรรมชาติ การเกิดโรคมีความรุนแรงแตกต่างกันไปตามสภาพแวดล้อม การแพร่ระบาดของโรคโดยติดไปกับเมล็ดพันธุ์และส่วนขยายพันธุ์อื่นๆ โดยลม ฝน และสิ่งมีชีวิตอื่นๆ ที่สามารถนำพาเชื้อหรือทำให้พืชเกิดรอยแผลให้เชื้อเข้าสู่พืชได้ เมื่อเชื้อเข้าไปในพืชเชื้อจะเพิ่มปริมาณไปรบกวนกระบวนการปกติของพืช เกี่ยวข้องกับฮอร์โมนพืช การดูดซึมธาตุอาหาร การเคลื่อนย้ายและสังเคราะห์อาหาร ชักนำให้พืชสร้างสารพิษขึ้นมาตอบสนองหรือเชื้อสร้างสารซึ่งเป็นพิษต่อพืช อันเป็นผลให้พืชเจริญเติบโตลดลงหรือตายไป ในการควบคุมโรคทำได้โดยการใช้เมล็ดหรือส่วนขยายพันธุ์ที่ปราศจากเชื้อ การเลือกพื้นที่ปลูกที่ไม่เคยมีโรคระบาด ใช้วิธีทางเขตกรรม เช่น การตัดแต่งส่วนของพืชที่เป็นโรคหรือชุดถอนต้นที่เป็นโรคออกจากแปลง เป็นต้น แม้จะมีการควบคุมโรคโดยหลากหลายวิธีการดังกล่าว แต่ถ้าพืชที่ปลูกไม่ใช่เป็นพันธุ์ที่ต้านทานโรคก็เป็นการยากที่จะสามารถหลีกเลี่ยงการเกิดโรคพืชได้ จึงต้องมีการนำสารเคมีมาใช้ในการควบคุมโรค ข้อควรคำนึงในการใช้สารเคมีคือความถูกต้องในการใช้และปริมาณสารพิษตกค้าง ถ้ามีการใช้อย่างถูกต้องก็จะปลอดภัยกับผู้บริโภค แต่ปัญหาที่ไม่สามารถหลีกเลี่ยงได้คือการดื้อยาของเชื้อ และผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตอื่นๆ ในระบบนิเวศ ปัจจุบันมีงานทดลองเพื่อหาวิธีการควบคุมโรคโดยเน้นทางชีวควบคุม โดยพยายามหาสารที่จะมาทดแทนสารเคมี ซึ่งแหล่งของสารที่ได้รับความสนใจมากที่สุดคือพืชสมุนไพร มีงานวิจัยซึ่งนำพืชสมุนไพรมาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียสาเหตุโรคพืชหลายชนิด ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 รายงานการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียสาเหตุโรคพืชที่สำคัญด้วยสารสกัดจากพืช

แบคทีเรีย	พืช
<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	<i>Nymphaea odorata</i> <i>Pachysandra terminalis</i> <i>Punica granatum</i> f. <i>pleniflora</i> <i>Ruta graveolens</i> (Small <i>et al.</i> , 1964)
<i>Erwinia carotovora</i>	<i>N. odorata</i> <i>P. terminalis</i> <i>P. granatum</i> f. <i>pleniflora</i> <i>R. graveolens</i> (Small <i>et al.</i> , 1964) ฝรั่ง (ชลิดา และคณะ, 2541)
<i>Pseudomonas solanacearum</i>	พลู (วงศ์ และคณะ, 2538) ฝรั่ง (ชลิดา และคณะ, 2541)
<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i>	<i>Artabotrys hexapetalus</i> (Grainge and Alvarez, 1987) พะยอม, ฝรั่ง, กระเจี๊ยบแดง (ชลิดา และคณะ, 2541)
pv. <i>glycines</i>	มะม่วงหิมพานต์ (ประเทืองศรี และคณะ, 2536) พะยอม, ฝรั่ง, กระเจี๊ยบแดง (ชลิดา และคณะ, 2541)
pv. <i>malvacearum</i>	หม่อน (รังษีและคณะ, 2536)
pv. <i>vesicatoria</i>	<i>N. odorata</i> <i>P. terminalis</i> <i>P. granatum</i> f. <i>pleniflora</i> <i>R. graveolens</i> (Small <i>et al.</i> , 1964) พะยอม, ฝรั่ง, กระเจี๊ยบแดง (ชลิดาและคณะ, 2541)

จากรายงานต่างๆ แสดงให้เห็นศักยภาพของสารสกัดจากพืชในการนำมาใช้ควบคุมโรคพืชที่เกิดจากแบคทีเรีย งานวิจัยนี้จึงได้นำพืชสมุนไพรมาทดสอบปฏิกิริยาการต้านเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคพืชเพื่อคัดเลือกพืชสมุนไพรที่มีอยู่อีกจำนวนมากในประเทศไทย เพื่อให้ได้พืชสมุนไพรหลากหลายชนิดนำไปทดสอบการควบคุมโรคในแปลงต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

พืชสมุนไพรที่ใช้ในการทดลองจำนวน 58 ชนิด (ตารางที่ 2) โดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย การเตรียมสารสกัดจากพืชใช้วิธีที่มีรายงานของชลิตาและคณะ (2541) ตัวอย่างพืชที่ใช้อาจเป็นตัวอย่างสดหรือตัวอย่างแห้ง ถ้าเป็นตัวอย่างสดใช้น้ำในอัตราส่วน ตัวอย่างพืช (กรัม) ต่อน้ำ (มิลลิลิตร) เท่ากับ 1 ต่อ 2 หรือ 1 ต่อ 10 สำหรับตัวอย่างแห้ง แยกส่วนของเหลวและกากพืชออกจากกัน นำส่วนของเหลวกรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 1 จากนั้นนำผ่านเครื่องกรองแบคทีเรียขนาด 0.45 ไมครอน ได้เป็นสารสกัดที่ปราศจากเชื้อ

นำสารสกัดที่ปราศจากเชื้อมาทดสอบปฏิกิริยาในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียสาเหตุโรคพืช 13 สายพันธุ์ (ตารางที่ 3) โดยหยดสารสกัดลงบนแผ่นกระดาษกรองเบอร์ 3 ที่ตัดเป็นแผ่นกลมขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร และผ่านการนิ่งฆ่าเชื้อแล้ว หยดสารสกัดปริมาตร 0, 10, 20 และ 30 ไมโครลิตรต่อแผ่นกลม ทำการทดสอบการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียโดยนำแผ่นกลมที่มีสารสกัดวางลงบนผิวหน้าอาหารแข็งซึ่งเตรียมโดยการผสมเชื้อแบคทีเรียกับอาหาร Nutrient agar (Beef extract 3 กรัม, Peptone 5 กรัม, วุ้นผง 15 กรัม) ด้วยการเตรียมเชื้อที่ปรับปริมาตรให้มีค่าความขุ่นเท่ากับ 1.0 เมื่อวัดด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ โดยใช้เชื้อปริมาตร 1 มิลลิลิตรผสมกับอาหารปริมาตร 10 มิลลิลิตร เทส่วนผสมลงในจานเลี้ยงเชื้อซึ่งมีอาหารเปล่าอยู่แล้ว 10 มิลลิลิตร ตรวจบันทึกผลโดยวัดความกว้างของบริเวณใสที่เกิดขึ้นรอบแผ่นกระดาษกลม หลังจากบ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

ตารางที่ 2 พืชสมุนไพรที่ใช้ในการทดลอง

วงศ์	ชื่อวิทยาศาสตร์	ชื่อพรรณไม้
ACANTHACEAE	<i>Andrographis paniculata</i>	ฟ้าทะลายโจร
	<i>Barleria lupulina</i>	เสลดพังพอนตัวผู้
ALLIACEAE	<i>Allium cepa</i>	หอมหัวใหญ่
	<i>A. cepa</i> var. <i>aggregatum</i>	หอมหัวเล็ก
	<i>A. sativum</i>	กระเทียม
AMARYLLIDACEAE	<i>Crinum asiaticum</i>	พลับพลึงดอกขาว
	<i>Spondias bipinnata</i>	มะกอกป่า
	<i>S. cytherea</i>	มะกอกฝรั่ง
APOCYNACEAE	<i>Alstonia scholaris</i>	พญาสัตบรรณ
	<i>Wrightia tomentosa</i>	โมกมัน
ARALIACEAE	<i>Schefflera leucantha</i>	ทนุมาประสาธนกาย
ASTERACEAE	<i>Aster cordifolius</i>	หุปลาช่อน
	<i>Solidago polyglossa</i>	สร้อยทอง
BALSAMINACEAE	<i>Impatiens balsamina</i>	เทียนบ้าน
CAESALPINIACEAE	<i>Tamarindus indica</i>	มะขาม
COMBRETACEAE	<i>Quisqualis indica</i>	เล็บมือนาง
COMMELINACEAE	<i>Rhoco discolor</i>	ว่านกาบหอยใหญ่
CYPERACEAE	<i>Cyperus alternifolius</i>	กกลังกา
EUPHORBIACEAE	<i>Croton sublyratus</i>	เปล้าน้อย
	<i>Gelonium multiflorum</i>	ชันทองพญาบาท
	<i>Phyllanthus emblica</i>	มะขามป้อม
FLACOURTIACEAE	<i>Hydnocarpus anthelminthicus</i>	กระเบา
GRAMINEAE	<i>Cymbopogon citratus</i>	ตะไคร้
GRANATAACEAE	<i>Punica granatum</i>	ทับทิม
GUTTIFERAE	<i>Garcinia mangostana</i>	มังคุด
LABTATAE	<i>Ocimum sanctum</i>	กะเพรา
MALVACEAE	<i>Abelmoschus esculentus</i>	กระเจี๊ยบ
	<i>Hibiscus rosa-sinensis</i>	ชบา
MELIACEAE	<i>Azadirachta indica</i> var. <i>siamensis</i>	สะเดาบ้าน
MENISPERMACEAE	<i>Tiliacora triandra</i>	ย่านาง
	<i>Tinospora tuberculata</i>	บอระเพ็ด
MORACEAE	<i>Artocarpus heterophyllus</i>	ขนุน
	<i>Streblus asper</i>	ช่อย
MUSACEAE	<i>Musa sapientum</i>	กล้วยน้ำว้า
MYRTACEAE	<i>Eucalyptus globulus</i>	ยูคาลิปต์
	<i>Eugenia caryophyllus</i>	กานพลู
NYMPHAEACEAE	<i>Nymphaea stellata</i>	บัวผัน
	<i>Nelumbo nucifera</i>	บัวหลวง

ตารางที่ 2 (ต่อ)

วงศ์	ชื่อวิทยาศาสตร์	ชื่อพรรณไม้
PIPERACEAE	<i>Piper betle</i> <i>P. nigrum</i> <i>P. retrofractum</i>	พลู พริกไทย ดีปลี
PLUMBAGINACEAE	<i>Limonium sinuatum</i>	บานไม่รู้โรย
POLYGONACEAE	<i>Rheum palmatum</i>	โกฐน้ำเต้า
POLYPODIACEAE	<i>Adiantum</i> spp. <i>Asplenium nidus</i> <i>Drynaria quercifolia</i>	เฟิร์นก้านดำ ข้าหลวงหลังลาย กระแตไต่ไม้
RUTACEAE	<i>Aegle marmelos</i> <i>Zanthoxylum limonella</i>	มะตูม กำจัดต้น
SAPINDACEAE	<i>Sapindus emarginatus</i>	มะค่าดีควาย
SOLANACEAE	<i>Datura metel</i> <i>Nicotiana tabacum</i>	ลำโพง ยาสูบ
STEMONACEAE	<i>Stemona tuberosa</i>	หนอนตายหยา
TERNSTROEMACEAE	<i>Camellia sinensis</i>	ชา
UMBELLIFERAE	<i>Centella asiatica</i>	บัวบก
ZINGIBERACEAE	<i>Alpinia nigra</i> <i>Boesenbergia rotunda</i> <i>Curcuma longa</i> <i>C. zedoaria</i>	ข่า กระชาย ขมิ้นชัน ขมิ้นอ้อย

ตารางที่ 3 เชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการทดลอง 13 สายพันธุ์

แบคทีเรีย	สายพันธุ์	พืชอาศัย	โรค	แหล่งของเชื้อ
<i>Erwinia carotovora</i> subsp. <i>carotovora</i>	PE	มันฝรั่ง	เน่าและ	ปริญญญา (2532)
	SR1	กะหล่ำปลี	เน่าและ	ชลิตาและคณะ(2541)
<i>Pseudomonas solanacearum</i>	J3	มะเขือเทศ	เหี่ยว	Leksomboon (1994)
	P220	พริก	เหี่ยว	ชลิตาและคณะ(2541)
	Ps5	มันฝรั่ง	เหี่ยว	ปริญญญา (2532)
<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>sesami</i>	Pss1	งา	ใบจุด	ชลิตาและคณะ(2534ช)
<i>Xanthomonas campestris</i>				
pv. <i>campestris</i>	Xc 1	กระหล่ำ	เน่าดำ	ชลิตาและคณะ(2541)
pv. <i>citri</i>	Xci 11,12	มะนาว	แคงเกอร์	ชลิตาและคณะ(2541)
pv. <i>glycines</i>	Xcg 1	ถั่วเหลือง	ใบจุดหนู	ชลิตาและคณะ(2541)
pv. <i>manihotis</i>	Xcm 9	มันสำปะหลัง	ใบไหม้	ชลิตาและคณะ(2541)
pv. <i>vesicatoria</i>	Xcv 21	พริก	ใบจุด	ชลิตาและคณะ(2541)
<i>Xanthomonas campestris</i>	Xc 41	ผักบุ้ง	ใบจุด	ชลิตาและคณะ(2534ก)

ผลการทดลองและวิจารณ์

ผลการทดสอบปฏิบัติการด้านเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคพืชของสารสกัดสมุนไพร 58 ชนิด พบว่า สารสกัดจากพืชที่มีผลต่อการเจริญของแบคทีเรีย 3 สกุล คือ *Erwinia* *Pseudomonas* และ *Xanthomonas* รวมทั้งหมด 13 สายพันธุ์ ได้แก่ มะกอกป่า มะกอกฝรั่ง มะขาม มะขามป้อม ทับทิม ยูคาลิปต์ และบัวผัน สารสกัดจากกระเทียมให้ผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อสกุล *Pseudomonas* และ *Xanthomonas* ทุกสายพันธุ์ สารสกัดจากหูลาซอนให้ผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อสกุล *Pseudomonas* และ *Xanthomonas* ยกเว้นสายพันธุ์ Xcm 9 สารสกัดจากพลูให้ผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อทุกสายพันธุ์ที่ทดสอบยกเว้นสายพันธุ์ Pss 1 (ตารางที่ 4) สารสกัดจากพืชอื่นๆ 48 ชนิดไม่แสดงผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อทุกสายพันธุ์ที่ทำการทดสอบ สารสกัดทุกชนิดที่แสดงผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มปริมาณสารสกัดให้สูงขึ้น

จากผลการทดลองแสดงให้เห็นศักยภาพของสารสกัดจากพืชสมุนไพรในการนำมาใช้ควบคุมโรคพืชที่เกิดจากแบคทีเรีย การที่พืชสมุนไพรสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้นั้นเป็นเรื่องที่ทราบกันมาช้านาน โดยคนไทยได้นำพืชสมุนไพรมาใช้ในการบำบัดรักษาโรคมาแต่โบราณ โดยยาสมุนไพรหลายชนิดออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อหรือฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุโรคต่างๆ เช่น กระเจียวแดง กระเทียม กล้วยสุก ขมิ้นชัน บัวบก เปะกวย จึงถือเป็นแนวทางในการนำพืชสมุนไพรมาใช้ควบคุมจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุโรคพืช เพียงแต่ว่าข้อมูลเพื่อนำมาใช้ทางโรคพืชยังไม่เพียงพอ ซึ่งแตกต่างจากข้อมูลสรรพคุณของยาสมุนไพร จึงต้องมีการศึกษาวิจัยอีกมาก โดยในขั้นต้นต้องมีการทดสอบเพื่อคัดเลือกพืชสมุนไพรที่จะนำมาใช้ และในการนำสารสกัดจากพืชสมุนไพรมาใช้ควบคุมโรคอย่างมีประสิทธิภาพนั้นต้องมีการศึกษาปัจจัยต่างๆ ทั้งปัจจัยเนื่องมาจากพืชสมุนไพร และปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการเกิดโรคพืช เพื่อให้ทราบถึงปริมาณสารและ

ช่วงระยะเวลาในการใช้สารให้เกิดประสิทธิภาพสูงสุด ซึ่งงานวิจัยทางด้านนี้ได้รับความสนใจอย่างต่อเนื่อง ในอีกไม่นานนักประเทศไทยก็จะสามารถลดการใช้สารเคมีในการป้องกันกำจัดโรคพืช อันจะเป็นผลดีต่อ เศรษฐกิจของประเทศไทยในการใช้ทรัพยากรธรรมชาติที่มีอยู่ และยังช่วงส่งเสริมสุขภาพของประชาชนและ รักษาสมดุลในระบบนิเวศ

ตารางที่ 4 ผลของสารสกัดจากพืชสมุนไพร 10 ชนิดในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียสาเหตุโรคพืช 3 สกุล รวม 13 สายพันธุ์

พืชสมุนไพร	การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย												
	Erwinia		Pseudomonas				Xanthomonas						
	PE	SR1	J3	P220	Ps 5	Pss1	Xcl	Xci 11	Xci 12	Xcg 1	Xcm 9	Xcv 21	Xc 41
กระเทียม	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
มะกอกป่า	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
มะกอกฝรั่ง	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ทุปลาซ้อน	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+
มะขาม	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
มะขามป้อม	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ทับทิม	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ชูคาลิปัด	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
บัวผัน	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
พลู	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+

ภาพที่ 1

โรคเหี่ยวมะเขือเทศและการยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรคด้วยสารสกัดจากพืชสมุนไพร

ก. อาการโรคเหี่ยวมะเขือเทศที่เกิดจากแบคทีเรีย *Pseudomonas solanacearum*

ข. ลักษณะโคโลนีเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas solanacearum* บนอาหาร Tetrazolium chloride

ค. การยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย *Pseudomonas solanacearum* สาเหตุโรคเหี่ยวมะเขือเทศ

สรุป

ในการทดสอบการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียสาเหตุโรคพืช 3 สกุล ที่มีความสำคัญในประเทศไทย ด้วยพืชสมุนไพร 58 ชนิด เพื่อเป็นข้อมูลในการนำมาใช้ควบคุมโรคพืช พบว่าสารสกัดพืชที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ มีจำนวน 10 ชนิด โดยพบว่าสารสกัดจากพืช 7 ชนิด สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อทั้ง 3 สกุล ได้แก่ มะกอกป่า มะกอกฝรั่ง มะขาม มะขามป้อม ทับทิม ยูคาลิปต์ และบัวผัน สารสกัดจากพลูให้ผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อทั้ง 3 สกุลที่ทดสอบ ยกเว้นเชื้อสายพันธุ์เดียวของ *Pseudomonas syringae* pv. *sesami* สารสกัดจากกระเทียม และหุบลาซ้อนให้ผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อสกุล *Pseudomonas* และ *Xanthomonas* ยกเว้น สายพันธุ์ Xcm 9 ซึ่งสารสกัดจากหุบลาซ้อนไม่สามารถยับยั้งการเจริญได้ จากการทดลองแสดงให้เห็นว่า สารสกัดจากพืชสมุนไพรมีแนวโน้มในการนำมาใช้ควบคุมโรคพืชที่เกิดจากแบคทีเรีย โดยพืชสมุนไพรทั้ง 10 ชนิด ที่แสดงผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อ เป็นพืชสมุนไพรที่พบโดยทั่วไปในประเทศไทย จึงมีแนวโน้มว่าถ้าการทดลองในสภาพแปลงให้ผลสอดคล้องกับในห้องปฏิบัติการ จะเป็นการช่วยลดต้นทุนการผลิตของเกษตรกร โดยการใช้พืชสมุนไพรทดแทนการใช้สารเคมีซึ่งมีราคาแพงกว่า และต้องนำเข้าจากต่างประเทศ

คำขอบคุณ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย คณะผู้วิจัยขอขอบคุณมา ณ โอกาสนี้

เอกสารอ้างอิง

- ชลิดา เล็กสมบูรณ์ นิพนธ์ ทวีชัย และวิชัย โสสิตรัตน.2534ก.โรคใบจุดแบคทีเรียของผักบุ้งจีน.ประชุมวิชาการ ครั้งที่ 29 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ , กรุงเทพฯ. วันที่ 4-7 กุมภาพันธ์ 2534. หน้า 277-283.
- ชลิดา เล็กสมบูรณ์ นิพนธ์ ทวีชัย และวิชัย โสสิตรัตน. 2541. ผลของสารสกัดจากพืชสมุนไพรไทยต่อการเจริญของแบคทีเรียสาเหตุโรคพืช .ประชุมวิชาการ ครั้งที่ 36 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ , กรุงเทพฯ. วันที่ 3-5 กุมภาพันธ์ 2541.
- ชลิดา เล็กสมบูรณ์ นิพนธ์ ทวีชัย และสุรพล ยืนอัศวพรณ.2534ข. การปรากฏโรคแบคทีเรียใบจุดของงาในประเทศไทย. วารสารโรคพืช 11:1-8.
- ปริญญา จันทศรี. 2532. การเปลี่ยนแปลงประชากรและการถูกทำลายของเชื้อ soft rot erwinias ที่ได้จากแปลงปลูกหัวพันธุ์มันฝรั่ง ในบริเวณดอยอ่างขาง. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- ประเทืองศรี สิ้นชัยศรี สุดฤดี ประเทืองวงศ์ อุดม กักผล และเนื่องพนิช สิ้นชัยศรี. 2536. สารสกัดจากเปลือกเมล็ดมะม่วงหิมพานต์ในการป้องกันกำจัดโรคพืชที่สำคัญของพืชเศรษฐกิจในประเทศไทย. รายงานการสัมมนาการใช้สารสกัดจากพืชเพื่อป้องกันกำจัดศัตรูทางการเกษตร คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่. หน้า 93-102.

- รังสี เจริญสถาพร สมาน แก้วบุญเรือง ประเสริฐ ปิ่นประยงค์ และทวี เก้าศิริ. 2536. การศึกษาปฏิกิริยาต่อต้านเชื้อราและแบคทีเรียสาเหตุโรคพืชเส้นใยของสารสกัดจากหม่อนพันธุ์ต่าง ๆ ในประเทศไทย รายงานผลงานวิจัย กลุ่มงานวิจัยโรคพืชเส้นใย กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ. หน้า 55-57.
- วงศ์ บุญสืบสกุล สุเนตรา ภาวจิตร และสุทธิพงษ์ ญาณวารี. 2538. การศึกษาสารสกัดจากพลูและพริกไทยต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคเหี่ยวของมันฝรั่ง. รายงานผลงานวิจัย กลุ่มงานแบคทีเรียวิทยา กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ. หน้า 123-135.
- 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 .
- 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

ชลิดา เล็กสมบูรณ์, นิพนธ์ ทวีชัย, วิชัย โมลีรัตน์, และยิ่งยง ไพสุขสานติวัฒนา.2543.การควบคุมโรคแคงเกอร์มะนาวด้วยสารสกัดจากพืชสมุนไพร.วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร (in press)

การควบคุมโรคแคงเกอร์มะนาวด้วยสารสกัดจากพืชสมุนไพร

ชลิดา เล็กสมบุญ^{1/} นิพนธ์ ทวีชัย^{1/} วิชัย โฉมรัตน์^{1/} และยิ่งยง ไพลักษณ์^{2/}

บทคัดย่อ

การศึกษาการใช้พืชสมุนไพร 13 ชนิด ในการควบคุมโรคแคงเกอร์มะนาว ในสภาพห้องปฏิบัติการ ด้วยวิธี detached-leaf และการปลูกเชื้อโดยการทำแผลในสภาพโรงเรือน การศึกษาด้วยวิธี detached-leaf พบว่าสารสกัดจากพืชสมุนไพรทั้ง 13 ชนิด สามารถยับยั้งแบคทีเรีย *Xanthomonas campestris* pv. *citri* สายพันธุ์ Xci12 ซึ่งเป็นสาเหตุโรคแคงเกอร์มะนาว ได้ตั้งแต่ 16.7% ถึง 100% สารสกัดมะกอกป่า ทับทิม และมะขาม สามารถยับยั้งการเกิดโรคได้ 100% เมื่อใช้สารสกัดก่อน หรือหลังการปลูกเชื้อ การทดสอบในสภาพโรงเรือนกับต้นมะนาวพันธุ์อ่อนแอ โดยใช้สารสกัดจากพืชสมุนไพร 5 ชนิดได้แก่ ฝรั่ง มะกอกป่า ทับทิม กระเจี๊ยบแดง และมะขาม พบว่าสารสกัดมะขามมีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคดีที่สุด โดยมะนาวเป็นโรคเพียง 17.5 %เมื่อใช้สารสกัด 2 ครั้ง มะนาวที่ไม่ได้ฉีดพ่นสารสกัดเป็นโรค 100% การศึกษานี้แสดงให้เห็นถึงศักยภาพของสารสกัดมะขามในการนำไปใช้ควบคุมโรคแคงเกอร์ของมะนาวในสภาพแปลงปลูกต่อไป

คำสำคัญ: โรคแคงเกอร์, *Citrus aurantifolia*, มะนาว, พืชสมุนไพร, แบคทีเรีย *Xanthomonas campestris* pv. *crtri*

^{1/} ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

^{2/} ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Control of Lime Canker by Medicinal Plant Extracts

Chalida Leksomboon^{1/} Niphone Thaveechai^{1/} Wichai Kositratana^{1/}
and Yingyong Paisooksantivatana^{2/}

ABSTRACT

Thirteen medicinal plants were investigated for the effective control of lime canker by using detached-leaf method in laboratory and artificial inoculation method in the greenhouse condition. For the detached-leaf method, all aqueous extracts of medicinal plants exhibited inhibitory to *Xanthomonas campestris* pv. *citri* strain Xci12, the cause of lime canker, varied from 16.7% to 100%. Aqueous extracts from hog plum, pomegranate and tamarind were strongly inhibited the pathogen infection, by 100% inhibition either applied the extracts before or after inoculation. In the greenhouse experiment, using five aqueous plant extracts from guava, hog plum, pomegranate, roselle, and tamarind against Xci12 on the susceptible lime, *Citrus aurantifolia* found that tamarind extract was the most effective control of canker (which was 17.5% of disease incidence) when applied 2 times whereas the control (no application of aqueous plant extract) showed 100 % of disease incidence. This study showed the possibility of using aqueous extract of tamarind for further application to control of lime canker in the field.

Keyword: canker, *Citrus aurantifolia* ,medicinal plant, *Xanthomonas campestris* pv. *citri*

^{1/} Department of Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Kasetsart University

^{2/} Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Kasetsart University

คำนำ

โรคแคงเกอร์มีเชื้อสาเหตุโรคเป็นเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas campestris* pv. *citri* พบโรคแพร่ระบาดทั่วไปในประเทศที่ปลูกพืชตระกูลส้ม พืชที่เป็นโรคแสดงอาการแผลแห้งตาย เป็นสีน้ำตาลนูนขึ้นจากผิวพืช โดยปรากฏอาการโรคที่ใบ กิ่งก้าน ลำต้น และผล (Hartung และ Civerolo, 1989) ในการศึกษาพืชอาศัย การแพร่ระบาดของโรค คุณสมบัติทางเซรุ่มวิทยา ความเฉพาะเจาะจงต่อฝาง และการวิเคราะห์ดีเอ็นเอ ทำให้มีการจัดแบ่งแคงเกอร์เป็น 5 แบบ คือ A,B,C,D และE (Swing และ Civerolo, 1993) โดยcanker A (Asiatic canker)เป็นแบบที่แพร่ระบาดทั่วโลก และสายพันธุ์ของเชื้อสาเหตุโรคก็มีความรุนแรงมากที่สุด โรคแคงเกอร์ในประเทศไทยเป็นพวก canker A (Uematsu และคณะ, 1983)โดยพืชตระกูลส้มที่มีรายงานว่าเป็นโรคแคงเกอร์ ได้แก่ มะนาว(*Citrus aurantifolia*) มะกรูด(*C.hystrix*) ส้มโอ(*C.grandis*) ส้มKing Mandarin(*C.nobilis*) ส้มเขียวหวาน(*C.reticulata*) และส้มเกลี้ยง ส้มตรา(*C.sinensis*)(พัฒนา และคณะ, 2537) ทุกพื้นที่ปลูกพืชตระกูลส้มของประเทศไทยมีสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อ ทำให้พบโรคแคงเกอร์แพร่ระบาดไปทั่วประเทศ และมักพบโรคระบาดในช่วงฤดูฝน โดยความรุนแรงของโรคขึ้นกับชนิด หรือพันธุ์พืช มะนาวเป็นพืชที่พบโรคแคงเกอร์รุนแรงมากที่สุด(อำไพวรรณ และคณะ, 2527) การควบคุมโรคแคงเกอร์ในปัจจุบัน มีการใช้หลากหลายวิธี เช่น การใช้กิ่งพันธุ์ปลอดโรค การปลูกพืชกำบังลม การตัดแต่งส่วนที่เป็นโรคทิ้ง และการใช้สารเคมี สำหรับการควบคุมโรคนิยมใช้สารเคมี 2 ประเภท คือสารปฏิชีวนะ และสารประกอบทองแดง เช่น คอปเปอร์ออกไซด์คลอไรด์ คอปเปอร์ออกไซด์ และคอปเปอร์ซัลเฟต แม้ว่าการควบคุมโรคแคงเกอร์โดยใช้สารดังกล่าวเป็นวิธีการที่มีประสิทธิภาพ แต่ได้เกิดสายพันธุ์เชื้อแบคทีเรียที่ต้านทานต่อสารเคมีดังกล่าว อีกทั้งยังเป็นการทำลายสภาพธรรมชาติ และส่งผลเสียต่อสุขภาพของผู้ผลิต และผู้บริโภค การใช้สารจากธรรมชาติ เช่น สารจากพืชสมุนไพร มาควบคุมโรค จึงเป็นแนวทางหนึ่งในการแก้ปัญหาดังกล่าว

ผลการศึกษาสารสกัดจากพืชสมุนไพรต่อการเจริญของแบคทีเรียสาเหตุโรคพืช(ชลิดา และคณะ, 2541) และฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคพืชของสารสกัดสมุนไพร(ชลิดาและคณะ, 2543) จำนวน 67 ชนิด พบสารจากพืชสมุนไพรจำนวน 13 ชนิด สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Xanthomonas campestris* pv. *citri* จำนวน 13 ชนิด คือ หูปลาช่อน กระเทียม ยูคาลิปต์ กระเจียวแดง บัวผัน มะขามป้อม พลู ฝรั่ง ทับทิม พะยอม มะกอกป่า มะกอกฝรั่ง และมะขาม แสดงให้เห็นแนวทางการนำสารสกัดจากพืชสมุนไพรมาควบคุมโรคแคงเกอร์ การศึกษาครั้งนี้ ได้ทำการทดลองควบคุมโรคแคงเกอร์มะนาวด้วยวิธี detached-leaf ในห้องปฏิบัติการ และการควบคุมโรคในสภาพโรงเรือน โดยการใช้สารธรรมชาติจากพืชเพื่อศึกษารูปแบบ และประสิทธิภาพการนำไปใช้ในสภาพแปลงต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดพืชเพื่อการควบคุมโรคแคงเกอร์มะนาว

ด้วยวิธี detached-leaf

การเตรียมใบพืช

ตัดใบมะนาวที่ปราศจากโรคมาทำการฆ่าเชื้อที่ผิวใบ ด้วยสารละลายคลอโรกซ์ (clorox) 10 % นาน 5 นาที ย้ายใบมะนาวไปแช่ใน clorox 10 % ที่เตรียมใหม่ซ้ำอีกครั้ง ล้างใบมะนาวด้วยน้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อ 2 ครั้ง นำใบมะนาวที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว วางบนอาหารวุ้น 1.2% (water agar) ซึ่งได้เตรียมเทลงจานเลี้ยงเชื้อหลังจากหนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว

การปลูกเชื้อและการทดสอบ

เลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas campestris* pv. *citri* สายพันธุ์ Xci12 บนอาหาร nutrient glucose agar (NGA) (Schaad, 1980) เมื่อเชื้ออายุ 24 ชม. เตรียมเป็นสารแขวนลอยโดยใช้ น้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อ ปรับปริมาณเชื้อเท่ากับ 10^{10} CFU/ml

ในการปลูกเชื้อใช้วิธีการทำแผลด้วยเข็มฉีดยา และทำการทดลอง 2 ลักษณะ คือ ใช้สารสกัดพืชก่อนการปลูกเชื้อ (pre-inoculation) โดยการหยดสารสกัดพืชปริมาตร 5 μ l บนแผล แล้วปล่อยให้แห้งจึงหยดสารแขวนลอยเชื้อ 5 μ l และใช้สารสกัดพืชหลังการปลูกเชื้อ (post-inoculation) โดยการหยดสารแขวนลอยเชื้อ 5 μ l บนแผลแล้วปล่อยให้แห้งจึงหยดสารสกัดพืชปริมาตร 5 μ l ใช้สารสกัดจากพืช 13 ชนิด คือ หูปลาช่อน (copper leaf) กระเทียม (garlic) ยูคาลิปต์ (tasmanian blue gum) กระเจี๊ยบแดง (roselle) บัวผ้น (bua-phun) มะขามป้อม (emblic myrobalan) พลู (betel vine) ฝรั่ง (guava) ทับทิม (pomegranate) พะยอม (shorea) มะกอกป่า (hog plum) มะกอกฝรั่ง (otaheite apple) และมะขาม (tamarind) การเตรียมสารสกัดพืชใช้น้ำเป็นตัวสกัดตามวิธีที่มีรายงานไว้ของชลิดา และคณะ (2541) ทำการทดลอง 4 ใบต่อชนิดสารสกัดพืช และ 4 จุดแผลต่อ 1 ใบ นำไปไว้ในตู้บ่มอุณหภูมิ 28 °C ตรวจบันทึกผลทุก 7 วัน

การทดสอบสารสกัดพืชในการควบคุมโรคแคงเกอร์มะนาวในสภาพโรงเรือน

ทดลองควบคุมโรคแคงเกอร์มะนาวในสภาพโรงเรือนโดยใช้สารสกัดพืชที่ให้ผลในการยับยั้งการเกิดโรคแคงเกอร์มะนาวด้วยวิธี detached-leaf โดยเตรียมสารแขวนลอยเชื้อดังวิธีกล่าวแล้วข้างต้น ส่วนการเตรียมสารสกัดพืชใช้อัตราส่วนตัวอย่างพืชสด (g) ต่อ น้ำ (ml) เท่ากับ 1 ต่อ 5 (w/v) โดยการแช่ตัวอย่างพืชไว้นาน 6 ชม. แล้วกรองแยกส่วนกากทิ้งด้วยผ้าขาวบาง สำหรับตัวอย่างที่เป็นใบจะใช้เครื่องปั่นละเอียดแล้วกรองแยกส่วนกากทิ้งด้วยผ้าขาวบาง นำส่วนน้ำคั้นที่เตรียมได้มาฉีดพ่นบนมะนาวแป้นซึ่งเป็นพันธุ์ที่อ่อนแอต่อโรคแคงเกอร์ ฉีดพ่นสารสกัดพืช 5 ชนิด คือ ฝรั่ง มะกอกป่า ทับทิม กระเจี๊ยบแดง และมะขาม โดยใช้น้ำเป็นตัวเปรียบเทียบ โดยทำการทดลอง 4 กรรมวิธี

กรรมวิธีที่1 หลังจากทำแผลบนใบมะนาวโดยใช้เข็มฉีดยา และปลูกเชื้อปริมาณ 5 μ l ลงบนแผล เมื่อใบแห้ง ทำการฉีดพ่นสารสกัดพืช

กรรมวิธีที่2 หลังจากทำแผลบนใบมะนาวโดยใช้เข็มฉีดยา และทำการฉีดพ่นสารสกัดพืช เมื่อใบแห้ง ทำการปลูกเชื้อปริมาณ 5 μ l ลงบนแผล

กรรมวิธีที่3และ4 ปฏิบัติเช่นเดียวกับกรรมวิธีที่1และ2 ตามลำดับ และทำการฉีดพ่นสารสกัดพืชอีกครั้ง หลังการฉีดพ่นครั้งแรก 1 สัปดาห์

ในการปลูกเชื้อบนใบมะนาวนั้น ชีทหนึ่งของใบใช้เข็มทำแผลโดยไม่ปลูกเชื้อเป็นจำนวน 2 จุดแผล อีกชีทใบที่เหลือทำการปลูกเชื้อจำนวน 2 จุดแผล ทำการทดลองกับใบมะนาวจำนวน 10 ใบต่อต้น และ 2 ต้นต่อกรรมวิธี ตรวจบันทึกผลโดยนับจำนวนจุดแผลที่เกิดโรค

ผลการทดลอง

การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดพืชเพื่อการควบคุมโรคแคงเกอร์มะนาวด้วยวิธี detached-leaf พบว่า สารสกัดจากพืช 13 ชนิด คือ หูปลาช่อน (copper leaf) กระเทียม (garlic) ยูคาลิปต์ (tasmanian blue gum) กระเจี๊ยบแดง (roselle) บัวผ้น (bua-phun) มะขามป้อม (emblic myrobalan) พลู่ (betel vine) ฝรั่ง (guava) ทับทิม (pomegranate) พะยอม (shorea) มะกอกป่า (hog plum) มะกอกฝรั่ง (otaheite apple) และมะขาม (tamarind) ให้ผลในการยับยั้งโรคแตกต่างกันไป (Table 1, Figure 1) และการใช้สารสกัดก่อนการปลูกเชื้อ สามารถยับยั้งโรคได้มากกว่า หรือเท่ากับการใช้สารสกัดหลังการปลูกเชื้อ สารสกัดที่แสดงประสิทธิภาพสูงสุด โดยทำให้ใบมะนาวไม่เป็นโรคเมื่อใช้สารสกัดก่อนการปลูกเชื้อ หรือหลังการปลูกเชื้อได้แก่ ทับทิม มะขาม และมะกอกป่า สารสกัดที่มีประสิทธิภาพรองลงไปได้แก่ ฝรั่ง กระเจี๊ยบแดง มะกอกฝรั่ง หูปลาช่อน มะขามป้อม บัวผ้น พลู่ พะยอม กระเทียม และยูคาลิปต์ ตามลำดับ ใบมะนาวที่ทำการปลูกเชื้อและไม่ได้ใช้สารสกัดพืช เป็นโรค 100 %

การทดลองควบคุมโรคแคงเกอร์มะนาวในสภาพโรงเรือนโดยใช้สารสกัดพืช 5 ชนิด คือ ทับทิม มะขาม มะกอกป่า ฝรั่ง และกระเจี๊ยบแดง ทำการฉีดพ่นสารสกัดพืชก่อน หรือหลังการปลูกเชื้อ ด้วยวิธีการปลูกเชื้อโดยใช้เข็มแทงให้เกิดบาดแผล พบว่า เมื่อทำการฉีดพ่นสารสกัด 1 ครั้ง การใช้สารสกัดฉีดพ่นหลังการปลูกเชื้อให้ผลในการควบคุมโรคดีกว่าการฉีดพ่นสารสกัดก่อนการปลูกเชื้อ ยกเว้นสารสกัดจากฝรั่ง สารสกัดที่ให้ผลในการควบคุมโรคดีที่สุดได้แก่ กระเจี๊ยบแดง โดยเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเมื่อใช้สารสกัดฉีดพ่นก่อนการปลูกเชื้อและหลังการปลูกเชื้อ เท่ากับ 80 และ 37.5 % ตามลำดับ และสารสกัดพืชที่มีประสิทธิภาพรองลงไปได้แก่ มะขาม ทับทิม และมะกอกป่า ตามลำดับ สารสกัดจากฝรั่ง มีประสิทธิภาพต่ำสุด โดยเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเมื่อใช้สารสกัดฉีดพ่นก่อนการปลูกเชื้อเท่ากับ 96.5 % และไม่ให้ผลเมื่อฉีดพ่นสารสกัดหลังการปลูกเชื้อ โดยทำให้เปอร์เซ็นต์เป็นโรค เท่ากับ 100 % เช่นเดียวกับการฉีดพ่นน้ำแทนการใช้สารสกัดพืช

ในการทดลองฉีดพ่นสารสกัดพืช 2 ครั้ง โดยการฉีดพ่นครั้งที่ 2 หลังฉีดสารสกัดครั้งแรกเป็นเวลา 7 วัน พบว่า การฉีดพ่นสารสกัด 2 ครั้ง ให้ผลควบคุมโรคดีกว่าฉีดพ่นสารสกัดครั้งเดียว และการให้สารสกัดครั้งที่สองในชุดทดลองที่ปลูกเชื้อก่อนให้สารสกัดจะให้ผลดีกว่าชุดที่ปลูกเชื้อหลังการให้สารสกัด สารสกัดพืชที่แสดงประสิทธิภาพดีที่สุด ได้แก่ มะขาม โดยมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค เท่ากับ 17.5 ทั้งการใช้สารสกัดก่อนหรือหลังการปลูกเชื้อในการฉีดพ่นสารสกัดครั้งที่ 1 สำหรับสารสกัดชนิดอื่น พบว่า การฉีดพ่นสารสกัดครั้งที่ 1 หลังการปลูกเชื้อ ให้ผลในการควบคุมโรคดีกว่าการฉีดพ่นสารสกัดครั้งที่ 1 ก่อนการปลูกเชื้อ โดยสารสกัดพืชที่แสดงประสิทธิภาพรองลงไปจากมะขามได้แก่ กระเจี๊ยบแดง ทับทิม มะกอกป่า และฝรั่ง ตามลำดับ (Table 2) และมะนาวที่ทำการปลูกเชื้อโดยฉีดพ่นน้ำแทนการฉีดพ่นสารสกัดพืช เป็นโรค 100 %

Table 1 Effect of aqueous plant extracts on citrus canker development by *Xanthomonas campestris* pv. *citri* on lime leaf by the detached-leaf method.

Plant extract	Citrus canker inhibition(%) ^{1/}	
	Pre-inoculation ^{2/}	Post-inoculation ^{3/}
Betel Vine	75	75
Bua-Phun	100	66.7
Copper leaf	83.3	83.3
Emblic myrobalan	100	75
Garlic	58.3	50
Guava	100	91.7
Hog Plum	100	100
Otaheite Apple	100	83.3
Pomegranate	100	100
Roselle	100	83.3
Shorea	66.7	33.3
Tamarind	100	100
Tasmanian Blue Gum	16.7	16.7
Control	0	0

Note: ^{1/} The percentage of inhibition was calculated comparing the number of lesions of the plant extract treatments with the control treatment.

^{2/} Aqueous plant extracts were applied before inoculation.

^{3/} Aqueous plant extracts were applied after inoculation.

Table 2 Effect of aqueous plant extracts on canker disease incidence on lime inoculated with *Xanthomonas campestris* pv. *citri* (Xci12) under greenhouse condition

Treatment	Disease incidence(%)					
	Guava	Hog Plum	Pomegranate	Roselle	Tamarind	Water
1	96.5	93.5	86.5	80	80	100
2	100	85	65	37.5	57.5	100
3	100	85	85	32.5	17.5	100
4	95	70	52.5	20	17.5	100

Note: Treatment 1 aqueous plant extract +Xci12

Treatment 2 Xci12+aqueous plant extract

Treatment 3 aqueous plant extract+Xci12+aqueous plant extract

Treatment 4 Xci12+aqueous plant extract+aqueous plant extract

Leaf of all treatments were pricked by a needle before any treatment.

The inoculum consisted of bacteria at 5×10^7 CFU/ lesion.

Aqueous plant extracts were applied to plant as sprays.

A second application of aqueous plant extract was made 1 week after treatment

วิจารณ์

โรคแคงเกอร์เป็นโรคที่พบระบาดไปทั่วทุกแหล่งปลูก และยากต่อการกำจัดให้หมดไปได้ ในสหรัฐอเมริกาเคยประสบผลสำเร็จในการกำจัดโรคให้หมดไปได้ในปี ค.ศ.1949 โดยใช้ระยะเวลากว่า 20 ปี ด้วยวิธีการเผาทำลายต้นเป็นโรคทิ้ง ต่อมา มีรายงานพบโรคอีกในปีค.ศ.1984 สำหรับประเทศไทยมีการปลูกพืชตระกูลส้มหลากหลายสายพันธุ์ และมีพื้นที่ปลูกกระจายทั่วไป จึงยากต่อการกำจัดให้หมดไปได้ แนวทางการควบคุมโรคที่มีประสิทธิภาพได้แก่การตัดแต่งส่วนของพืชที่เป็นโรคทิ้ง เก็บส่วนของพืชที่เป็นโรคเผาทำลาย และการใช้สารควบคุมโรค สารที่ใช้ในการควบคุมโรคพืช มีหลายประเภท สารเคมีเป็นสารที่ได้รับความนิยมมากที่สุด เนื่องจากเป็นสารที่มีประสิทธิภาพ ปัญหาในการใช้สารเคมีคือพิษของสารต่อสิ่งมีชีวิตชนิดอื่น ปัญหาสารพิษตกค้าง และปัญหาการดื้อยา ปัจจุบันสารที่ใช้ควบคุมโรคแคงเกอร์ ได้แก่สารเคมีพวกสารประกอบทองแดงซึ่งได้มีรายงานการดื้อยาหรือการต้านทานของแบคทีเรียหลายชนิดต่อสารดังกล่าวแล้ว(ณัฐริมา,2534;Cooksey,1990) เมื่อเชื้อเกิดการต้านทานต่อสารเคมี จะทำให้ไม่สามารถใช้ควบคุมโรคได้ ฉะนั้นในอนาคตจะต้องมีการนำสารชนิดอื่นมาทดแทน จึงเกิดแนวทางการนำสารสกัดพืชมาใช้ควบคุมโรค การทดลองนี้ได้ทำการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดพืช 13 ชนิด ในการควบคุมโรคแคงเกอร์มะนาวด้วยวิธีdetached-leaf โดยสารสกัดพืชทั้ง 13 ชนิด ให้ผลในการยับยั้งการเกิดโรคได้ทุกชนิด ในขณะที่การใช้น้ำไม่ยับยั้งโรค มีสารสกัดพืช 9 ชนิด สามารถยับยั้งการเกิดโรคได้มากกว่า 75% เมื่อใช้สารสกัดหลังการปลูกเชื้อ และสารสกัด

พืช 10 ชนิด สามารถยับยั้งการเกิดโรคได้มากกว่า 75% เมื่อใช้สารสกัดก่อนการปลูกเชื้อ เมื่อทำการทดสอบกับมะนาวในสภาพโรงเรือน โดยเลือกใช้สารสกัดพืช 5 ชนิด ซึ่งแสดงประสิทธิภาพในการควบคุมโรคได้ดีจากวิธี detached-leaf พบว่าสารสกัดพืชทั้ง 5 ชนิด มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคลดลง แต่เมื่อทำการฉีดพ่นสารสกัดพืช 2 ครั้ง ทำให้ผลในการควบคุมโรคดีกว่าการฉีดพ่นสารสกัดพืชเพียงครั้งเดียว การควบคุมโรคที่มีประสิทธิภาพดีที่สุด ได้แก่ การใช้สารสกัด มะขามทำการฉีดพ่นสารสกัด 2 ครั้ง โดยมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเท่ากับ 17.5 % ทั้งการฉีดพ่นสารก่อนและหลังการปลูกเชื้อ สารสกัดพืชที่มีประสิทธิภาพรองลงไปได้แก่ กระเจี๊ยบแดง หับทิม และมะกอกป่า ตามลำดับ สำหรับสารสกัดจากฝรั่งมีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคต่ำสุดโดยทำให้การเกิดโรค 95% หรือมากกว่า การที่สารสกัดพืชทั้ง 5 ชนิด มีประสิทธิภาพลดลง เนื่องจากปริมาณสารที่ใช้ลดลงจาก 1ต่อ2 เป็น1ต่อ5 และเนื่องจากการทดลองในโรงเรือนใช้สารสกัดพืชโดยวิธีการฉีดพ่น ทำให้โอกาสที่สารสกัดพืชจะได้สัมผัสกับเชื้อน้อยกว่าการทดลองด้วยวิธี detached-leaf ซึ่งใช้สารสกัดพืชหยดลงบริเวณแผลที่ทำการปลูกเชื้อ และอาจเกิดจากปัจจัยสภาพแวดล้อมอื่นๆที่ไม่ได้ศึกษา เช่นอุณหภูมิ และความชื้น เป็นต้น การที่ใช้วิธีการฉีดพ่นสารสกัดพืชหลังการปลูกเชื้อให้ผลดีกว่าการฉีดพ่นสารสกัดก่อนการปลูกเชื้อ เนื่องจากสารสกัดพืชที่ฉีดพ่นหลังการปลูกเชื้อมีโอกาสสัมผัสกับเชื้อได้มากกว่า

สารสกัดจากพืชจัดว่าเป็นสารชีวภัณฑ์ชนิดหนึ่งที่มีศักยภาพในการควบคุมโรคพืช และได้รับความสนใจอย่างยิ่งในการนำมาใช้ทดแทนสารเคมี แม้ว่าจะมีประสิทธิภาพต่ำกว่าสารเคมี แต่ข้อดีของสารสกัดจากพืชคือมีคุณสมบัติในการสลายตัวได้เร็วช่วยแก้ปัญหาสารพิษตกค้าง และด้วยคุณสมบัติดังกล่าวย่อมส่งผลเสียต่อประสิทธิภาพของสารในการควบคุมโรค และยังมีหลายปัจจัยที่มีผลต่อประสิทธิภาพของสาร เช่นสายพันธุ์พืชและระยะเวลาในการเก็บพืชเพื่อเตรียมเป็นสารสกัด เป็นต้น สำหรับปัญหาในการใช้สารสกัดพืชมาควบคุมโรคคือ ข้อจำกัดด้านปริมาณสารที่ผลิตได้ไม่เพียงพอ ซึ่งเห็นได้จากการรายงานค้นพบสารสกัดจากพืชในการควบคุมโรคพืชหลายชนิดแต่ยังไม่ได้นำมาใช้อย่างจริงจัง ในการทดลองนี้มุ่งเน้นที่จะใช้สารจากพืชที่หาได้ง่าย และมีวิธีการเตรียมที่ไม่ยุ่งยาก จากการทดลองแสดงให้เห็นศักยภาพของสารสกัดมะขามในการควบคุมโรคแคงเกอร์มะนาว สำหรับข้อจำกัดในการใช้สารสกัดมะขามคือ พันธุ์มะขามที่ใช้ต้องเป็นมะขามเปรี้ยว เนื่องจากประสิทธิภาพในการควบคุมโรคขึ้นกับค่าความเป็นกรดของน้ำคั้น และข้อควรระวังในการฉีดพ่นคือบริเวณใบที่มีสารสกัดตกค้างอยู่เป็นปริมาณมากจะเกิดอาการไหม้แห้งเป็นจุด โดยเนื้อเยื่อใบถูกทำลาย ควรฉีดพ่นสารสกัดในเวลาเย็น และฉีดพ่นเฉพาะช่วงที่จะมีโรคระบาด เช่นในฤดูฝน การนำสารสกัดไปใช้ในสภาพแปลงจึงต้องคำนึงถึงข้อจำกัดในการใช้สารสกัด วิธีการใช้ และช่วงเวลาที่จะเชื้อจะเข้าสู่พืช เพื่อจัดโปรแกรมการใช้สารสกัดให้สามารถนำมาควบคุมโรคได้ประสิทธิภาพสูงสุด

สรุป

การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดพืชในการควบคุมโรคแคงเกอร์มะนาวด้วยวิธี detached-leaf โดยใช้ สารสกัดพืช 13 ชนิด พบว่าสารสกัดพืช 10 ชนิด สามารถยับยั้งการเกิดโรคได้มากกว่า 75%เมื่อใช้สารสกัดก่อนการปลูกเชื้อ ได้แก่ หูปลาช่อน(copper leaf) กระเจี๊ยบแดง(roselle) บัวผัน (bua-phun) มะขามป้อม (emblic myrobalan) พลู่ (betel vine) ฝรั่ง (guava) ทับทิม(pomegranate) มะกอกป่า(hog plum) มะกอกฝรั่ง(otaheite apple) และ มะขาม(tamarind) และสารสกัดพืช 9 ชนิด สามารถยับยั้งการเกิดโรคได้มากกว่า 75% เมื่อใช้สารสกัดหลังการปลูกเชื้อได้แก่หูปลาช่อน(copper leaf) กระเจี๊ยบแดง(roselle) มะขามป้อม (emblic myrobalan) พลู่ (betel vine) ฝรั่ง (guava) ทับทิม(pomegranate) มะกอกป่า(hog plum) มะกอกฝรั่ง(otaheite apple) และมะขาม(tamarind) เมื่อทำการทดลองในโรงเรือนแบบ ระบาย พบว่าสารสกัดมะขามแสดงประสิทธิภาพในการควบคุมโรคดีที่สุดเมื่อทำการฉีดพ่นสารสกัดก่อนหรือหลังการปลูกเชื้อ และฉีดพ่นสารสกัดซ้ำอีกครั้งหลังการฉีดครั้งแรก 7 วัน โดยพบว่ามะนาวเป็นโรค 17.5% ในขณะที่มะนาวซึ่งทำการปลูกเชื้อโดยไม่มีการฉีดพ่นสารสกัดพืชเป็นโรค 100%

คำขอบคุณ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากสำนักงานกองทุนสนับสนุนงานวิจัย (สกว.) ผู้วิจัยขอขอบคุณมา ณ โอกาสนี้

เอกสารอ้างอิง

- ชลิดา เล็กสมบุรณ์, นิพนธ์ ทวีชัย, และวิชัย โฆสิตรัตน์.2541.ผลของสารสกัดจากพืชสมุนไพรไทยต่อการเจริญของแบคทีเรียสาเหตุโรคพืช.ในรายงานการประชุมทางวิชาการครั้งที่36, 3-5 กุมภาพันธ์ 2541มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์,กรุงเทพฯ.
- ชลิดา เล็กสมบุรณ์, นิพนธ์ ทวีชัย, วิชัย โฆสิตรัตน์, และยิ่งยง ไพบูลย์ตานติวัฒนา.2543.ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคพืชของสารสกัดจากพืชสมุนไพร.วารสารวิทยาศาสตร์ 54:91-97.
- พัฒนา สนธิรัตน์, ประไพศรี พิทักษ์ไพรวรรณ, ธนวัฒน์ กำแพงฤทธิ์รงค์, วิรัช ชูบำรุง, และอุบล คือประโคน.2537.ดรรชนีโรคพืชในประเทศไทย.กลุ่มงานวิทยาไมโค กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร.พิมพ์ที่ สหมิตรพรินติ้ง,นนทบุรี.285น.
- ณัฐริมา บุญวัฒน์.2534.บทบาทของพลาสมิด ดี เอ็น เอ ของเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคแคงเกอร์ของส้ม (*Xanthomonas campestris* pv. *citri* (Hasse)Dye) ต่อการต้านทานสารเคมีควบคุมโรคพืชประเภททองแดง.วิทยานิพนธ์ปริญญาโท.มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

อำเภอพรรณานิคม, วิทยุ ก่อประดิษฐ์สกุล, วิเชียร กำจายภัย, สุวัฒน์ อรรถธรรม, และ
นิพนธ์ ทวีชัย. 2527. โรคส้มในประเทศไทย. โรงพิมพ์ หจก. พันธุ์พืชลิขซึ่ง, กรุงเทพฯ.
125 น.

Cooksey, D.A. 1990. Genetics of bactericide resistance in plant pathogenic bacteria
Annu. Rev. Phytopathol. 28:201-219.

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.

Schaad, N.W. 1980. Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria.
APS Press, Minnesota. 72 p.

Swing, J.G. and E.L. Civerolo. 1993. *Xanthomonas*. Chapman & Hall, London. 399 p.

Uematsu, T., S. Chuenchitt, S. Karnjanarat, S. Vivithajinda, S. Nabheerong, S. Benjathikul,
S. Nilmanee, W. Dhirabhava, and D. Buangsuwon. 1983. Bacterial diseases on
economic crops in Thailand. Tropical Agriculture Research Center, Ministry of
Agriculture, Forestry and Fisheries, Japan, and Department of Agriculture,
Ministry of Agriculture and Cooperatives, Thailand. 266 p.

Figure 1 Detached-leaf of lime showing canker symptom after treated with plant extracts either before or after inoculation with *Xanthomonas campestris* pv. *citri* strain Xci 12

Figure 2 Inhibition of canker disease symptom development by plant extracts on lime (*Citrus aurantifolia*) after inoculation with *Xanthomonas campestris* pv. *citri*