

ผลการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคเหี่ยวในพริกชี้ฟ้า
ด้วยสารสกัดน้ำจากใบพืชวงศ์ Apocynaceae
In hibition effect on bacterial wilt in *Capsicum annum* L.
using a queous extracts of Apocynaceae leaves

นัตยา ยงกสิการณั

ACADEMIC JOURNAL

UTTARADIT RAJABHAT UNIVERSITY
<http://research.uru.ac.th>

ผลการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคเหี่ยวในพริกชี้ฟ้า
ด้วยสารสกัดน้ำจากใบพืชวงศ์ Apocynaceae

In hibition effect on bacterial wilt in *Capsicum annuum* L.
using a queous extracts of Apocynaceae leaves

นาตยา ยงกสิการณ *

สมเกียรติ พรพิสุทธิมาศ **

เฉลิมชัย วงศ์วัฒน์ ***

บทคัดย่อ

ในปัจจุบันการระบาดของโรคเหี่ยวเป็นปัญหาสำคัญที่เกิดขึ้นกับพริกชี้ฟ้า ส่งผลให้ผลผลิตและอัตราการส่งออกของพริกชี้ฟ้าลดลง จึงมีการใช้วิธีการกำจัดโรคเหี่ยวที่เกิดจากแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* โดยใช้ชีววิธี เพื่อลดการใช้สารเคมีที่เป็นสาเหตุทำให้เกิดอันตรายต่อมนุษย์และสิ่งแวดล้อมการวิจัยครั้งนี้จึงสนใจศึกษาสารสกัดด้วยน้ำจากใบพืชวงศ์ Apocynaceae จำนวน 11 ชนิด ได้แก่ บานบุรีเหลือง ชวนชม ตีนเป็ด แพงพวยฝรั่ง บานบุรีแคะระ บานบุรีม่วง ดาวประดับ ลั่นทมขาว ลั่นทมแดง ลั่นทมใบสร และบานบุรีหอม เพื่อยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียในระดับห้องปฏิบัติการและยับยั้งการเกิดโรคเหี่ยวจากแบคทีเรีย *R. solanacearum* ในระยะต้นกล้า ที่ระดับความเข้มข้นของสารสกัด 100, 200, 300, 400 และ 500 mg/mL ผลการวิจัย พบว่า สารสกัด บานบุรีเหลือง 500 mg/mL ให้ผลการยับยั้งการเจริญของ *R. solanacearum* ร้อยละ 43.57 ± 4.00 และเมื่อนำไปทดสอบในระยะต้นกล้า โดยใช้ความเข้มข้นของเซลล์แบคทีเรียแขวนลอย 5×10^5 cfu/mL พบว่า ที่ความเข้มข้น 500 mg/mL ลั่นทมใบสร (92.26 ± 0.40) และตีนเป็ด (91.85 ± 0.39) ให้ผลการยับยั้งการเจริญของต้นกล้าดีที่สุด ($p < .05$) แต่ให้ผลการยับยั้งน้อยกว่า *Bacillus subtilis* ซึ่งเป็นตัวควบคุมให้ผลบวก และเมื่อเปรียบเทียบความเข้มข้นของสารสกัดในระดับห้องปฏิบัติการ และในระยะต้นกล้าพริกชี้ฟ้า พบว่า ให้ผลแตกต่างกัน ความเข้มข้นของสารสกัดจากใบพืชวงศ์ Apocynaceae สามารถทำให้ต้นกล้าพริกเจริญเติบโตได้ดีที่สุดและลดความรุนแรงของโรคในระยะต้นกล้าพริกชี้ฟ้าอยู่ในช่วง 300 – 500 mg/mL

คำสำคัญ : สารสกัดด้วยน้ำ พริกชี้ฟ้า โรคเหี่ยวจากแบคทีเรีย

* หลักสูตรการศึกษามหาบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

** อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

*** อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

Abstract

The spread of the wilt diseases in *Capsicum annuum* L. is a currently major problem that can reduce the product and export rate of chilli. The bacterial wilt diseases were decreased by using biological control to reduce the use of chemicals causing harm to human and environment. This research aimed at studying the effect of aqueous leaf extracts of 11 species in Apocynaceae (i.e., *Allamanda cathartica* L., *Adenium obesum*, *Catharanthus roseus* (L.) G. Don., *Alstonia scholaris* (L.) R. Br., *Allamanda cathartica* L., *A. blanchetii* L., *Cryptostegia grandiflora* R. Br., *Plumeria obtusa* L., *P. rubra* L., *P. pudica* Jacq., and *Odontadenia macrantha*) on inhibiting the bacterial growth in the laboratory scale and wilt disease from *B. solanacearum* at seedling stage of chilli. The concentrations of extracts were 100, 200, 300, 400 and 500 mg/mL. The results showed that *Allamanda cathartica* L. (43.57±4.00) at concentration 500 mg/mL gave the highest inhibition to the bacterium. When tested at seedling stage of chilli plants by using the cell suspension of 5×10^5 cfu/mL, the lowest disease lesions were presented by using the leaf extracts from *P. pudica* Jacq. (92.26±0.40), and *Alstonia scholaris* (L.) R. Br. (91.85±0.3) ($p < .05$), but less than *Bacillus subtilis*, the positive control. In addition, the results from laboratory scale and at seedling stage of chilli plants were different. The concentrations of leaf extracts of Apocynaceae that can reduce the disease severity at seedling stage of chilli plants were in a range of 300 – 500 mg/mL.

Keywords: Aqueous extract, *Capsicum annuum* L., Bacterial wilt disease

บทนำ

Ralstonia solanacearum (ex. *Pseudomonas solanacearum*) เป็นแบคทีเรียก่อโรคที่สำคัญและกำลังแพร่ระบาดในประเทศแถบเอเชีย รวมถึงประเทศไทย อาศัยอยู่ในดิน ก่อโรคในพืชมากกว่า 200 สกกุลเช่น มันฝรั่ง มะเขือยาว พริก ยาสูบ มะเขือเทศ และกล้วย กระจายพันธุ์ได้เร็วมาก *B. solanacearum* เจริญในเนื้อเยื่อท่อลำเลียงน้ำ โดยเข้าทางบาดแผลหรือช่องเปิดธรรมชาติ บริเวณที่ติดเชื้อ ได้แก่ ราก ท่อลำเลียงน้ำ และมีการกระจายเข้าสู่ลำต้น และใบ (Meng. 2013) ซึ่งยังไม่มีสารเคมีชนิดใดกำจัดแบคทีเรียนี้ได้ ปัจจุบันมีการใช้ชีววิธีในการการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียนี้ เช่น *Bacillus subtilis* นอกจากนี้ยังมีรายงานว่า สารสกัดจากใบพลู สมอไทย และสมอพิเภกสามารถยับยั้งการก่อโรคเหี่ยวในขิงได้ (ชนิดา แสนโครต. 2552) สารสกัดจากขมิ้นชันยับยั้ง

การเจริญของ *R. solanacearum* และสาร Capsaicin ที่สกัดจากพริกที่มีความเข้มข้นสูง สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย *R. solanacearum* ได้ (Molina et al. 1999)

จากการศึกษาสารสกัดจากพืชบางชนิดในวงศ์ Apocynaceae พบว่า สารสกัดจากโหมกหลวงสามารถยับยั้ง *Staphylococcus aureus* ได้ดีที่ระดับความเข้มข้น 1,000 mg/mL (ธีรรุฒิ หวังอำนาจผล. 2550) ด้วยเหตุผลดังกล่าวผู้วิจัยจึงมีความสนใจสกัดสารจากใบพืชวงศ์ Apocynaceae ซึ่งเป็นพืชที่มีน้ำยางและมีรายงานว่ามีความสมบัติเป็นสารต้านแบคทีเรียและเชื้อรา (Ashikur et al. 2011; Sibi et al. 2013) เพื่อใช้ในการยับยั้งการเจริญของ *R. solanacearum* ในพริกชี้ฟ้าเนื่องจากยังไม่มีผลการรายงานผลการใช้สารสกัดจากพืชชนิดใดในวงศ์ Apocynaceae ในการยับยั้งโรคเหี่ยวที่เกิดจากแบคทีเรีย *R. solanacearum*

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารสกัดจากใบพืชวงศ์ Apocynaceae ในการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรค *R. solanacearum* ของโรคเหี่ยวในพริกชี้ฟ้า

ขอบเขตของการวิจัย

ศึกษาผลการยับยั้งการเจริญของโคโลนีแบคทีเรีย *R. solanacearum* ด้วยสารสกัดจากใบพืชวงศ์ Apocynaceae ทั้งหมด 11 ชนิด ได้แก่ บานบุรีเหลือง ขวนชม ตีนเป็ด แพงพวยฝรั่ง บานบุรีแคะระ บานบุรีม่วง ลั่นทมขาว ลั่นทมใบศร ลั่นทมแดง ดาวประดับ บานบุรีหอม ในระดับห้องปฏิบัติการ ศึกษาผลการยับยั้งการเกิดโรคเหี่ยวต่อต้นกล้าพริกชี้ฟ้าหลังการงอกและการเจริญเติบโตในกระถางปลูก

ขั้นตอนดำเนินการวิจัย

1. การเตรียมสารสกัดจากพืช

พืชที่ใช้ในการศึกษามีจำนวน 11 ชนิด ได้แก่ บานบุรีเหลือง (*Allamanda cathartica* L.) ขวนชม (*Adenium obesum* (Forssk.) Roem. &Schult.) ตีนเป็ด (*Alstonia scholaris* (L.) R. Br.) แพงพวยฝรั่ง (*Catharanthus roseus* (L.) G.Don) บานบุรีแคะระ (*Allamanda cathartica* L.) บานบุรีม่วง (*A. blanchetii* L.) ดาวประดับ (*Cryptostegia grandiflora* R. Br.) ลั่นทมขาว (*Plumeria obtusa* L.) ลั่นทมแดง (*P.rubra* L.) ลั่นทมใบศร (*P.pudica* Jacq.) และบานบุรีหอม (*Odontadenia macrantha*.)

นำใบพืชล้างด้วยน้ำสะอาด แช่ด้วยแอลกอฮอล์เข้มข้นร้อยละ 70 เป็นเวลา 3 นาที และตากให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นซังใบพืชบดด้วยโกร่งให้ละเอียดและผสมกับน้ำกลั่นปราศจากเชื้อแช่ทิ้งไว้เป็นเวลา 1 ชั่วโมง นำไปปั่นเหวี่ยง 6,000 รอบ/นาทีเป็นเวลา 10 นาที กรองแบคทีเรียด้วยแผ่นกรองแบคทีเรียขนาดรูพรุน 0.45 μm และปรับความเข้มข้นให้เป็น 100, 200, 300, 400 และ 500 mg/mL

2. การเตรียมแบคทีเรีย *R. solanacearum*

นำแบคทีเรีย *R. solanacearum* ที่ได้รับความอนุเคราะห์จากกลุ่มงานวิทยาไมโค กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักงานวิจัยการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร ใส่ขวดรูปชมพู่ที่มีอาหารเหลว Nutrient broth (NB) นำไปเขย่าที่ 200 รอบ/นาที และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 nm (OD_{600}) ให้มีค่าการดูดกลืนคลื่นแสง 0.6 (โดยประมาณ) ซึ่งมีค่าความเข้มข้นของแบคทีเรียประมาณ 5×10^5 cfu/mL (ชนิดา แสนโครต. 2552)

3. การทดสอบการยับยั้งการเจริญของโคโลนีแบคทีเรีย *R. solanacearum* ด้วยสารสกัดจากใบพืชวงศ์ Apocynaceae บนอาหาร Nutrient agar

นำสารสกัดจากใบพืชที่มีความเข้มข้น 100 - 500 mg/mL และตัวควบคุมให้ผลบวก (positive control) ได้แก่ *Bacillus subtilis* เข้มข้น 1.0 mg/mL นำสารสกัดและตัวควบคุมผลบวกที่เตรียมไว้ผสมกับอาหาร NA ซึ่งนิ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 ± 1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นหยดแบคทีเรียแขวนลอยเข้มข้น 5×10^5 cfu/mL ปริมาตร 100 ไมโครลิตรเขย่าให้กระจายในอาหาร NA อย่างสม่ำเสมอ (pour-plate technique) เมื่ออาหารแข็งตัวนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 28 ± 1 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำการทดลอง 3 ซ้ำ จากนั้นนับจำนวนโคโลนีที่เจริญ บนอาหาร NA เปรียบเทียบกับตัวควบคุมให้ผลบวก (*B. subtilis*) และตัวควบคุมให้ผลลบ (น้ำกลั่นปราศจากเชื้อ) โดยคำนวณร้อยละการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย ดังนี้

$$P = \frac{C - T}{C} \times 100$$

เมื่อ P = ร้อยละการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียบนอาหาร NA

C = จำนวนโคโลนีของแบคทีเรียที่เจริญบนอาหาร NA ผสมน้ำกลั่นปราศจากเชื้อ

T = จำนวนโคโลนีของแบคทีเรียที่เจริญบนอาหาร NA ผสมกับสารสกัดจากพืช

4. การทดสอบของสารสกัดจากใบพืชวงศ์ Apocynaceae ต่อดันกล้าพริกชี้ฟ้าหลังการออก

นำเมล็ดพริกชี้ฟ้าแช่ลงในสารสกัดจากใบพืชวงศ์ Apocynaceae ที่มีความเข้มข้น 100 - 500 mg/mL โดยใช้ *B. subtilis* เป็นตัวควบคุมให้ผลบวก และน้ำกลั่นปราศจากเชื้อเป็นตัวควบคุมให้ผลลบเป็นเวลา 12 ชั่วโมง จากนั้นนำแบคทีเรีย *R. solanacearum* ที่ความเข้มข้น 5×10^5 cfu/mL ปริมาตร 20 mL คลุกดินในกระถางปลูกขนาด 6x8 นิ้ว และนำเมล็ดพันธุ์ไปเพาะลงในกระถางปลูก

ทดสอบซ้ำ 3 ครั้ง (1 กระจก เพาะ 20 เมล็ด) ภายหลังจากครบ 21 วันของการเพาะเมล็ด คำนวณร้อยละ การเจริญเติบโตของต้นกล้าพริกชี้ฟ้าจากการหาร้อยละความยาวของลำต้นพริกชี้ฟ้า

5. การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ความแปรปรวนโดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomised design, CRD) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's new multiple range test (DMRT) ที่ช่วง ความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ผลการวิจัย

จากการทดสอบสารสกัดหยาบด้วยน้ำจากใบพืชวงศ์ Apocynaceae จำนวน 11 ชนิด ได้แก่ บานบุรีเหลือง ขวนชม ตีนเป็ด แพงพวยฝรั่ง บานบุรีแคะ บานบุรีม่วง ดาวประดับ ลั่นทมขาว ลั่นทมแดง ลั่นทมใบศร และบานบุรีหอม ในการยับยั้งการเจริญของ *R. solanacearum* บนอาหาร วุ้นแข็ง NA เปรียบเทียบกับน้ำกลั่นปราศจากเชื้อ และ *Bacillus subtilis* (ตารางที่ 1 และภาพที่ 1) พบว่า ที่ระดับความเข้มข้น 500 mg/mL บานบุรีเหลืองให้ร้อยละการยับยั้งการเจริญของ *R. solanacearum* สูงสุด (43.57 ± 4.00) และสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียนี้ได้ดีที่สุด ($p < .05$) รองลงมา ได้แก่ ลั่นทมขาว (37.47 ± 16.50) ตีนเป็ด (36.03 ± 2.50) ลั่นทมแดง (36.03 ± 2.50) ขวนชม (35.75 ± 16.00) ดาวประดับ (34.63 ± 2.00) บานบุรีแคะ (33.24 ± 1.5) บานบุรีม่วง (31.56 ± 1.00) บานบุรีหอม (31.56 ± 1.50) ลั่นทมใบศร (31.56 ± 2.50) และแพงพวยฝรั่ง (31.56 ± 7.50)

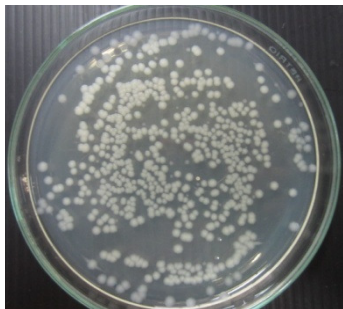
เมื่อเปรียบเทียบความเข้มข้นของสารสกัดหยาบด้วยน้ำจากใบพืชวงศ์ Apocynaceae ด้วยน้ำ พบว่า ความเข้มข้น 500 mg/mL ให้ผลการยับยั้ง *R. solanacearum* มากที่สุด ($p < .05$) ส่วน ความเข้มข้น 100 และ 200 mg/mL ให้ผลการยับยั้งต่ำที่สุด แต่เนื่องจากสารสกัดหยาบแต่ละชนิด แสดงผลการยับยั้งในห้องปฏิบัติการและในสิ่งมีชีวิต (*in vivo*) แตกต่างกัน (สมเกียรติ พรพิสุทธิมาศ และคณะ. 2552) จึงนำสารสกัดหยาบด้วยน้ำทุกชนิดและทุกความเข้มข้นไปทดสอบเบื้องต้นบนต้น กล้าพริกชี้ฟ้าในขั้นตอนถัดไป

เมื่อนำสารสกัดหยาบด้วยน้ำของใบพืชวงศ์ Apocynaceae ที่ทดสอบการยับยั้งในระดับ ห้องปฏิบัติการ มาทดสอบในระยะต้นกล้าของพริกชี้ฟ้า และเปรียบเทียบอัตราการเจริญเติบโตของ ต้นพริกชี้ฟ้า (ตารางที่ 2 และภาพที่ 2) พบว่า ลั่นทมใบศร (92.26 ± 0.40) ตีนเป็ด (91.85 ± 0.39) มีความรุนแรงของโรคต่ำที่สุด และมีผลให้ต้นพริกเจริญเติบโตดีที่สุด ($p < .05$) และความเข้มข้นของ สารสกัดหยาบด้วยน้ำจากใบพืชวงศ์นี้ให้ผลแตกต่างจากในระดับห้องปฏิบัติการ โดยความเข้มข้น ของสารสกัดจากใบพืชวงศ์นี้ที่ความเข้มข้น 300 – 500 mg/mL

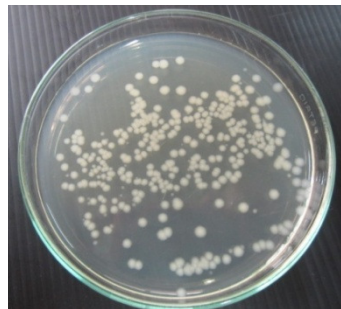
ตารางที่ 1 ร้อยละการยับยั้งการเจริญของ *B. solanacearum* ด้วยสารสกัดจากใบพืชวงศ์
Apocynace ด้วยน้ำ

สารสกัดหยาบ	ร้อยละการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย				
	100 mg/mL	200 mg/mL	300 mg/mL	400 mg/mL	500 mg/mL
ชวนชม	3.93 ^e ± 0.50	15.64 ^c ± 0.00	21.75 ^{d-c} ± 3.00	28.49 ^c ± 4.00	35.75 ^{b-c} ± 16.00
บานบุรีแคระ	10.33 ^d ± 2.50	18.99 ^b ± 2.00	25.41 ^{b-c} ± 1.50	28.77 ^c ± 0.80	33.24 ^c ± 1.5
บานบุรีเหลือง	5.30 ^{e-f} ± 6.50	23.18 ^a ± 7.50	34.61 ^a ± 3.00	39.66 ^a ± 0.00	43.57 ^a ± 4.00
บานบุรีม่วง	13.69 ^b ± 3.50	20.11 ^{a-b} ± 5.00	22.34 ^d ± 4.00	28.77 ^c ± 1.50	31.56 ^d ± 1.00
บานบุรีหอม	17.59 ^a ± 3.00	17.59 ^{b-c} ± 2.50	24.02 ^{c-d} ± 3.00	29.88 ^{b-c} ± 0.50	31.56 ^d ± 1.50
ลั่นทมขาว	9.49 ^{d-c} ± 3.00	13.12 ^d ± 7.50	15.08 ^f ± 0.00	27.65 ^{c-d} ± 13.50	37.47 ^{a-b} ± 16.50
ลั่นทมแดง	17.31 ^a ± 1.00	23.18 ^a ± 2.50	26.53 ^{b-c} ± 2.50	31.00 ^b ± 2.50	36.03 ^b ± 2.50
ลั่นทมใบศร	12.01 ^b ± 1.50	17.6 ^{b-c} ± 0.50	25.69 ^{b-c} ± 0.00	28.49 ^c ± 0.00	31.56 ^d ± 2.50
ตีนเป็ด	1.67 ^f ± 1.00	14.8 ^{c-d} ± 3.50	15.92 ^f ± 8.5	21.78 ± 1.50	36.31 ^b ± 13.00
ดาวประดับ	12.8 ^b ± 2.00	18.71 ^b ± 2.50	24.86 ^{c-d} ± 1.50	29.05 ^{b-c} ± 1.00	34.63 ^{b-c} ± 2.00
แพงพวยฝรั่ง	11.75 ^{c-d} ± 3.00	12.01 ^d ± 2.5	17.88 ^e ± 6.00	25.41 ^d ± 1.50	31.56 ^d ± 7.50

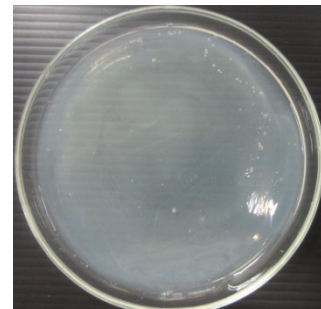
หมายเหตุ *Bacillus subtilis* เข้มข้น 1mg/mL ให้ร้อยละการยับยั้งแบคทีเรียเท่ากับ 100



(ก)



(ข)



(ค)

ภาพที่ 1 การเจริญของโคโลนีแบคทีเรียบนอาหารวุ้นแข็ง NA ผสมกับ (ก) น้ำกลั่น
ปราศจากเชื้อ (ข) สารสกัดหยาบจากใบบานบุรีเหลือง 500 mg/mL และ (ค) *Bacillus subtilis*
แขวนลอยเข้มข้น 1mg/mL

ที่มา: ห้องปฏิบัติการหน่วยวิจัยวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยี และสิ่งแวดล้อมเพื่อการเรียนรู้ คณะ
วิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

ตารางที่ 2 การทดสอบสารสกัดหยาดด้วยน้ำของใบพืชวงศ์ Apocynaceae ในระยะต้นกล้าพริก
ซีฟฟ้าที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน

สารสกัดหยาด	ร้อยละการเจริญเติบโตของต้นกล้าพริกซีฟฟ้า				
	100 mg/mL	200 mg/mL	300 mg/mL	400 mg/mL	500 mg/mL
ชวนชม	58.04 ^{d-e} ±0.33	67.00 ^{c-d} ±0.39	76.37 ^{b-c} ±0.39	78.00 ^b ±0.41	79.22 ^{a-b} ±0.40
บานบุรีแคระ	63.34 ^{c-d} ±0.35	72.10 ^{b-c} ±0.42	73.11 ^c ±0.39	82.98 ^{ab} ±0.46	87.58 ^{a-b} ±0.50
บานบุรีเหลือง	67.21 ^c ±0.40	67.82 ^{c-d} ±0.40	78.20 ^b ±0.44	78.41 ^c ±0.44	90.63 ^{a-b} ±0.46
บานบุรีม่วง	59.87 ^d ±0.34	63.95 ^{c-e} ±0.37	71.70 ^{c-d} ±0.42	76.78 ^{c-d} ±0.39	78.21 ^{a-b} ±0.34
บานบุรีหอม	73.11 ^a ±0.40	77.60 ^a ±0.43	86.15 ^a ±0.40	83.91 ^{a-b} ±0.48	84.32 ^{a-b} ±0.39
ลั่นทมขาว	63.34 ^{c-d} ±0.35	63.74 ^{c-d} ±0.36	68.02 ^d ±0.39	72.91 ^d ±0.41	73.31 ^b ±0.41
ลั่นทมแดง	61.71 ^{c-d} ±0.34	71.89 ^b ±0.42	76.98 ^{b-c} ±0.42	77.19 ^c ±0.36	84.12 ^{a-b} ±0.36
ลั่นทมใบศร	60.08 ^{c-e} ±0.35	75.96 ^{a-b} ±0.43	76.78 ^{b-c} ±0.41	88.78 ^a ±0.49	92.26 ^a ±0.40
ตีนเป็ด	70.26 ^b ±0.40	72.58 ^{b-c} ±0.42	72.91 ^c ±0.38	84.11 ^{a-b} ±0.42	91.85 ^a ±0.39
ดาวประดับ	58.45 ^{d-e} ±0.24	64.35 ^{c-d} ±0.31	66.19 ^{d-e} ±0.36	79.02 ^{b-c} ±0.44	82.28 ^{a-b} ±0.40
แพงพวยฝรั่ง	58.85 ^{d-e} ±0.34	59.26 ^e ±0.33	71.69 ^{c-d} ±0.37	73.72 ^d ±0.30	79.83 ^{a-b} ±0.44
หมายเหตุ	<i>Bacillus subtilis</i> เข้มข้น 1 mg/mL ให้ร้อยละการยับยั้งเท่ากับ (95.92±0.35) และน้ำกลั่นให้ความ รุนแรงต่อโรค (56.41±0.28)				



(ก)



(ข)



(ค)



(ง)

ภาพที่ 2 การยับยั้งการก่อโรคเหี่ยวในระยะต้นกล้าพริกชี้ฟ้าโดยนำเมล็ดแช่ลงใน (ก) สารสกัด
หยาบจากใบลั่นทมใบศร 500 mg/mL (ข) สารสกัดหยาบจากใบตีนเป็ด 500 mg/mL
(ค) น้ำกลั่นปราศจากเชื้อ (ง) *Bacillus subtilis* แชนลอยเข้มข้น 1 mg/mL

ที่มา: โรงเรือนปฏิบัติการ หน่วยวิจัยวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยี และสิ่งแวดล้อมเพื่อการเรียนรู้ คณะ
วิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

สรุปและอภิปราย

ในงานวิจัยครั้งนี้ได้ทำการสกัดสารด้วยน้ำจากใบพืชวงศ์ Apocynaceae และนำไปทดสอบ
ในระดับห้องปฏิบัติการบนอาหารวุ้นแข็ง NA และในระยะต้นกล้าของพริกชี้ฟ้า จากการศึกษาข้อมูล
พบว่ายังไม่มีสารเคมีชนิดใดที่สามารถกำจัด *R. solanacearum* แต่มีการใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์
Bacillus subtilis แทน ซึ่งบูรณี พัวพงษ์แพทย์ และคณะ (2554) รายงานว่า *B. subtilis* จำนวน 7
สายพันธุ์สามารถยับยั้งการเจริญของ *R. solanacearum* ในห้องปฏิบัติการได้ และมีจำนวน 2 สาย
พันธุ์ที่สามารถควบคุมโรคเหี่ยวของพริกในเรือนทดลองได้ จึงนำ *B. subtilis* มาใช้เป็นตัวควบคุมให้
ผลบวกในงานวิจัยนี้ จากผลการทดลองในระดับห้องปฏิบัติการ พบว่า บานบุรีเหลืองให้ผลยับยั้ง
แบคทีเรียได้ดีที่สุด แต่เมื่อนำมาทดสอบในระยะต้นกล้าของพริกชี้ฟ้า พบว่า ลั่นทมใบศรและ
ตีนเป็ดสามารถยับยั้งการก่อโรคได้ดีที่สุด เนื่องจากสารสกัดหยาบแต่ละชนิดแสดงผลการยับยั้งใน

ห้องปฏิบัติการและในสิ่งมีชีวิต (*in vivo*) แตกต่างกัน (สมเกียรติ พรพิสุทธิมาศ และคณะ. 2552) รองลงมา ได้แก่ บานบุรีเหลือง บานบุรีแคะระ ลั่นทมแดง ดาวประดับฟ้า บานบุรีหอม ชวนชม แพงพวยฝรั่ง บานบุรีม่วง และลั่นทมขาว ตามลำดับ สอดคล้องกับงานวิจัยของ Marufaet al. (2015) ซึ่งสกัดสารสกัดหยาบจากดอกเข็ม ชบา ผักบุ้งรั้ว บานบุรีเหลือง บัวเผื่อน และแพงพวยฝรั่ง ที่เก็บได้ในเมืองธากา ด้วยน้ำ เอทานอล และเมทานอล โดยใช้ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย *E. coli*, *Pseudomonas spp.*, *Vibrio spp.*, *Bacillus spp.*, *Klebsiella spp.*, *Staphylococcus spp.*, *Listeria spp.* และ *Salmonella spp.* ในระดับห้องปฏิบัติการ พบว่า สารสกัดจากดอกบานบุรีเหลือง ที่สกัดด้วยน้ำสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย *Bacillus spp.* ได้ดีที่สุด รองลงมาคือ *Klebsiella spp.* และ *E. coli* เพราะใช้น้ำเป็นตัวทำละลายสารสกัดจากใบและดอกของบานบุรีในงานวิจัยนี้อาจมีสารออกฤทธิ์ที่มีชีวปานกลาง (เฉลิมชัย วงศ์วัฒน์ และสมเกียรติ พรพิสุทธิมาศ, 2558) จึงสามารถยับยั้งแบคทีเรีย *R. solanacearum* ได้

จากผลการวิจัย สารสกัดจากพืชวงศ์ Apocynaceae จึงเป็นทางเลือกใหม่ในการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคเหี่ยวในพริกชนิด *R. solanacearum* ซึ่งไม่เป็นอันตรายต่อสิ่งมีชีวิตและสิ่งแวดล้อม โดยต้องทดสอบในระดับแปลงปลูกและผลผลิตหลังเก็บเกี่ยวต่อไป นอกจากนี้ยังควรศึกษาการยับยั้งการเจริญแบคทีเรียหรือจุลินทรีย์ก่อโรคพืชชนิดอื่น เนื่องจากยังมีรายงานการใช้สารสกัดจากพืชวงศ์นี้ในการควบคุมจุลินทรีย์ก่อโรคพืชน้อยมาก

ข้อเสนอแนะ

1. สามารถนำสารสกัดด้วยน้ำจากพืชวงศ์ Apocynaceae ไปใช้แทนสารเคมีซึ่งเป็นอันตรายต่อสิ่งมีชีวิตได้
2. สามารถนำพืชวงศ์ Apocynaceae สกัดด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ เพื่อเป็นแนวทางในการพัฒนางานวิจัยต่อไป

เอกสารอ้างอิง

- เฉลิมชัย วงศ์วัฒน์ และสมเกียรติ พรพิสุทธิมาศ. 2558. ศักยภาพทางอัลลีโลพาตีของใบพืชวงศ์ *Apocynaceae* บางชนิด. วารสารหน่วยวิจัยวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยี และสิ่งแวดล้อมเพื่อการเรียนรู้ 6(2): 256-267.
- ชลิดา แสนโครต.(2552). การศึกษากลุ่มสารออกฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Ralstonia solanacearum* สาเหตุโรคเหี่ยวของขิง.วิทยานิพนธ์หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาโรคพืช มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์กรุงเทพฯ.
- บุรณิพัทธ์พงษ์แพทย์ ณีภูริมา โฆษิตเจริญกุล นาทยา จันทร์ส่อง และวงศ์ บุญสืบสกุล. (2554). การคัดเลือกและทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อ *Bacillus subtilis* ในการควบคุมเชื้อ *Ralstonia solanacearum* สาเหตุโรคเหี่ยวในพริก. กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช สำนักวิจัยและพัฒนาเกษตรกรรมเขตที่ 4.
- สมเกียรติ พรพิสุทธิมาศ, ขจรพรรณ รักษ์ผล และสมฤทัย หอมชื่น. 2552. ผลของการใช้น้ำหมักชีวภาพในการยับยั้งการเจริญของราก่อโรคใบร่วงบนต้นยางพารา. การประชุมวิชาการพฤกษศาสตร์แห่งประเทศไทย ครั้งที่ 3. คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล กรุงเทพฯ.
- Araud-Razou, I., Vasse, J., Montrozier, H., Etchebar, C., &Trigalet, A. (1998). Detection and visualization of the major acidic exopolysaccharide of *Ralstoniasolanacearum* and its role in tomato root infection and vascular colonization. *European Journal of Plant Pathology* 104: 795-809.
- Ashikur, R. M., Hasanuzzaman, M., Mofizur, R. M., Zahan, S.I., Muhuri, R.S. (2011). Evaluation of antibacterial activity of study of leaves of *Tabernaemontana divericata* (L). *International Research Journal of Pharmacy* 2(6): 123-127.
- Marufa, S., Prangan, D.B., Laboni, P., Fouzia, F.K.C., Sarh, A., Mrityunjoy, A., Tasmina, R., & Rashed, N., (2015). study of microbial proliferation and the *in vitro* antibacterial traits of commonly available flowers in Dhaka Metropolis. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease* 5(2): 91-97.
- Meng, J. (2013). *Ralstoniasolanacearum* species complex and bacterial wilt disease. *Bacteriology and Parasitology* 4: 2.

- Molina, T.J, Garcia, C. A.,& Ramirez, C. E.(1999). Antimicrobial properties of alkaloids present in flavouring plants traditionally used in Mesoamerica: Affinin and capsaicin. **Ethnopharmacology**64: 241-248.
- Sibi, G., Wadhavan, R., Singh, S., Shukla, A., Dhananjaya, K., Ravikumar, K. R., & Mallesha, H. (2013). Plant latex: A promising antifungal agent for post harvest disease control. **Pakistan Journal of Biological Sciences** 16(23): 1737-1743.