Agricultural Sci. J. 33 : 6 (Suppl.) : 16-22 (2002) **ว. วิทย. กษ. 33 : 6 (พิเศษ) : 16-22 (2545)**

ผลของสารสกัดจากพืชสมุนไพรและจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ต่อการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคเน่าของแง่งขิงระหว่างการเก็บรักษา

Effects of Medicinal Plant Extracts and Antagonistic Microorganisms on Growth of Pathogenic Fungus of Ginger Rhizome Rot during Storage

ชวเลิศ ตรีกรุณาสวัสดิ์[1] และ วิชัย ก่อประดิษฐ์สกุล[1]

Chawalert Trikarunasawat[1] and Vichai Korpraditskul[1]

Abstract

Fusarium oxysporum was isolated and identified as causal organism of ginger rhizome rot during storage. Two hundred and sixty six isolates of microorganism were isolated from soil, root and rhizome samples, which were collected from 12 ginger fields in Northern, Northeastern and Southern part of Thailand. All isolates were tested for antagonistic ability to the pathogenic fungi (*Fusarium oxysporum*) by spot inoculation method. Forty-seven isolates of fungi and 17 isolates of bacteria showed their ability as antagonistic microorganism. Crude extracts of 31 dry medicinal plant species were extracted with 95% ethanol and tested for the efficacy on growth inhibition of *F. oxysporum* by filter paper disc method. Two species of medicinal plant extracts namely betal vine leaves (*Piper betal* L.) and clover (*Syzygium aromaticum* L.), at 100,000 ppm inhibited negative growth 78.27 and 65.49%, respectively compared to 1,000 ppm of Imazalil fungicide. The solvent partition with petroleum ether and ethylacetate revealed that active compound in clove was low polarity compound while the betal vine leave was moderate polarity compound.

To enhance the efficacy of antagonistic microorganisms, three chemicals, namely D-fructose $CaCl_2$ and Chitosan, were tested by poisoned food technique on vegetative growth of *F. oxysporum.* The results showed that Chitosan at 0.6% gave the highest growth inhibition percentage, 75.33%, whereas $CaCl_2$ at 4% gave 66.67 growth inhibition percentage. The concentrations of $CaCl_2$ lower than 1% and all concentration of D-fructose (0.5 to 4%) slightly stimulated the vegetative growth of the pathogen.

บทคัดย่อ

ได้ทำการแยกเชื้อสาเหตุโรคเน่าหลังการเก็บเกี่ยวของขิงโดยวิธี Tissue transplanting technique พบว่าเป็นเชื้อรา *Fusarium oxysporum* เมื่อนำเชื้อราและแบคทีเรียทั้งหมด 266 ไอโซเลตที่แยกได้จากดิน แง่งและรากขิงจากแหล่งปลูกในภูมิภาคต่างๆ 12 แหล่งมาทดสอบปฏิกิริยาการเป็นปฏิปักษ์ พบว่ามีเชื้อรา 47 ไอโซเลตและแบคทีเรีย 17 ไอโซเลตที่แสดงปฏิกิริยาการเป็นปฏิปักษ์กับเชื้อโรค และจากการคัดเลือกพืชสมุนไพรเพื่อใช้ในการควบคุมโรคเน่าหลังการเก็บเกี่ยวของขิง โดยการสกัดสารสกัดหยาบจากพืชสมุนไพรทั้งหมด 31 ชนิด ด้วยเมทธานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *F. oxysporum* โดยวิธี Filter paper disc method พบว่ามีเพียง 2 ชนิดคือ พลู และกานพลูที่ระดับความเข้มข้น 100,000 ppm ที่ทำให้เกิดบริเวณใส (clear zone) รอบชิ้นกระดาษกรอง มีเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณใสเท่ากับ 78.27 และ 65.49 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับสาร Imazalil ความเข้มข้น 1,000 ppm ซึ่งใช้เป็นตัวเปรียบเทียบ และจากการสกัดด้วยวิธีแบ่งปันการละลายกับปิโตรเลียมอีเทอร์และเอธิลอะซีเตท พบว่าสารออกฤทธิ์ในกานพลูเป็นสารที่มีขั้วน้อย (low polarity) ขณะที่สารออกฤทธิ์ในพลูเป็นสารที่มีขั้วปานกลาง (moderate polarity)

ในการทดสอบใช้สารเคมีเพิ่มประสิทธิภาพของเชื้อปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคเน่าของแง่งขิงหลังการเก็บเกี่ยวของขิง วิธีการทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *F. oxysporum* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่เติมสาร Chitosan, $CaCl_2$ และ D-fructose พบว่าสาร Chitosan ที่ความเข้มข้น 0.6 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อโรคได้สูงสุดคือ 75.33 เปอร์เซ็นต์ สาร $CaCl_2$ ที่ความเข้มข้น 4 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งการเจริญเท่ากับ 66.67 เปอร์เซ็นต์ แต่ที่ความเข้มข้นต่ำกว่า 1 เปอร์เซ็นต์ และสาร D-fructose ทุกระดับความเข้มข้น (0.5 ถึง 4 เปอร์เซ็นต์) ช่วยกระตุ้นการเจริญของเชื้อโรคได้

คำนำ

ขิง (*Zingiber officiginale* Roscae.) ถูกนำมาใช้ประโยชน์มาตั้งแต่สมัยโบราญ เป็นทั้งพืชผักเป็นพืชสมุนไพรหรือเครื่องเทศ ประเทศไทยเริ่มมีการส่งออกขิงตั้งแต่ปี พ.ศ. 2518 ในปี พ.ศ. 2543 มีปริมาณการส่งออก 27,780 ตัน มูลค่า 735 ล้านบาท

[1] ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน นครปฐม 73140

Department of Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Kamphaengsaen, Nakhon Plathom 73140

(กรมศุลกากร, 2544) ปัญหาที่พบในการส่งออกโดยเฉพาะในขิงสดคือโรคเน่าของแง่งขิงที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* (ประวัติ และคณะ, 2521) ซึ่งเป็นอุปสรรคในการส่งออกไปยังประเทศไกลๆ โรคเน่าของแง่งขิงระหว่างการเก็บรักษามีรายงานครั้งแรกในประเทศอินเดียตั้งแต่ปี ค.ศ. 1952 โดยพบว่าแง่งขิงที่เก็บรักษาไว้มีเส้นใยเชื้อราเจริญปกคลุม โดยรายงานว่าเป็นเชื้อรา *Fusarium roseum* ซึ่งไม่แสดงอาการโรคเมื่อปลูกเชื้อบนแง่งขิงปกติ แต่ทำให้เกิดโรคเน่าเมื่อปลูกเชื้อลงในบาดแผล จึงสรุปว่าเชื้อนี้เป็น secondary invader หรือ wound invader ของแง่งขิง (Mehrotra, 1952) ศศิธร และคณะ (2529) ได้รายงานการสำรวจโรคขิง ถึงโรคเน่าของแง่งขิงที่เกิดจากเชื้อรา *Pythium* sp., *Sclerotium* sp. และ *Fusarium* sp. พบในแปลงปลูกบางแหล่ง แต่การระบาดไม่รุนแรงมากเท่าโรคเน่าที่เกิดจากแบคทีเรีย

ที่ผ่านมาการควบคุมโรคหลังการเก็บเกี่ยวมีการใช้สารสังเคราะห์มาตลอด แต่ช่วง 10 ปีที่มานี้ ความปลอดภัยของผู้บริโภคถูกนำมาพิจารณาเป็นอันดับต้นๆ โดยเฉพาะในการผลิตพืชอาหาร ในสหรัฐอเมริกามีการยกเลิกการใช้สารกำจัดราหลายชนิดกับผลผลิตหลังการเก็บเกี่ยว ซึ่งหลายประเทศในแถบยุโรปก็จะสั่งยกเลิกในลักษณะเดียวกันในไม่ช้า จึงจำเป็นต้องพัฒนาวิธีการควบคุมโรคหลังการเก็บเกี่ยวที่มีประสิทธิภาพขึ้นมาทดแทน โดยคำนึงถึงการรักษาสภาพแวดล้อมและสุขภาพของผู้บริโภค วิธีการควบคุมทางชีวภาพอาจเป็นวิธีการหนึ่งที่ช่วยให้สามารถควบคุมได้ (Chalutz and Droby, 1998) จากรายงานของ Mukherjee and Raghu (1997) กล่าวว่าเชื้อรา *Trichoderma* sp. สามารถป้องกันการเน่าเสียระหว่างการเก็บรักษาและขนส่งของพืชหัวเช่น บีท และแครอท ที่เกิดจากเชื้อ *Sclerotium rolfsii* ซึ่ง Droby *et al.*, 1997 ได้รายงานว่าการเติม $CaCl_2$ ลงใน cell suspension ของเชื้อยีสต์ *Pichia guilliermondii* strain US-7 สามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการควบคุมโรค gray mould (*Penicillium digitatum*) ใน Grapefruit ได้อย่างมีนัยสำคัญ ส่วนน้ำตาลฟรุคโตสสามารถเพิ่มประสิทธิภาพของเชื้อยีสต์ *Metschnikowia pulcherrima* ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อก่อโรค *Botrytis cinerea* สาเหตุโรคผลเน่าบนผลแอปเปิลได้ (Piano *et al.*, 1997) นอกจากนั้น เนื่องพณิช และคณะ (2535) ยังพบว่าสารสกัดจากประยงค์และหนุมานประสานกายสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราโรคพืชหลายชนิด เช่น *Alternaria* sp., *Macrophomina* sp., *Fusarium* sp. และ *Sclerotium* sp.

การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อคัดแยกชนิดจุลินทรีย์และพืชสมุนไพร ศึกษาการเป็นปฏิปักษ์ของจุลินทรีย์ ประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืชสมุนไพรและสารบางชนิดที่ใช้ในการควบคุมเชื้อก่อโรคเน่าของแง่งขิงระหว่างการเก็บรักษา

อุปกรณ์และวิธีการ

แยกเชื้อราเชื้อราสาเหตุโรคเน่าจากแง่งขิงที่เน่าระหว่างการเก็บรักษาโดยวิธี Tissue transplanting เชื้อราที่แยกได้นำมาพิสูจน์ว่าเป็นเชื้อสาเหตุของโรคตามสมมติฐานของ Koch พบว่าเป็นเชื้อรา *Fusarium oxysporum*

การแยกเชื้อจุลินทรีย์เพื่อใช้คัดเลือกเชื้อปฏิปักษ์จากแหล่งต่างๆ และการทดสอบปฏิกิริยาเพื่อคัดเลือกเชื้อปฏิปักษ์ต่อเชื้อราสาเหตุโรคในอาหารเลี้ยงเชื้อ

เก็บตัวอย่างดินจากแปลงปลูกขิงในแหล่งปลูกตามภูมิภาคต่างๆ นำมาแยกเชื้อด้วยวิธี Dilution plate (Dhingra and James, 1995) เก็บเชื้อที่เจริญมาเลี้ยงในอาหาร ซึ่งได้เชื้อราและแบคทีเรียดังตารางที่ 1 นำเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นเชื้อรามาทดสอบการเป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อสาเหตุโรคโดยวิธี spot inoculation (บรรเจิด และจิระเดช, 2529) ส่วนเชื้อปฏิปักษ์ที่เป็นเชื้อแบคทีเรียใช้วิธี Filter paper disc method (Dhingra and James, 1995)

ตารางที่ 1 สถานที่เก็บตัวอย่างดิน แง่งและรากขิงในแหล่งปลูกตามภูมิภาคต่างๆ และเชื้อจุลินทรีย์ที่แยกได้ (ไอโซเลต)

สถานที่	เชื้อรา	แบคทีเรีย
ภาคเหนือ		
1. บ้านโคกมน อ.น้ำหนาว จ.เพชรบูรณ์	40	14
2. บ้านห้วยทรายเหนือ ต.ห้วยทราย อ.นครไทย จ.พิษณุโลก	22	14
3. บ้านห้วยทรายใต้ ต.ห้วยทราย อ.นครไทย จ.พิษณุโลก	23	10
4. บ้านห้วยมะแกง ต.ป่าแดด อ.สรวย จ.เชียงราย	17	18
5. ต.แม่พูลหลวง อ.เวียงป่าเป้า จ.เชียงราย	-	6
6. แปลงริมถนนระหว่างทางจาก อ.เวียงป่าเป้า-อ.พร้าว จ.เชียงใหม่	8	12
7. บ้านป่าบงงาม ต.เมืองนะ อ.เชียงดาว จ.เชียงใหม่	6	16
8. หมู่บ้านชาวเขา ต.สบป่อง อ.ปางมะผ้า จ.แม่ฮ่องสอน	15	14
9. อ. งาว จ.ลำปาง	10	7
ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ		
1. บ้านแก่ง ต.ร่องจิก อ.ภูเรือ จ.เลย	24	4

ภาคใต้			
1. บ้านห้วยน้ำเขียว ต.ร่อนทอง อ.บางสะพาน จ.ประจวบคีรีขันธ์		15	4
2. ต.ธรรมรัตน์ อ.บางสะพาน จ.ประจวบคีรีขันธ์		13	9
	รวม 12 แหล่ง	148	118

การเตรียมสารสกัดจากพืชสมุนไพร การแบ่งปันการละลาย (Solvent partition) และการทดสอบสารสกัดพืชสมุนไพรบางชนิดต่อเชื้อสาเหตุโรค

เตรียมโดยนำพืชสมุนไพรแห้งบดละเอียดจำนวน 10 กรัม เติมเอทธานอล 95 เปอร์เซ็นต์ เก็บเป็นเวลา 3 วัน กรองด้วยกระดาษกรอง กากที่เหลือนำมาสกัดซ้ำอีก 2 ครั้ง ส่วนของเอทธานอลนำมาระเหยให้แห้งด้วยเครื่องกลั่นระเหยสุญญากาศ (Rotary evaporator) ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ส่วนการแบ่งปันการละลาย จะสกัดพืชสมุนไพรด้วยเมธานอล 70 เปอร์เซ็นต์ ตามวิธีการเดียวกัน แล้วนำสารสกัดที่ได้มาทำการแบ่งปันการละลายกับปิโตเลียมอีเทอร์เพื่อแยกสารที่มีขั้ว (Polarity) น้อยที่สุดออกมาก่อน นำส่วน Aqueous มาทำการแบ่งปันการละลายกับเอทธิลอะซีเตทเพื่อแยกสารที่มีขั้วปานกลางออกมา

การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืชสมุนไพรโดยวิธี Filter paper disc method โดยใช้สารสกัดจากพืชสมุนไพรความเข้มข้น 10,000 50,000 และ 100,000 ppm จำนวน 10 ไมโครลิตร นำมาหยดลงบนชิ้นกระดาษกรอง ปล่อยให้แห้ง แล้วหยดซ้ำอีก 2 ครั้ง โดยมีเอทธานอล 95 เปอร์เซ็นต์ และ Imazalil ความเข้มข้น 1,000 ppm เป็นตัวเปรียบเทียบ

การทดสอบสารบางชนิดต่อเชื้อสาเหตุโรคในสภาพอาหารเลี้ยงเชื้อ

เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่มี D-fructose 0.5 1 2 และ 4 เปอร์เซ็นต์ $CaCl_2$ ความเข้มข้น 0.5 1 2 และ 4 เปอร์เซ็นต์ และ Chitosan ความเข้มข้น 0 0.1 0.2 0.3 0.4 และ 0.6 เปอร์เซ็นต์ เตรียมโดยละลายใน 1 เปอร์เซ็นต์ acetic acid โดยมี Imazalil 1000 ppm และไม่เติมอะไรเลย (control) เป็นตัวเปรียบเทียบ จากนั้นวางชิ้นวุ้นที่มีเชื้อรา *F. oxysporum* ตรงกลาง ตรวจผลโดยวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนี ค่าที่ได้นำมาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญ (% growth inhibition)

ผลและวิจารณ์

จากการแยกเชื้อราสาเหตุโรคเน่าของแง่งขิงระหว่างการเก็บรักษา เมื่อตรวจสอบแล้วพบว่าเป็นเชื้อรา *Fusarium oxysporum* สอดคล้องกับรายงานของ ประวัติ และคณะ (2521) ที่พบการเน่าเสียของขิงระหว่างการทดลองการเก็บรักษาเพื่อการส่งออก ซึ่งศศิธร และคณะ (2529) ได้รายงานว่าพบโรคเน่าของแง่งขิงที่เกิดจากเชื้อราในแปลงปลูกบางแหล่งโดยมีเชื้อ *Fusarium sp.* เป็นหนึ่งในเชื้อสาเหตุ แต่การระบาดไม่รุนแรงเท่าโรคเน่าที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย นอกจากนั้น Rath and Misha (1993) ก็ได้รายงานว่าสามารถแยกเชื้อรา *F. oxysporum* จากตัวอย่างแง่งขิงที่เก็บจากท้องตลาดและแหล่งเพาะปลูกเช่นกัน จากข้อมูลดังกล่าวชี้ให้เห็นว่าในสภาพแปลงอาจพบเชื้อ *F. oxysporum* อยู่โดยทั่วไปแต่ไม่ก่อให้เกิดโรครุนแรง อาจเนื่องมาจากคุณลักษณะของเชื้อเองหรือสภาพแวดล้อมไม่เหมาะสม เมื่อสภาพแวดล้อมในขณะเก็บรักษาเอื้ออำนวยจึงเกิดการเน่าขึ้น และเชื้อสามารถอยู่รอดบนแง่งขิงหลังจากเก็บเกี่ยวไปจนตลอดกระบวนการหลังการเก็บเกี่ยว จนถึงขั้นตอนการเก็บรักษาและทำให้เกิดการเน่าเสียขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Doroo (1989) ที่กล่าวว่าการเน่าของแง่งขิงระหว่างการเก็บรักษามีสหสัมพันธ์เชิงบวกกับเข้าทำลายของ *F. oxysporum* f.sp. *zingiberi* ขณะอยู่ในสภาพแปลง

การแยกเชื้อจุลินทรีย์เพื่อใช้คัดเลือกเชื้อปฏิปักษ์จากแหล่งต่างๆ และการทดสอบปฏิกิริยาเพื่อคัดเลือกเชื้อปฏิปักษ์ต่อเชื้อราสาเหตุโรคในอาหารเลี้ยงเชื้อ

การทดสอบเชื้อราที่แยกได้ทั้งหมด 148 ไอโซเลต (ตารางที่ 2) พบว่ามี 29 ไอโซเลตที่มีปฏิกิริยาการเป็นปฏิปักษ์แบบ Parasitism โดยสามารถเจริญอย่างรวดเร็วและคลุมเชื้อ *F. oxysporum* ได้ มี 4 ไอโซเลตที่มีปฏิกิริยาการเป็นปฏิปักษ์แบบ Competitive คือเจริญมาบรรจบกันแล้วหยุดการเจริญ และอีก 14 ไอโซเลตที่มีปฏิกิริยาการเป็นปฏิปักษ์แบบ Antibiosis สามารถควบคุมเชื้อสาเหตุโรคได้โดยสร้างสารปฏิชีวนะทำให้เกิดบริเวณใส (Clear zone) ระหว่างเชื้อปฏิปักษ์กับเชื้อ *F. oxysporum* ส่วนผลการทดสอบปฏิกิริยาการเป็นปฏิปักษ์ของเชื้อแบคทีเรียพบว่ามี 17 ไอโซเลต ที่แสดงปฏิกิริยาการเป็นปฏิปักษ์ โดยแบ่งเป็นปฏิกิริยาแบบ Competitive 9 ไอโซเลต แบบ Antibiosis 8 ไอโซเลต อย่างไรก็ตาม จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่พบมีคุณสมบัติที่แตกต่างกันทั้งในแง่ประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อ *F. oxysporum* และความเหมาะสมที่จะนำมาใช้ควบคุมโรคหลังการเก็บเกี่ยว

ตารางที่ 2 เชื้อจุลินทรีย์ที่แสดงปฏิกิริยาการเป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อรา *Fusarium oxysporum*

Antagonistic Microorganism	Interaction (isolates)			Total
	Competitive	Parasitism	antibiosis	
Fungi[1]	4	29	14	47
Bacteria[2]	9	-	8	17
Total	13	29	22	64

[1] ทดสอบโดยวิธี spot inoculation (บรรเจิด และ จิระเดช, 2529)

[2] ทดสอบโดยวิธี filter paper disc method (Dhingra และ James, 1995)

การเตรียมสารสกัดจากพืชสมุนไพร การทำให้บริสุทธิ์โดยวิธีการแบ่งปันการละลาย (Solvent partition) และการทดสอบสารสกัดพืชสมุนไพรบางชนิดต่อเชื้อสาเหตุโรค

ในการสกัดสารสกัดหยาบจากพืชสมุนไพรแห้งบดละเอียดทั้งหมด 31 ชนิด พบว่าสารสกัดหยาบที่สกัดได้มีปริมาณแตกต่างไปตามชนิดพืชสมุนไพร พืชสมุนไพรที่ให้สารสกัดหยาบในปริมาณมากที่สุดคือ ส้มแขก (3076.6 มิลลิกรัม) กานพลู (2911.6 มิลลิกรัม) โป๊ยกั๊ก (2656.8 มิลลิกรัม) พลู (2334.4 มิลลิกรัม) เก๊กฮวย (2312.4 มิลลิกรัม) และเพชรสังฆาต (2047.2 มิลลิกรัม) ตามลำดับ

เมื่อทดสอบสารสกัดหยาบจากพืชสมุนไพรทั้งหมด 31 ชนิดโดยวิธี Filter paper disc method พบว่ามีเพียงสารสกัดจากพลู และกานพลูแห้งบดละเอียดเท่านั้นที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *F. oxysporum* โดยสร้างบริเวณใสรอบชิ้นกระดาษกรอง (ตารางที่ 3) โดยที่สารสกัดจากพลูมีบริเวณใสกว้างที่สุดที่ความเข้มข้น 100,000 ppm (2.45 เซนติเมตร) ซึ่งมีขนาดเป็น 78.27 เปอร์เซ็นต์ของ Imazalil 1000 ppm (3.13.เซนติเมตร) ส่วนสารสกัดจากกานพลูที่ความเข้มข้น 100,000 ppm มีบริเวณใสกว้าง 2.05 เซนติเมตร มีขนาดเป็น 65.49 เปอร์เซ็นต์ของ Imazalil 1,000 ppm ซึ่งในผลการทดลองของ อุไรวรรณ และคณะ (2543) ได้รายงานว่าสารสกัดจากพลูด้วยเอทธานอล 95 เปอร์เซ็นต์สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Fusarium spp.* ได้ที่ความเข้มข้น 100,000 ppm ส่วนสารสกัดจากกานพลูนั้น เกษม และจำรัส (2529) รายงานว่าสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus spp.* ได้ในการทดสอบด้วยวิธี Poisoned food technique ที่ความเข้มข้น 2,000–6,000 ppm โดยมีเปอร์เซ็นต์ยับยั้ง 81.33-91.95 เปอร์เซ็นต์

เมื่อนำทดสอบสารสกัดจากพลูและกานพลูที่แบ่งปันการละลายกับปิโตเลียมอีเทอร์และเอทธิลอะซีเตทกับเชื้อรา *F. oxysporum* พบว่าสารสกัดจากพลู aqueous1 ทำให้เกิดบริเวณใสกว้างที่สุดคือ 36.21 เปอร์เซ็นต์ของ Imazalil 1000 ppm รองลงมาคือ สารสกัดจากกานพลูใน petroleum ether 32.67 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 3 ผลของสารสกัดจากพืชสมุนไพรที่ความเข้มข้นต่างๆ ที่มีต่อการเกิดบริเวณใสของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* ที่ทำการทดลองโดยวิธี filter paper disc method

Extracts		Clear zone ∅ (cm.)[1]
Piper betal	10000 ppm	0
	50000 ppm	1.25
	100000 ppm	2.45
Clove	10000 ppm	0
	50000 ppm	1.00
	100000 ppm	2.05
Imazalil	1000 ppm	3.13
Control		0

[1] ค่าเฉลี่ยจาก 3 ซ้ำ

ตารางที่ 4 ผลของสารสกัดจากกานพลูและพลูที่แบ่งปันการละลายกับปิโตเลียมอีเทอร์และเอทธิลอะซีเตทต่อการเจริญของเชื้อรา *F. oxysporum* โดยวิธี filter paper disc method (% of positive check)

Fractions		Concentrations		
		100,000 ppm	50,000 ppm	10,000 ppm
Clove	Petoleum ether	32.76	18.97	5.17
	Aqueous1	10.34[1]	3.45	3.45
	Ethylacetate	0.00	0.00	0.00
	Aqueous2	0.00	0.00	0.00
Piper betal	Petoleum ether	0.00	0.00	0.00
	Aqueous1	36.21	0.00	0.00
	Ethylacetate	29.31	10.34	0.00
	Aqueous2	0.00	0.00	0.00
Negative check (Ethanol)		0.00	0.00	0.00
Positive check (Imaz 1000 ppm)		100.00	100.00	100.00

[1] ค่าเฉลี่ยจาก 3 ซ้ำ

ในส่วนของกานพลูพบว่าสารยับยั้งส่วนใหญ่อยู่ใน Fraction ปิโตเลียมอีเทอร์ซึ่งเป็นสารที่มีขั้วน้อยและมีบางส่วนอยู่ใน Aqueous1 แต่เมื่อแบ่งปันการละลายด้วยเอทธิลอะซีเตทแล้วกลับไม่สามารถยับยั้งเชื้อรา *F. oxysporum* ได้เลย อาจเป็นผลจากการที่องค์ประกอบทางเคมีของสารออกฤทธิ์ถูกแยกออกจากกันระหว่างขั้นตอนการแบ่งปันการละลายด้วยเอทธิลอะซีเตท จึงทำให้สูญเสียความสามารถในการยับยั้งไป ส่วนสารออกฤทธิ์ในพลูนั้นพบใน Fraction Aqueous1 และใน Fraction เอทธิลอะซีเตท แสดงให้เห็นว่าเป็นสารในกลุ่มที่มีขั้วปานกลาง

การทดสอบสารบางชนิดต่อเชื้อสาเหตุโรคในสภาพอาหารเลี้ยงเชื้อ

ตารางที่ 5 เปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญของของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่เติมสารเคมีชนิดต่างๆ โดยมี Imazalil และ น้ำกลั่นเป็นตัวเปรียบเทียบ

Treatment		Growth inhibition[1](%)
Imazalil 1000 ppm		100.0
D-fructose	0.5 %	-6.67
	1.0 %	-6.00
	2.0 %	-4.67
	4.0 %	-1.00
$CaCl_2$	0.5 %	-3.67
	1.0 %	-1.00
	2.0 %	14.33
	4.0 %	66.67
Chitosan	0 %	22.00
	0.1 %	37.00
	0.2 %	43.67
	0.3 %	60.33
	0.4 %	61.67
	0.6 %	75.33
Control		0

[1] % Growth inhibition = $\frac{A - B}{A} \times 100$

A = colony diameter of control – 0.6 (cm), B = colony diameter of treatment – 0.6 (cm)

จากการทดสอบสารเคมีบางชนิดซึ่งไม่ใช่สารกำจัดเชื้อรา พบว่าสาร $CaCl_2$ และ Chitosan มีผลยับยั้งการเจริญของเชื้อ *F. oxysporum* ได้ขณะที่สาร D-fructose ไม่มีผลยับยั้ง แต่กระตุ้นการเจริญของเชื้อ *F. oxysporum* เมื่อให้ที่ความเข้มข้นต่ำ (0.5-2.0 เปอร์เซ็นต์) (ตารางที่ 5) โดยมีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งระหว่าง –6.67 ถึง -4.67 เปอร์เซ็นต์ จากรายงานของ Janisiewiez *et al.* (1998) ที่กล่าวว่าสาร D-fructose สามารถเพิ่มประสิทธิภาพของเชื้อยีสต์ *Metschnikowia pulcherrima* ในการยับยั้งการเน่าเสียหลังการเก็บ

เกี่ยวของผลแอปเปิ้ลที่เกิดจากเชื้อรา *Botrytis cinerea* โดยที่สาร D-fructose ไม่ได้มีผลโดยตรงต่อเชื้อ *Botrytis cinerea* ส่วนสาร $CaCl_2$ สามารถยับยั้งได้ที่ความเข้มข้นสูง แต่ที่ความเข้มข้นต่ำกว่า 1 เปอร์เซ็นต์ พบว่ากระตุ้นการเจริญของเชื้อโรคเช่นกัน ซึ่งสอดคล้องกับ Arras *et al.* (1997) ได้รายงานว่าสาร $CaCl_2$ ที่ความเข้มข้น 4 เปอร์เซ็นต์เพียงอย่างเดียวก็สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Pennicilium italicum* บนผลส้มได้ถึง 49 เปอร์เซ็นต์ ส่วน Chitosan พบว่าทุกความเข้มข้นสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *F. oxysporum* ได้โดยมีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งอยู่ระหว่าง 22.0-75.3 เปอร์เซ็นต์ ในรายงานของ Benhamou (1992) ได้กล่าวถึงผลของ Chitosan ต่อสัณฐานวิทยาและโครงสร้างของเชื้อรา *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* ว่าสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ที่ความเข้มข้น 0.3–0.6 เปอร์เซ็นต์ ทำให้เส้นใยบิดเบี้ยวบวมพองและกระตุ้นกิจกรรมของเอนไซม์ β-1, 3-glucanase และ chitosanase ส่วนที่ความเข้มข้น 0 เปอร์เซ็นต์ ยับยั้งการเจริญได้ 22.0 เปอร์เซ็นต์ อาจเป็นผลจากค่าความเป็นกรด-ด่างที่ลดลงเนื่องจากผลของ acetic acid ที่ใช้เตรียม

สรุป

พบว่าเชื้อสาเหตุโรคจากแง่งขิงที่เน่าระหว่างการเก็บรักษาเป็นเชื้อรา *Fusarium oxysporum* เมื่อทดสอบกับเชื้อจุลินทรีย์ที่แยกจากดิน แง่ง และรากขิงจากแปลงปลูกในภูมิภาคต่างๆ พบว่ามีเชื้อปฏิปักษ์เป็นเชื้อรา 47 ไอโซเลต แบคทีเรีย 17 ไอโซเลต สารสกัดสารสกัดจากพลูและกานพลูสามารถยับยั้งการเจริญของ *F. oxysporum* เท่ากับ 78.27 เปอร์เซ็นต์และ 65.49 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อเทียบกับสาร Imazalil 1,000 ppm โดยที่สารออกฤทธิ์ในกานพลูเป็นสารที่มีขั้วน้อยขณะที่สารออกฤทธิ์ในพลูเป็นสารที่มีขั้วปานกลาง สาร $CaCl_2$ สามารถยับยั้งการเจริญของ *F. oxysporum* ที่ความเข้มข้นสูงกว่า 1 เปอร์เซ็นต์ แต่กระตุ้นการเจริญที่ความเข้มข้นต่ำกว่า 1 เปอร์เซ็นต์ สาร Chitosan มีผลยับยั้งการเจริญของเชื้อ *F. oxysporum* ได้ทุกความเข้มข้นที่ทำการทดลอง (0–0.6 เปอร์เซ็นต์) ขณะที่สาร D-fructose กระตุ้นการเจริญของเชื้อ *F. oxysporum* ผลที่ได้จะนำมาใช้ในการทดลองร่วมกันทั้งในสภาพอาหารเลี้ยงเชื้อและบนแง่งขิง ในการควบคุมโรคเน่าของแง่งขิงระหว่างการเก็บรักษาต่อไป

คำขอบคุณ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนด้านเครื่องมือบางส่วนจาก โครงการพัฒนาบัณฑิตศึกษาและวิจัยเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว

เอกสารอ้างอิง

กรมศุลกากร. 2544. สถิติการนำเข้า-ส่งออกสินค้าของประเทศไทย. แหล่งที่มา: www.customs.go.th. 13 มกราคม 2544.

เกษม สร้อยทอง และจำรัส คุณฉรงค์นันทกุล . 2529. การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Aspergillus* spp. ด้วยสารสกัดจากกานพลู. วารสารโรคพืช. 6(1-2): 1-6.

เนื่องพนิช สินชัยศรี, จิราพุพิน จันทร์ประสงค์, วิไล สันติโสภาศรี, สุดฤดี ประเทืองวงศ์, พัฒนา อนุรักษ์พงศ์ธร, อำไพวรรณ ภราดร์ณุวัฒน์, ดำริห์ รุ่งสุข, Izuru Yamamoto, Kanju Ohsawa และ Tadami Akatsuka. 2535. สารประกอบในพืชสมุนไพรบางชนิดที่มีฤทธิ์กำจัดศัตรูพืชในประเทศไทย. *ใน* รายงานการวิจัยนิเวศวิทยาของสารเคมีที่ใช้ในการเกษตร. สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ. กรุงเทพฯ. หน้า 1-1 – 1-37.

บรรเจิด อินหว่าง และ จิระเดช แจ่มสว่าง. 2529. การควบคุมโรคโคนเน่าของมะเขือเทศ (*Rhizoctonia solani* Kuehn.) โดยจุลินทรีย์จากดินกสิกรรม. *ใน* รายงานการประชุมทางวิชาการสาขาพืชครั้งที่ 24. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. น. 176-185.

ประวัติ ตันบุญเอก, วัลลภา ธีรภาวะ, ภคินี อัครเวสพงศ์ และดารา พวงสุวรรณ. 2521. โรคและวิธีการเก็บรักษาขิง. *ใน* รายงานประจำปี 2521. กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ. หน้า 394-402.

ศศิธร จันทรโอทาน, ศักดิ์ สุนทรสิงค์ และสุดฤดี ประเทืองวงศ์. 2529. การสำรวจโรคต่างๆ ของขิงในประเทศไทย. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

อุไรวรรณ ดิลกคุณานันท์, งามผ่อง คงคาทิพย์, อุดมลักษณ์ สุขอัตตะ, สุภนิดา บัวบาน, นวลอนงค์ นาคคง และสุวรรณา กลัดพันธุ์. 2543. การออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อราบางชนิดของสารสกัดจากพลู. *ใน* รายงานการประชุมทางวิชาการสาขาวิทยาศาสตร์ ครั้งที่ 38. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. หน้า 515-522.

Arras, G., P. Sanna and V . Astone. 1997. Biological control of *Penicillium italicum* of citrus fruits by *Candida sake* and calcium salt. Proceedings of the 49th International symposium on crop protection, Gent, Belgium, 6 May, 1997. Part IV. Mededelingen Faculteit Landbouwkundige en Toegepaste Biologische Wetenschappen. Universiteit Gent. 1997. 62: 3b: 1071-1078

Benhamuo, N. 1992 . Utrastructure and cytochemical aspects of Chitosan on *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici*, agent of tomato crown and root rot. Phytopathology. 82:1185-1193.

Chalutz, Edo and Droby Samier. 1998. Biological control of postharvest disease. *In* Boland, Greg J. and L. David Kuykendal (eds.). Plant microbe interactions and biological control.. Marcel Dekker, Inc. New York. pp. 157-170.

Dhingra, Onkar D. and James B. Sinclair. 1995. Basic plant pathology methods. 2nd ed. CRC. Press. Boca Raton. 434 p.

Dohroo, N.P. 1989. Seed transmission of pre-emergence rot and yellows in ginger. Plant Disease Research. 4: 73-74.

Droby, S., M.E. Wisniewski, L. Cohen, B. Weiss, D. Touitou, Y. Eilam and E. Chalutz. 1997. Influence of $CaCl_2$ on *Penicillium digitatum*, grapefruit peel tissue, and biocontrol activity of *Pichia guilliermondii*. Phytopathology. 87: 310-315.

Janisiewicz W.J., W.S. Conway, D.M. Glenn and C.E. Sams. 1998. Integrating biological control and calcium treatment for controlling postharvest decay of apples. Hortscience. 33: 105-109.

Mehrotra, B.S. 1952. *Fusarium roseum* Link. and *Sclerotium rolfsii* Sacc. on ginger rhizome. Indian Phytopathology. 5: 53-55.

Mukherjee, P.K. and K. Raghu. 1997. *Trichoderma* sp. as a microbial suppressive agent of *Sclerotium rolfsii* on vegetables. World Journal of Microbiology and Biotechnology. 13: 497-499.

Piano S., V. Neyrotti, Q. Migheli and M.L. Gullino. 1997. Biocontrol capability of *Metschnikowia pulcherrima* against *Botrytis* postharvest rot of apple. Postharvest Biology and Technology. 11: 131-140.