



ใบรับรองวิทยานิพนธ์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์)

ปริญญา

โรคพืช

โรคพืช

สาขา

ภาควิชา

เรื่อง การควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศโดยใช้สารสกัดจากพืชและธาตุซิลิกอนในเรือนทดลอง

Control of Bacterial Wilt of Tomato by Plant Extracts and Silicon Applications in
Greenhouse

นามผู้วิจัย นางสาวจิตรยา จารุจิตร

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(รองศาสตราจารย์นิพนธ์ ทวีชัย, Ph.D.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(รองศาสตราจารย์วิชัย โหมสินรัตน์, Ph.D.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(รองศาสตราจารย์สรัญญา วัชรโรทัย, Dr.rer.nat.)

หัวหน้าภาควิชา

(รองศาสตราจารย์ณรงค์ สิงห์บุระอุดม, วท. ม.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์กัญญา ชีระกุล, D.Agr.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ เดือน พ.ศ.

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

การควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศโดยใช้สารสกัดจากพืชและธาตุซิลิกอนในเรือนทดลอง

Control of Bacterial Wilt of Tomato by Plant Extracts and Silicon Applications in Greenhouse

โดย

นางสาวจิตรยา จารุจิตร

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์)

พ.ศ. 2552

จิตรยา จารุจิตร 2552: การควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศโดยใช้สารสกัดจากพืชและธาตุซิลิกอนใน
เรือนทดลอง ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์) สาขาโรคพืช ภาควิชาโรคพืช อาจารย์
ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: รองศาสตราจารย์พนธ์ ทวีชัย, Ph.D. 100 หน้า

ศึกษาประสิทธิภาพของการสกัดจากพืช 9 ชนิดจาก พลุ (*Piper betle*, Pb) ยูคาลิปตัส (*Eucalyptus camaldulensis*, Ec) การเวก (*Artabotrys hexapetalus*, Ah) ชะพลู (*Piper sarmentosum*, Ps) มังคุด (*Garcinia mangostana*, Gm) กระดังง์ (*Peperomia pellucida*, Pp) ขวงเจีย (*Zanthoxylum* sp., Za) ฝรั่ง (*Psidium guajava*, Pg) และสะเดา (*Azadirachta indica*, Ai) ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* (RS) สายพันธุ์ To-Ud3^{amp} (RS) สาเหตุโรคเหี่ยวของมะเขือเทศโดยวิธี paper disc diffusion สารสกัดพืชที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ RS สูงสุดตามลำดับ 5 ชนิดคือ ฝรั่ง ยูคาลิปตัส พลุ ขวงเจียและการเวก สารสกัดพืชทั้ง 5 ชนิดที่ความเข้มข้น 2-10% ที่เวลา 24 ชั่วโมงในอาหารเหลว Tetrazolium chloride สามารถยับยั้งเชื้อ RS แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และที่เวลา 48 ชั่วโมงจะมีประสิทธิภาพการยับยั้งเพิ่มสูงขึ้น สารสกัดขวงเจียปริมาณ 1 มิลลิลิตรใส่ในดินเป็นเวลา 2-8 สัปดาห์ มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อในดินดีที่สุดแตกต่างจากสารสกัดพืชชนิดอื่นและวิธีเปรียบเทียบ ประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อ RS ของสารสกัดพืชทุกชนิดจะเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มปริมาณสารสกัดและระยะเวลามากขึ้น สารสกัดขวงเจียปริมาณ 4 มิลลิลิตรเป็นเวลา 6 สัปดาห์มีประสิทธิภาพยับยั้งเชื้อ RS ดีที่สุดโดยไม่พบเชื้อในดิน การทดสอบธาตุซิลิกอนทั้งชนิดซาลิซิล แอซิด (Si1) และ โซเดียม ซิลิเกต (Si2) ไม่มีประสิทธิภาพยับยั้งเชื้อ RS บนอาหารเลี้ยงเชื้อ การทดสอบการควบคุมเชื้อ RS กับมะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์ 3 ในโรงเรือนแบบการค้ำที่สถาบันเทคโนโลยีแห่งเอเชีย จ.ปทุมธานีเป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าการใช้ธาตุซิลิกอนในรูป Si1 และ Si2 มีมะเขือเทศรอดตายสูงสุดที่ 78% และให้ผลผลิตสูงสุด 150 กรัม/ต้น แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับการใช้ขวงเจียอย่างเดียวหรือร่วมกับขวงเจียมีต้นรอดตาย 33% และมีผลผลิต 50 กรัม/ต้นและชุดควบคุมที่ไม่ใช้สารมีต้นรอดตาย 11% และมีผลผลิตเพียง 10 กรัม/ต้น ตรวจสอบปริมาณเชื้อ RS บริเวณรากมะเขือเทศทุกสัปดาห์จากเชื้อเริ่มต้น 8.87 Log CFU/ml หลังการทดลอง 8 สัปดาห์การใช้สาร Si2 มีเชื้อ RS ต่ำที่สุด 2.67 Log CFU/g และแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับกรรมวิธีควบคุมมีเชื้อ RS สูงสุด 2.75 Log CFU/g ตรวจสอบสารสำคัญทางพฤกษเคมีเบื้องต้นของสารสกัดขวงเจียพบกลุ่ม alkaloids เป็นส่วนประกอบและเมื่อแยกโดยวิธี Thin layer chromatography (TLC) ใช้ตัวทำละลาย $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}$ อัตรา 7:3 เมื่อทดสอบกับน้ำยา Dragendorff พบว่าที่ตำแหน่ง R_f 0.36 ทำปฏิกิริยาเกิดจุดสีน้ำตาลส้มของสารกลุ่ม alkaloid บนแผ่น TLC การศึกษานี้เป็นรายงานครั้งแรกถึงผลสำเร็จของการใช้สารสกัดขวงเจียและธาตุซิลิกอนควบคุมเชื้อ RS สาเหตุโรคเหี่ยวของมะเขือเทศที่ปลูกในโรงเรือนแบบการค้ำจนถึงการเก็บเกี่ยวผลผลิต

Jittraya Jarujit 2009: Control of Bacterial Wilt of Tomato by Plant Extracts and Silicon Applications in Greenhouse. Master of Science (Agriculture), Major Field: Plant Pathology, Department of Plant Pathology. Thesis Advisor: Associate Professor Niphone Thaveechai, Ph.D. 100 pages.

Nine plant extracts from Betel (*Piper betle*, Pb) Eucalyptus (*Eucalyptus camaldulensis*, Ec) Artabotrys (*Artabotrys hexapetalus*, Ah) Cha-plu (*Piper sarmentosum*, Ps) Mangosteen (*Garcinia mangostana*, Gm) Shiny leave (*Peperomia pellucida*, Pp) Chuang-Chia (*Zanthoxylum* sp., Za) Guava (*Psidium guajava*, Pg) and Neem (*Azadirachta indica*, Ai) were investigated for antimicrobial activity against *Ralstonia solanacearum* strain To-Ud3^{amp}(RS), causal agent of bacterial wilt of tomato by paper disc diffusion method. The most five plant extracts with high inhibition efficacy against RS were Guava, Eucalyptus, Betel, Chuang-Chia, and Artabotrys, respectively. The five plant extracts at 2-10% in Tetrazolium chloride broth at 24 hr incubation were significantly inhibited RS and inhibition activity was more increasing at 48 hr after incubation. Chuang-Chia extract at 1 ml in soil for 2 to 8 weeks showed the highest inhibition of RS in soil which was significantly different from others and non-treated control. Inhibition activity of RS of the five plant extracts were increased after increasing amount of plant extract and incubation time. Chuang-Chia extract at 4 ml after 6 weeks of incubation gave the best inhibition of RS which was no RS detected in soil. Both forms of silicon as salisic acid (Si1) and sodium silicate (Si2) were no inhibition against RS on culture media. Experiment on control bacterial wilt caused by RS on tomato cv. Seeda Thip 3 in commercial type greenhouse at Asian Institute of Technology, Pathumtani province found that both Si1 and Si2 treatments had the highest tomato survival at 78% and the highest yield at 150 g/plant which were significantly different from treated with either Chuang-Chia alone or combined with Chuang-Chia having tomato survival of 33% and yield at 50 g/plant and non-treated control containing tomato survival 11% and yield at 10 g/plant. Assaying rhizosphere population of RS had initial population at 8.87 Log CFU/ml and at eight weeks post inoculation, Si2 had the lowest RS population at 2.67 Log CFU/g of soil which was significantly different from the highest RS population at 2.75 Log CFU/g of soil of the control. Basic phytochemistry analysis of Chuang-Chia extract contained alkaloid active compound. Thin layer chromatography (TLC) separation of Chuang-Chia extract with solvent mixture of CHCl₃:MeOH at 7:3 and testing with Dragendorff's reagent found reaction of brown orange colour of alkaloid at R_f of 0.36 on TLC plate. This study is the first report of successful application of Chuang-Chia and silicon for controlling bacterial wilt of tomato caused by RS under commercial type greenhouse until harvesting yield.

Student's signature

Thesis Advisor's signature

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.นิพนธ์ ทวีชัย ประธานกรรมการที่ปรึกษาที่กรุณาให้ความรู้ คำแนะนำการดำเนินชีวิตตลอดทั้งความช่วยเหลือสนับสนุนและให้โอกาสทางการศึกษาเป็นอย่างดียิ่งตลอดจนตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์จนเสร็จสมบูรณ์ รองศาสตราจารย์ ดร.วิชัย ไหมสีรัตน์ รองศาสตราจารย์ ดร.สรัญญา วัชรโรทัย กรรมการร่วม ดร. ณัฏฐิมา โหมิตเจริญกุล ผู้ทรงคุณวุฒิภายนอก และรองศาสตราจารย์ณรงค์ สิงห์บุระอุดม ประธานการสอบปากเปล่าขั้นสุดท้าย ที่กรุณาให้คำแนะนำและแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณสภาวิจัยแห่งชาติ โครงการความร่วมมือระหว่างไทย – เยอรมัน (NRCT-DFG) ภายใต้ชื่อโครงการนิเวศวิทยาและการจัดการโรคเหี่ยวจากแบคทีเรียของมะเขือเทศในสภาพโรงเรือนโดยวิธีผสมผสาน ที่สนับสนุนให้ทุนในการวิจัยครั้งนี้ และทุนสนับสนุนค่าน้ำมันในการทำวิทยานิพนธ์ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ขอขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร.นิพนธ์ ทวีชัย รองศาสตราจารย์ ดร.อำไพวรรณ ภราดรพันธุ์วัฒน์และ ดร.ศรีเมฆ ชาวโพรงพาง ที่กรุณาให้คำแนะนำและคอยช่วยเหลือในด้านต่างๆ รองศาสตราจารย์ณรงค์ สิงห์บุระอุดม รองศาสตราจารย์ ดร.สรัญญา วัชรโรทัย ดร.เนตรนภิส เขียวขำและ ดร. ธิดา เดชชวบ ที่กรุณาให้คำแนะนำในการใช้เครื่องมือในการสกัดสารจากพืชและคอยช่วยเหลือในด้านการค้นคว้าเอกสารต่างๆ ตลอดมา ขอขอบคุณสมาชิกเพื่อน พี่น้องนิสิตปริญญาเอกและโททุกคนรวมทั้งเจ้าหน้าที่โครงการต่างๆ ของภาควิชาโรคพืช บางเขน และเจ้าหน้าที่ธุรการทุกๆ ท่านที่คอยให้ความช่วยเหลือ อำนวยความสะดวกและให้คำแนะนำเป็นอย่างดีตลอดการวิจัย เจ้าหน้าที่สถาบันเทคโนโลยีแห่งเอเชีย (AIT) จังหวัดปทุมธานีที่ให้ความช่วยเหลือและอำนวยความสะดวกในการทำวิจัยในโรงเรือน

ขอขอบพระคุณกำลังใจที่ดีเสมอมาจากคุณพ่อบุญเพ็ง คุณแม่บัวเงิน จารุจิตร และน้องชายที่น่ารักในครอบครัวที่เป็นกำลังใจที่สำคัญยิ่ง และขอบคุณคุณปรเมษฐ์ มธุรานินทร์ ผู้คอยช่วยเหลือในด้านต่างๆและคอยให้กำลังใจตลอดมา

จิตรยา จารุจิตร

พฤษภาคม 2552

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(4)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	2
การตรวจเอกสาร	3
อุปกรณ์และวิธีการ	23
ผลและวิจารณ์	39
วิจารณ์	75
สรุปและข้อเสนอแนะ	80
สรุป	80
ข้อเสนอแนะ	81
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	82
ภาคผนวก	91
ภาคผนวกภาค ก	92
ภาคผนวกภาค ข	97
ประวัติการศึกษาและการทำงาน	100

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1	สารประกอบที่สกัดได้จากมะเขว่น22
2	การตรวจสอบสารสำคัญทางพฤกษเคมีเบื้องต้น (phytochemical screening) ของสารสกัดพืชและน้ำยาที่ใช้ในการตรวจสอบและสีที่ปรากฏ37
3	ผลของสารสกัดพืชในการยับยั้งการเจริญ(บริเวณใส)ของเชื้อ <i>Ralstonia solanacearum</i> (RS), <i>Erwinia carotovora</i> subsp. <i>carotovora</i> (ECC) และ <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i> (XCC) บนอาหาร nutrient agar (NA) เป็นเวลา 48 ชั่วโมง42
4	ประสิทธิภาพสารสกัดจากพืชในการยับยั้งการเจริญเติบโต(บริเวณใส)ของเชื้อ <i>Ralstonia solanacearum</i> สายพันธุ์ To-Ud3 ^{amp} (RS)หลังเก็บรักษาสารสกัดพืชเป็นระยะเวลา 4 เดือน เมื่อทดสอบบนอาหาร nutrient agar เป็นเวลา 48 ชั่วโมง46
5	ประสิทธิภาพของสารสกัดขวงเจีย พลู ยูคาลิปตัส ฝรั่ง และการเวกที่ความเข้มข้นต่างๆ (2-10%)ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ <i>Ralstonia solanacearum</i> สายพันธุ์ To-Ud3 ^{amp} (RS)ในอาหารเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง49
6	ประสิทธิภาพของสารสกัดขวงเจีย สารสกัดพลู สารสกัดยูคาลิปตัส สารสกัดฝรั่ง และสารสกัดการเวก ที่ปริมาณต่างๆในการยับยั้งประชากรของเชื้อ <i>Ralstonia solanacearum</i> สายพันธุ์ To-Ud3 ^{amp} (RS)ในดินในห้องปฏิบัติการระยะเวลา 8 สัปดาห์51
7	ประสิทธิภาพของสารสกัดพืชในการควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศสาเหตุจากเชื้อ <i>Ralstonia solanacearum</i> สายพันธุ์ To-Ud3 ^{amp} (RS)ในเรือนทดลองเป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์57
8	ประสิทธิภาพสารสกัดพืชในการยับยั้งปริมาณประชากรของเชื้อ <i>Ralstonia solanacearum</i> สายพันธุ์ To-Ud3 ^{amp} (RS)ในดินปลูกมะเขือเทศในเรือนทดลองเป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์หลังการใส่สารสกัด58

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
9	ประสิทธิภาพของซิลิคอนในการควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศจากเชื้อ <i>Ralstonia solanacearum</i> สายพันธุ์ To-Ud3 ^{amp} (RS) ในเรือนทดลองเป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์	59
10	ปริมาณประชากรของเชื้อ <i>Ralstonia solanacearum</i> สายพันธุ์ To-Ud3 ^{amp} (RS) ในดินปลูกมะเขือเทศในเรือนทดลองเป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์หลังการปลูกเชื้อ	60
11	ประสิทธิภาพของสารสกัดขวงเจียและยูคาลิปตัสร่วมกับซิลิคอนในการควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศสาเหตุจากเชื้อ <i>Ralstonia solanacearum</i> สายพันธุ์ To-Ud3 ^{amp} ในเรือนทดลองเป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์	63
12	ปริมาณประชากรของเชื้อ <i>Ralstonia solanacearum</i> สายพันธุ์ To-Ud3 ^{amp} (RS) ในดินปลูกมะเขือเทศในเรือนทดลองเป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์หลังการใส่สารสกัดและซิลิคอน	64
13	ประสิทธิภาพของขวงเจีย (<i>Zanthoxylum</i> sp.) และซิลิคอนในการควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศสาเหตุจากเชื้อ <i>Ralstonia solanacearum</i> สายพันธุ์ To-Ud3 ^{amp} (RS) ในมะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์ 3 ที่เวลา 2, 4, 6 และ 8 สัปดาห์หลังการปลูกเชื้อและผลผลิตการเก็บเกี่ยวที่ 8 สัปดาห์ ณ โรงเรือนสถาบันเทคโนโลยีแห่งเอเชีย จ.ปทุมธานี	66
14	ปริมาณประชากรเชื้อ <i>Ralstonia solanacearum</i> สายพันธุ์ To-Ud3 ^{amp} (RS) ในดินปลูกมะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์ 3 ที่เวลา 2, 4, 6 และ 8 สัปดาห์หลังการปลูกเชื้อ ณ โรงเรือนสถาบันเทคโนโลยีแห่งเอเชีย จ.ปทุมธานี	67
15	ผลการตรวจสอบสารสำคัญทางพฤกษเคมีเบื้องต้นของสารสกัดขวงเจีย (<i>Zanthoxylum</i> sp.)	69

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1 การปลูกเชื้อแบคทีเรีย <i>Ralstonia solanacearum</i> สาเหตุโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ ในมะเขือเทศอายุ 25 วันหลังย้ายปลูกแบบวิธีใช้เข็มฉีดยาฉีดเข้าลำต้นที่เหนือก้าน ใบที่ 4 จากโคนต้น	25
2 พืช 9 ชนิดที่นำมาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ <i>Ralstonia solanacearum</i> สายพันธุ์ To-Ud3 ^{amp} ในห้องปฏิบัติการ (ก) พลูด (<i>Piper betle</i>) (ใบ) (ข) ยูคา ลิปตัส (<i>Eucalyptus camaldulensis</i>) (ใบ) (ค) การเวก (<i>Artabotrys hexapetalus</i>) (ใบ) (ง) ชะพลูด (<i>Piper sarmentosum</i>) (ใบ) (จ) มังคุด (<i>Garcinia mangostana</i>) (เปลือก) (ฉ) กระดัง (<i>Peperomia pellucida</i>) (ใบ) (ช) ขวงเจีย (<i>Zanthoxylum</i> sp.) (เมล็ด) (ซ) ฝรั่ง (<i>Psidium guajava</i>) (ใบ) และ (ณ) สะเดา (<i>Azadirachta indica</i>) (ใบ)	26
3 ผลิตภัณฑ์ขวงเจียที่ใช้ในการทดลองจากบริษัท ง่วนฮวน จำกัด ตรามือชู นิ้วหัวแม่มือซึ่งบรรจุในถุงพลาสติก ถูกละ 500 กรัม	37
4 ลักษณะโคโลนีของเชื้อ <i>Ralstonia solanacearum</i> สายพันธุ์ To-Ud3 ที่มีความรุนแรง (virulent) บนอาหาร Kelman's tetrazolium chloride medium (TZC) (ก) และบนอาหาร mSM-1 (ข) โคโลนีมีรูปร่างค่อนข้างกลมหรือรีลักษณะเยิ้ม ขอบไม่เรียบ สีฟ้าหรือม่วงอ่อนตรงกลางมีสีชมพูอ่อน	40
5 ประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืชในการยับยั้งการเจริญ(บริเวณใส)ของเชื้อ <i>Ralstonia solanacearum</i> สายพันธุ์ To-Ud3 ^{amp} บนอาหาร nutrient agar (NA) เป็นเวลา 48 ชั่วโมง (ก) สารสกัดขวงเจีย สารสกัดพลูด สารสกัดการเวก สารสกัดฝรั่ง และสารสกัดยูคาลิปตัส(ข) สารสกัดสะเดา สารสกัดชะพลูด สารสกัดมังคุด และสารสกัดกระดัง เมื่อเทียบกับเอทิลแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ (control)	43

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่

หน้า

6	ประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืชในการยับยั้งการเจริญ(บริเวณไต)ของเชื้อ <i>Erwinia carotovora</i> subsp. <i>carotovora</i> บนอาหาร nutrient agar เป็นเวลา 48 ชั่วโมง สารสกัดขวงเจีย สารสกัดพลู สารสกัดการเวก สารสกัดฝรั่งและสารสกัดยูคาลิปตัส(ก1) สารสกัดสะเดา สารสกัดชะพลู สารสกัดมังคุดและสารสกัดกระดังงา(ก2) และการยับยั้งการเจริญของเชื้อ <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i> ของสารสกัด ขวงเจีย สารสกัดพลู สารสกัดการเวก สารสกัดฝรั่งและสารสกัดยูคาลิปตัส (ข1) สารสกัดสะเดา สารสกัดชะพลู สารสกัดมังคุดและสารสกัดกระดังงา(ข2) เมื่อเทียบกับเอทิลแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์(control)	44
7	การทดสอบประสิทธิภาพของซิลิโคนในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ <i>Ralstonia solanacearum</i> สายพันธุ์ To-Ud3 ^{amp} ในรูปของซาลิซิก แอซิด(salicylic acid, [Si(OH ₄)] และ โซเดียมซิลิเคต (sodium silicate, NaSiO ₂) ที่ความเข้มข้น 9 mM เมื่อเทียบกับเอทิลแอลกอฮอล์แอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์(control) บนอาหาร nutrient agar ที่ 48 ชั่วโมง	55
8	ลักษณะอาการโรคเหี่ยวที่เกิดขึ้นกับมะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์ 3 หลังปลูกเชื้อ <i>Ralstonia solanacearum</i> สายพันธุ์ To-Ud3 ^{amp} ที่เวลา 3 สัปดาห์ในเรือนทดลอง ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ก. กรรมวิธีควบคุม (ปลูกเชื้อเพียงอย่างเดียว) ข. กรรมวิธีราดสารสกัดขวงเจีย ค. กรรมวิธีราดสารสกัดยูคาลิปตัส ง. กรรมวิธีราดซาลิซิก แอซิด จ. กรรมวิธีราดซาลิซิก แอซิดร่วมกับสารสกัดขวงเจีย ฉ. กรรมวิธีราดซาลิซิก แอซิดร่วมกับสารสกัดยูคาลิปตัส ช. กรรมวิธีราดโซเดียมซิลิเคต ซ. กรรมวิธีราดโซเดียมซิลิเคตร่วมกับสารสกัดขวงเจีย ฅ. กรรมวิธีราดโซเดียมซิลิเคตร่วมกับสารสกัดยูคาลิปตัส	68

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
9	ทดสอบพิษเคมีของสารสกัดขวงเจียเบื้องต้นเพื่อตรวจหาสารกลุ่ม alkaloid ด้วย Dragendorff's reagent บนกระดาษกรอง (ก) หยดสารสกัดขวงเจียเพียงอย่างเดียว (ข) ด้านบนหยด Dragendorff's reagent เพียงอย่างเดียว ส่วนด้านล่างหยอด สารสกัดขวงเจียและ Dragendorff's reagent ปรากฏสีที่เปลี่ยนเป็นสีส้มอิฐ	70
10	ทดสอบสารพิษเคมีของสกัดขวงเจียเบื้องต้นเพื่อตรวจหาสารกลุ่ม steroid และ triterpenoid ด้วย acetic anhydride และ conc. H_2SO_4 (ก) สารสกัดขวงเจีย (ข) สารสกัดขวงเจีย ทำปฏิกิริยากับ acetic anhydride และ conc. H_2SO_4 ไม่พบการเปลี่ยนแปลงสีของสารสกัดขวงเจีย	70
11	ทดสอบพิษเคมีของสารสกัดขวงเจียเบื้องต้นเพื่อตรวจหาสารกลุ่ม unsaturated lactone ring ด้วย Kedde's reagent และ Raymond's reagent (ก) สารสกัดขวงเจีย (ข) สารสกัดขวงเจียทำปฏิกิริยากับ Kedde's reagent ไม่พบการเปลี่ยนแปลง (ค) สารสกัดขวงเจียทำปฏิกิริยากับ Raymond's reagent ไม่พบการเปลี่ยนแปลง	71
12	สารทุติยภูมิจากขวงเจียโดยใช้สารสกัดหยาบขวงเจียใช้เอทิลแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์เป็นตัวทำละลาย develop TLC ใน solvent system $CHCl_3$: MeOH อัตรา 7:3 ตรวจสอบการเรืองแสงด้วยรังสีอัลตราไวโอเลตความยาวคลื่นแสง 365 นาโนเมตร ของสารสกัดหยาบพบสารเรืองแสง 5 ตำแหน่ง คือ a, b, c, d และ e มีค่า R_f เท่ากับ 0.36, 0.54, 0.64, 0.75 และ 0.93 ตามลำดับ	73
13	ทดสอบสารออกฤทธิ์ของสารสกัดขวงเจียที่แสดงการยับยั้งบนแผ่น TLC โดยเทอาหาร TTC ที่หลอมแล้วผสมเชื้อ <i>Ralstonia solanacearum</i> สายพันธุ์ To-Ud3 ^{amp} ทับบางบนแผ่น TLC แล้วบ่มไว้ 48 ชั่วโมง (ก) ไม่สามารถยับยั้งเชื้อได้โดยสังเกตจากบริเวณยับยั้งที่ไม่ปรากฏบนแผ่น TLC (ข) แผ่น TLC ที่พ่นด้วย Dragendorff's reagent ปรากฏสีน้ำตาลที่ค่า R_f 0.36	74

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพผนวกที่	หน้า
1 เปรูเซ็นต์การเพิ่มขึ้นของประสิทธิภาพสารสกัดจากพืชที่เก็บรักษาระยะเวลา 4 เดือนในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ <i>R. solanacearum</i> สาเหตุโรคเหี่ยวของมะเขือเทศในห้องปฏิบัติการ	92
2 ประสิทธิภาพของสารสกัดจากขวงเจีย, พลู่, ยูคาลิปตัส, ฝรั่ง และการเวก ที่ความเข้มข้น 2-10% ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ <i>Ralstonia solanacearum</i> สายพันธุ์ To-Ud3 ^{amp} ในอาหารเลี้ยงเชื้อ TTC ที่เวลา 24 และ 48 ชั่วโมง	93
3 ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของสารสกัดจากพืช 5 ชนิดที่ความเข้มข้น 2-10% หลังการทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ <i>Ralstonia solanacearum</i> สายพันธุ์ To-Ud3 ^{amp} ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เวลา 48 ชั่วโมง	94
4 ประสิทธิภาพของสารสกัดจากขวงเจีย, พลู่, ยูคาลิปตัส, ฝรั่ง, และการเวก ที่ปริมาณ 1, 2, 3, 4 และ 5 มิลลิลิตร ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ <i>Ralstonia solanacearum</i> สายพันธุ์ To-Ud3 ^{amp} ในดินในห้องทดลองเฉลี่ย 8 สัปดาห์	95
5 เปรูเซ็นต์การลดลงของประชากรเชื้อ <i>Ralstonia solanacearum</i> สายพันธุ์ To-Ud3 ^{amp} (RS) ในดินที่ 8 สัปดาห์ (Log CFU/g) หลังจากทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืช 5 ชนิดที่ปริมาณ 1, 2, 3, 4 และ 5 มิลลิลิตรในห้องปฏิบัติการ	96

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

w/v	=	น้ำหนักต่อปริมาตร (กิโลกรัมต่อลิตร)
v/v	=	ปริมาตรต่อปริมาตร (ลิตรต่อลิตร)
ml	=	มิลลิลิตร (มล)
cm	=	เซนติเมตร(ซม)
kg	=	กิโลกรัม (กก)
g	=	กรัม
CFU/ml	=	จำนวนโคโลนีของจุลินทรีย์ต่อมิลลิลิตร
CFU/g	=	จำนวนโคโลนีของจุลินทรีย์ต่อกรัม
O.D.	=	ค่าการดูดกลืนแสง
R _r	=	ระยะทางที่สารเคลื่อนที่
ppm	=	ส่วนในล้านส่วน

การควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศโดยใช้สารสกัดจากพืชและธาตุซิลิคอนในเรือน ทดลอง

Control of Bacterial Wilt of Tomato by Plant Extracts and Silicon Applications in Greenhouse

คำนำ

มะเขือเทศ (Tomato: *Lycopersicon esculentum* Mill, วงศ์ Solanaceae) เป็นพืชผักที่นิยมปลูกมากทั่วโลก เนื่องจากเป็นพืชที่มีคุณค่าทางอาหารสูง ผลมะเขือเทศสุกเป็นแหล่งของวิตามินและเกลือแร่ โดยเฉพาะวิตามินเอและวิตามินซี แคลเซียม ฟอสฟอรัส ตลอดจนโปรตีนและคาร์โบไฮเดรต ในประเทศไทยมะเขือเทศที่ปลูกแบ่งตามการใช้ประโยชน์ 3 ประเภท คือ มะเขือเทศบริโภคสด (table tomato) มะเขือเทศส่งโรงงานอุตสาหกรรม (processing tomato) และมะเขือเทศผลิตเมล็ดพันธุ์ (seed tomato) โดยมีการบริโภคทั้งภายในและส่งออกยังต่างประเทศ พื้นที่ปลูกมะเขือเทศบริโภคสดที่สำคัญได้แก่ จังหวัดเพชรบุรี ยโสธรและนครพนม

โรคเหี่ยวของมะเขือเทศมีสาเหตุจากเชื้อ *Ralstonia solanacearum* จัดเป็นโรคที่สำคัญทำความเสียหายกับมะเขือเทศเป็นอย่างมากโดยเฉพาะในเขตร้อนและกึ่งร้อน ปัจจุบันพบโรคนี้ระบาดเกือบทั่วโลกโดยเฉพาะพื้นที่ในเขตร้อนอย่างภูมิภาคเอเชียรวมทั้งในประเทศไทย มะเขือเทศที่เป็นโรคเหี่ยวจะแสดงอาการเหี่ยวตั้งแต่ระยะกล้าจนถึงระยะเก็บเกี่ยวในขณะที่ใบยังเขียว ใบลู่และตายในที่สุด ทำให้คุณภาพและผลผลิตที่ได้มีปริมาณลดลง การป้องกันกำจัดทำได้ค่อนข้างยาก เนื่องจากเชื้อสามารถอยู่ข้ามฤดูในดินได้นานโดยปราศจากพืชอาศัย ทั้งยังมีพืชอาศัยกว้างและความหลากหลายของสายพันธุ์ ตลอดจนไม่มีสารเคมีที่มีประสิทธิภาพดีในการป้องกันกำจัด ดังนั้นการป้องกันกำจัดในปัจจุบันจึงควรพิจารณาใช้กรรมวิธีต่างๆร่วมกันเพื่อลดปริมาณเชื้อโรคที่อยู่ในดินให้อยู่ในระดับที่ไม่สามารถทำให้เกิดความเสียหายกับพืชที่ปลูกหรือการทำให้พืชอยู่รอดให้ผลผลิตใกล้เคียงกับต้นปกติ การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อคัดเลือกสารสกัดจากพืชและศึกษารูปแบบการใช้สารสกัดจากพืชและธาตุซิลิคอนร่วมกันด้วยวิธีที่ง่ายและสะดวกต่อการนำไปใช้งานในการควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศภายใต้สภาพโรงเรือนแบบการค้าหรือในแปลงปลูกเพื่อการผลิตที่ได้คุณภาพและความปลอดภัยต่อผู้ผลิต ผู้บริโภคและสิ่งแวดล้อม

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืชในการควบคุมโรคเหี่ยวจากแบคทีเรียของมะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อ *Ralstonia solanacearum* ในห้องปฏิบัติการและเรือนทดลองแบบการค้า
2. เพื่อศึกษารูปแบบและวิธีในการนำสารจากพืชมาใช้ร่วมกับซิลิโคนเพื่อควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อ *R. solanacearum* ในเรือนทดลองแบบการค้า
3. เพื่อศึกษากลุ่มสารออกฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชที่ยับยั้งเชื้อ *R. solanacearum*

การตรวจเอกสาร

ลักษณะของเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรค

โรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* (Yabuuchi et al., 1995) มีชื่อเดิม *Pseudomonas solanacearum* เป็นโรคที่สร้างความเสียหายอย่างมากแก่มะเขือเทศที่ปลูกในเขตร้อนเกิดโรคได้ทุกระยะการเจริญเติบโต แต่จะรุนแรงมากถ้าเกิดในระยะต้นกล้า อาการเริ่มแรกใบและส่วนยอดจะเหี่ยวในช่วงกลางวัน ใบล่างเหี่ยวห้อยลง(ศุภลักษณ์, 2536) หากเกิดกับมะเขือเทศพันธุ์อ่อนแอมากต่อโรคนี้อาจเกิดอาการเหี่ยวอย่างรวดเร็ว(ชวลา, 2531) หากอากาศร้อนจัด ความชื้นสูงการพัฒนาของโรคจะเร็วมาก เมื่อตัดตามขวางบริเวณโคนต้นจะพบว่าท่อน้ำท่ออาหารถูกทำลายกลายเป็นสีน้ำตาลและมีของเหลวสีขาวขุ่นข้นคล้ายน้ำมันไหลซึมออกมาจากรอยตัดจะเต็มไปด้วยแบคทีเรียสาเหตุโรคนับล้านเซลล์ซึ่งจะแพร่กระจายได้ดีในน้ำและเข้าสู่พืชได้ดีทางบาดแผลและช่องเปิดธรรมชาติ

เชื้อ *R. solanacearum* เป็นแบคทีเรียแกรมลบรูปร่างเป็นท่อน(rod shape) เซลล์หัวท้ายมน ขนาดเฉลี่ย $0.5-0.6 \times 0.8-1.2$ ไมโครเมตร เคลื่อนที่ได้ด้วย polar flagella 1-4 เส้น ซึ่งติดอยู่ที่ขั้วด้านใดด้านหนึ่งของเซลล์ (ศักดิ์, 2530) บนอาหาร triphenyl tetrazolium chloride (TZC) เมื่ออายุ 48 ชั่วโมง โคโลนีจะค่อนข้างกลม (irregularly round) กระจายตัวในน้ำได้ดี (fluidal) มีสีขาวขุ่นที่ขอบและมีสีชมพูอ่อนตรงกลางโคโลนี ส่วนลักษณะโคโลนีของเชื้อชนิดที่ไม่รุนแรง (avirulent) ซึ่งมักพบปะปนหลังจากที่เลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์เป็นเวลานาน โคโลนีมีลักษณะกลม ขอบเรียบ ลักษณะคล้ายเนยเหลว (butyrous) กลางโคโลนีสีแดงเข้ม ขอบใส ไม่ขุ่น และไม่สามารถก่อให้เกิดโรคแก่พืชได้ (Kelman, 1954) เชื้อไม่สร้างสปอร์และแคปซูล ดิคลีแกรมลบ แต่ไม่ดิคลี acid - fast เมื่อย้อมด้วย methylene blue, carbol fuchin หรือ alkaline dye อื่นๆ มักจะดิคลีที่ขั้วสองข้างของเซลล์ (Smith, 1944) ในการทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีและทางฟิสิกส์ของเชื้อพบว่า ต้องการออกซิเจนในการเจริญ สร้างเอนไซม์ยูริเอส(urease) คอะเลส (catalase) ใช้ซิเตรท (citrate) เป็นแหล่งคาร์บอนได้ สร้างแอมโมเนีย ไม่ย่อยแป้ง(starch) ไม่สร้างอินโดล(indole) และไม่ย่อยเจลาติน (gelatin) ไม่เจริญเติบโตที่ความเข้มข้นของเกลือ(NaCl) 5 เปอร์เซ็นต์ และ 7 เปอร์เซ็นต์

โรคเหี่ยวของพืชที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *R. solanacearum* ระบาดและก่อให้เกิดความเสียหายต่อพืชเศรษฐกิจหลายชนิดในประเทศต่างๆทั่วโลก ความรุนแรงของโรคจะแตกต่างกัน ขึ้นกับสภาพแวดล้อมและสายพันธุ์ของเชื้อ ในพื้นที่หนึ่งๆ อาจพบว่ามีเชื้อหลายสายพันธุ์ แต่ละสายพันธุ์มีระดับความรุนแรงเฉพาะตัวต่างกัน พบว่าเชื้อ *R. solanacearum* ก่อให้เกิดโรคพืชได้มากกว่า 200 ชนิดในหลายวงศ์ (Kelman and Person, 1961) ปัจจุบันจัดจำแนกตามพืชอาศัยของเชื้อได้ 5 race คือ

Race 1 : ก่อให้เกิดโรคเหี่ยวกับพืชในวงศ์มะเขือ (Solanaceae) และพืชอื่น

Race 2 : ก่อให้เกิดโรคกับพืชในวงศ์กล้วย (Musaceae) และเฮลิโคเนีย

Race 3 : ก่อให้เกิดโรคกับมะเขือเทศ และมันฝรั่งแต่ไม่เกิดโรครุนแรงกับพืชในวงศ์

Solanaceae

Race 4 : ก่อให้เกิดโรคกับพืชวงศ์ขิง (Zingiberaceae)

Race 5 : ก่อให้เกิดโรคกับหม่อน (Mulberry)

ในประเทศไทยมีรายงานการทำความเสียหายในพืชหลายชนิด คือ มะเขือเทศ มันฝรั่ง พริก ถั่วลิสง ขิง เป็นต้น การศึกษาการเข้าทำลายพืชอาศัยไขว้ (Cross inoculation) ของเชื้อ *R. solanacearum* (ปิยรัตน์, 2541) พบว่าเชื้อแบคทีเรียสามารถก่อให้เกิดโรคเหี่ยวกับพืชอาศัยเดิมที่เชื้อเข้าทำลายได้รุนแรงกว่าพืชอาศัยชนิดอื่น นั่นคือเชื้อสามารถมีพืชอาศัยได้มากกว่า 1 ชนิด เช่น เชื้อที่แยกจากขิงสามารถทำให้ขิงเกิดโรครุนแรงสูงสุด แต่ทำให้เกิดโรคในระดับต่ำกับถั่วลิสงและงา เชื้อที่แยกจากมะเขือเทศทำให้เกิดโรครุนแรงกับมะเขือเทศ และทำให้เกิดโรคในระดับต่ำกับถั่วลิสงและงา เชื้อในพริกทำให้เกิดโรครุนแรงได้ในพริกและมะเขือเทศแต่ทำให้เกิดโรคในระดับปานกลางในขิงและเกิดโรคในระดับต่ำกับถั่วลิสงและงา

นอกจากนี้ยังสามารถจำแนกเป็นไบโอวาร (biovar) ของเชื้อ *R. solanacearum* ตามความสามารถในการใช้น้ำตาลเป็นแหล่งคาร์บอน 6 ชนิด คือ สามารถใช้น้ำตาลแอลกอฮอล์ ได้แก่ น้ำตาลซูซิโตล (dulcitol) แมนนิโตล (mannitol) ซอร์บิตอล (sorbital) และน้ำตาลไคแซคาไรด์ ได้แก่ แลคโตส (lactose) มอลโทส (maltose) เซลโลไบโอส (cellobiose) ตามวิธีของ Hayward (1964) โดยปัจจุบันแบ่งเป็น 5 ไบโอวาร ได้แก่

ไบโอวาร์ 1 เป็นสายพันธุ์เชื้อที่ไม่ใช้น้ำตาลทั้ง 6 ชนิด

ไบโอวาร์ 2 เป็นสายพันธุ์ที่ใช้น้ำตาลมอลโทส, แลคโตส และเซลโลไบโอส ไม่ใช้น้ำตาล
แมนนิทอล, ซอร์บิทอล และคูลซิทอล

ไบโอวาร์ 3 เป็นสายพันธุ์เชื้อที่ใช้น้ำตาลทั้ง 6 ชนิด คือ มอลโทส, แลคโตส,
เซลโลไบโอส, แมนนิทอล, ซอร์บิทอล และคูลซิทอล

ไบโอวาร์ 4 เป็นสายพันธุ์ที่ใช้น้ำตาลแมนนิทอล, ซอร์บิทอล และคูลซิทอล ไม่ใช้น้ำตาล
มอลโทส, แลคโตส และเซลโลไบโอส

ไบโอวาร์ 5 เป็นสายพันธุ์เชื้อที่ใช้น้ำตาลมอลโทส, แลคโตส, เซลโลไบโอส และ
แมนนิทอล ไม่ใช้น้ำตาลซอร์บิทอล และคูลซิทอล

ไบโอวาร์ 1 และ 3 เป็นสายพันธุ์เชื้อจากพืชหลายวงศ์ด้วยกัน โดยเฉพาะพืชในวงศ์
Solanaceae เป็นพืชที่อ่อนแอต่อเชื้อนี้มาก ไบโอวาร์ 4 เป็นสายพันธุ์เชื้อจากพืชในวงศ์ขิง ข่า
มะเขือเทศ ไบโอวาร์ 5 เป็นสายพันธุ์เชื้อจากพืชหม่อนที่ศึกษาโดย He and Kelman (1983) จาก
ประเทศจีนแต่ไม่พบในประเทศไทย

เชื้อ *R. solanacearum* เป็นเชื้อแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ในดิน สามารถอยู่ข้ามฤดูได้โดย
ปราศจากพืชอาศัย เมื่อมีพืชอาศัยที่เหมาะสมจะสามารถปรับตัวเป็นเชื้อสาเหตุโรค(pathogen) เข้า
ทำลายพืชได้ต่อไป สามารถอยู่ในดินได้เป็นเวลานานถึง 4 ปี (McCarter, 1976) และอยู่ในซากพืช
ในดินเป็นเวลานาน 7 เดือน (Devi *et al.*, 1981) เชื้อสาเหตุโรคสามารถมีชีวิตข้ามฤดูได้ดีในดิน
บริเวณอิทธิพลของราก(rhizosphere) ของพืชที่ไม่ใช่พืชอาศัย โดยการเคลื่อนย้ายจากดินสู่
rhizosphere ของพืชที่ไม่ใช่พืชอาศัย ซึ่งเป็นวิธีการอยู่รอดของเชื้ออย่างหนึ่ง (Schuster and
Coyne, 1974) นอกจากนี้ยังพบว่า ดินที่มีความชื้นสูงจะทำให้พืชเป็นโรคมากขึ้น (ศุภลักษณ์,
2536 ; Dixon, 1981)

เชื้อ *R. solanacearum* มีพืชอาศัยกว้างตั้งแต่พืชเศรษฐกิจจนกระทั่งวัชพืช รวมมากกว่า
200 ชนิดในหลายวงศ์ (Kelman, 1954) ความเสียหายต่อพืชมีระดับความรุนแรงต่างกันขึ้นอยู่กับ
ชนิดและพันธุ์พืช สภาพแวดล้อม และสายพันธุ์ของเชื้อ พืชที่อ่อนแอต่อโรคและได้รับความ
เสียหายมากเช่น มะเขือเทศ มันฝรั่ง พริก มะเขือยาว ถั่วลิสง ผักกาดเขียว (Thompson and Johnston,
1953; Johnston, 1960) ปักสาหรารค์ (Quinon and Aragaki, 1963) ขิง (Quinon *et al.*, 1964; and

Pegg *et al.*, 1974) กล้วย งา เจอเรเนียม และพืชอีกจำนวนกว่า 450 ชนิด (Grimanult *et al.*, 1994; Swanson *et al.*, 2005)

นอกจากนี้ยังมีพืชชนิดต่างๆ เช่น หนุ่ก้านจ้ำขาว มะแว้งนก ผักกาดข้าง กุสเบอร์รี่ และ ยาสูบพันธุ์ป่า (Pegg *et al.*, 1974) ถั่วเหลือง ถั่วพุ่ม ถั่วโกลมา โดยพบว่าจากการปลูกเชื้อที่ลำต้นของ พืชตระกูลถั่วในระยะต้นกล้า พืชจะแสดงอาการเหี่ยวแต่ในสภาพธรรมชาติไม่เกิดโรค (Stanford and Wolf, 1917)

ความสามารถในการทำให้เกิดโรคของเชื้อ

ในธรรมชาติเชื้อ *R. solanacearum* สามารถเข้าทำลายมะเขือเทศได้ทุกระยะการเจริญเติบโตตั้งแต่ระยะกล้าจนถึงระยะออกดอกติดผล ในการทดลองปลูกเชื้อเพื่อทำให้เกิดโรคกับมะเขือเทศนั้น ต้องใช้เชื้อที่แยกเชื้อใหม่เสมอเพื่อให้ได้เชื้อที่รุนแรง (Winstead and Kelman, 1952) ในการปลูกเชื้อเพื่อทำให้พืชเป็นโรคซึ่งมีรายงานว่าปริมาณเชื้อที่มีความเข้มข้น $10^5 - 10^9$ CFU/ml จะทำให้มะเขือเทศเกิดอาการเหี่ยวอย่างรุนแรงและรวดเร็ว ในพันธุ์อ่อนแอที่มีอายุ 9 สัปดาห์ แต่ในมะเขือเทศพันธุ์ต้านทานจะไม่แสดงอาการเหี่ยวแม้ความเข้มข้นของเชื้อจะเพิ่มมากขึ้น (สุธัญญา, 2527) ศศิธร (2525) ศึกษาอัตราการเจริญของเชื้อและปริมาณเซลล์แบคทีเรียสามารถใช้ค่า O.D. (Optical density) ในการหาปริมาณแบคทีเรียในเซลล์แขวนลอย (cell suspension) ได้และพบว่ามีความสัมพันธ์กันระหว่างความต้านทานของพืชกับความเข้มข้นของเชื้อ โดยถ้าความเข้มข้นของเชื้อต่ำพืชจะแสดงความต้านทาน และอ่อนแอลงอย่างรวดเร็วเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเชื้อเพิ่มมากขึ้น

วิธีการปลูกเชื้อทำได้หลายวิธี เช่น การทำแผลที่รากโดยใช้ปลายมีดตัดรากข้างใดข้างหนึ่งของต้นมะเขือเทศลึกประมาณ 4 เซนติเมตร แล้วราดสารละลายเชื้อปริมาตร 10 มิลลิลิตร การจุ่มรากโดยถอนต้นกล้าขึ้นมาจากดินแล้วล้างดินออก นำรากไปจุ่มในสารละลายเชื้อแล้วนำต้นกล้าไปปลูกใหม่ใช้เข็มแทงที่ลำต้นบริเวณใต้ใบที่สามนับจากยอดหรือบริเวณใต้ใบแรกนับจากโคนต้น แล้วหยดสารละลายเชื้อบริเวณที่ใช้เข็มแทง (Winstead and Kelman, 1952; สุธัญญา, 2527) การใช้กรรไกรหรือมีด (scalpel) จุ่มสารละลายเชื้อแล้วตัดบริเวณก้านใบ (petiole) ของพืชที่ทดสอบ (Mew and Ho, 1976; Thaveechai, 1989) การใช้เข็มฉีดยาบรรจุสารละลายเชื้อ แล้วฉีดเข้าลำต้นบริเวณใต้ใบที่สามนับจากยอด (Kelman and Person, 1961) และวิธี micropipette technique โดยใช้ micropipette ดูดสารละลายเชื้อแล้วแทง micropipette tip ที่ลำต้นบริเวณใต้ใบที่สามจากยอดหรือ

บริเวณใบแรกจากโคน แล้วปล่อย tip ให้ ติดคาอยู่กับลำต้น เพื่อให้หูดซึมเชื้อเข้าไป (Thaveechai, 1989)

ขบวนการที่เชื้อ *R. solanacearum* ทำให้มะเขือเทศแสดงอาการเหี่ยว

การที่เชื้อจะเข้าไปสู่ภายในต้นพืชและก่อให้เกิดอาการเหี่ยวภายในต้นพืชนั้น ส่วนใหญ่เข้าทางบาดแผลหรือเข้าทางช่องเปิดธรรมชาติที่พืชมีอยู่ ส่วนการเข้าทำลายที่รากหรือส่วนของพืชที่อยู่ใต้ดินจะผ่านทางบาดแผลที่เกิดจากการขุดกรรมหรือการเข้าทำลายของไส้เดือนฝอย การที่เชื้อ *R. solanacearum* ทำให้พืชเป็นโรค หรืออาจเกิดอาการเหี่ยวได้นั้นแบ่งเป็น 2 กระบวนการคือ กระบวนการชักนำให้มะเขือเทศเกิดอาการเหี่ยว(wilt induction) และกระบวนการสลายตัวของเนื้อเยื่อ(tissue breakdown) สำหรับกระบวนการชักนำให้เกิดการเหี่ยวนั้นจะเกิดภายหลังจากที่สายพันธุ์ที่รุนแรงเข้าทำลายต้นพืชแล้วเข้าไปเจริญเติบโตอยู่ในท่อน้ำ(xylem) เชื้อจะเข้าไปอยู่ได้ทั้งช่องว่างระหว่างเซลล์และภายในเซลล์เชื้อจะมีการเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็ว เซลล์ของเนื้อเยื่อที่อยู่ทำให้เซลล์ติดกันจะถูกทำลายทำให้สารต่างๆภายในเซลล์เหล่านั้นไหลมารวมกันเกิดแรงดันรอบเซลล์ parenchyma ของท่อน้ำทำให้เซลล์แตกออก เชื้อจะเข้าทำลาย pith, cambium, phloem และ cortex ต่อไป ท่อน้ำ ท่ออาหารจะเต็มไปด้วยเซลล์ของแบคทีเรียและเมือก(slime) ซึ่งเมือกนี้จะเพิ่มสารประกอบเชิงซ้อนของพวก polysaccharide (complex polysaccharide) สารเมือกจะเพิ่มความเหนียวขึ้นทำให้เกิดการอุดตันขึ้นภายในท่อน้ำและท่ออาหาร พืชดูดน้ำและอาหารขึ้นไปหล่อเลี้ยงส่วนต่างๆของลำต้นได้น้อยกว่าปกติ ทำให้เกิดการเหี่ยวขึ้นในที่สุด(ดวงกมล, 2548)

การป้องกันกำจัดและการควบคุมโรคเหี่ยว

โรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียปัจจุบันพบโรคนี้ระบาดเกือบทั่วโลก จากการที่เชื้อมีพืชอาศัยกว้างมาก จึงทำให้การป้องกันกำจัดเป็นไปได้ยากต้องใช้วิธีการต่างๆร่วมกันเพื่อควบคุมโรคไม่ให้ระบาดมากขึ้น หรือเพื่อมิให้มีโรคเกิดขึ้นอาจทำได้โดยวิธีการปลูกพืชหมุนเวียน การใช้วิธีทางฟิสิกส์ เช่น ใช้ความร้อนแช่ท่อนพันธุ์และการใช้แสงอัลตราไวโอเลต การใช้ความร้อนจากแสงแดด(solar light) อบดิน Gamliel and Stapleton (1993) รายงานว่าการใช้ปุ๋ยคอก ปุ๋ยแอมโมเนียมฟอสเฟต และการอบดินด้วยแสงอาทิตย์เพียงวิธีเดียว หรือใช้ร่วมกัน สามารถลดปริมาณเชื้อ 15 ชนิดในดินทำให้พืชเจริญเติบโตและเพิ่มผลผลิตของผักกาดหอมได้ด้วย ซึ่งแบคทีเรียที่เจริญได้ดีบริเวณรากผักกาดหอมในดินอบฆ่าเชื้อด้วยแสงอาทิตย์ คือ fluorescent

pseudomonad และ *Bacillus* spp. พัทธินทร (2540) ได้ทดสอบการจัดการดินกำจัดโรคเหี่ยวกับมะเขือเทศโดยการใส่ปุ๋ยยูเรียและปุ๋ยคอก อัตรา 68.5 กิโลกรัมและ 800 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับพบว่าช่วยลดการเกิดโรคเหี่ยวได้ 60 เปอร์เซ็นต์ในสภาพเรือนทดลอง และช่วยลดการเกิดโรคเหี่ยวในแปลงทดลองได้ 81 เปอร์เซ็นต์เมื่อเปรียบเทียบกับการไม่ปรับปรุงดิน โดยชนิดของปุ๋ยคอก ปุ๋ยคอกขี้ไก่ ปุ๋ยคอกวัว ปุ๋ยคอกหมู หรือโคโลไมท์ ไม่มีความแตกต่างในการควบคุมโรค และการเพิ่มปริมาณปุ๋ยคอกจะให้ผลการควบคุมโรคดีกว่าการเพิ่มปริมาณยูเรีย

การคัดเลือกพันธุ์ของมะเขือเทศที่ต้านทานโรคเหี่ยว ที่สถานีทดลองเกษตร North Carolina Agricultural Experiment Station สามารถผลิตพันธุ์ของมะเขือเทศที่ต้านทานโรคเหี่ยวได้ 2 สายพันธุ์ คือ Venus และ Saturn (Henderson and Jenkin, 1972) ในประเทศไทย วิชชา (2530) ได้ทดสอบพันธุ์มะเขือเทศจำนวน 31 สายพันธุ์ ที่มีความต้านทานต่อโรคเหี่ยวด้วยการใช้ micropipette technique โดยใช้เชื้อ *R. solanacearum* 5 ไอโซเลตพบว่าระดับความต้านทานโรคของมะเขือเทศทั้ง 31 พันธุ์ เมื่อทดสอบด้วยวิธี artificial inoculation ขึ้นอยู่กับเชื้อ (inoculum) ที่ทำการปลูกเชื้อ (inoculate) พบว่าพันธุ์ Venus มีแนวโน้มเป็นพันธุ์ต้านทาน (resistance) พันธุ์ Saturn CHANG'S และ CL-9-0-0-1-3-0 มีแนวโน้มเป็นพันธุ์ค่อนข้างต้านทาน (moderately resistance) จุมพลและคณะ (2532) ทดสอบความต้านทานโรคเหี่ยวของมะเขือเทศสายพันธุ์ P3 P4 P8 PP5 และ PPB โดยมีสายพันธุ์สิดาทิพย์ 3 และ VF 134-1-2 เป็นสายพันธุ์อ่อนแอที่ใช้เป็นตัวเปรียบเทียบ พบว่าสายพันธุ์ P8 และ PP5 ต้านทานโรคได้ดี มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค 0-29.3 เปอร์เซ็นต์ ส่วนสายพันธุ์สิดาทิพย์ 3 และ VF 134-1-2 มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค 95-100 เปอร์เซ็นต์ สุกกิจ (2536) ทดสอบเพื่อศึกษาพันธุ์ต้านทานโรคเหี่ยว และการเปลี่ยนแปลงประชากรของเชื้อ *R. solanacearum* ในแปลงทดสอบที่มีการปลูกเชื้อเพื่อเพิ่มปริมาณเชื้อในดินที่แปลงทดลองภาควิชาโรคพืช มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน โดยทดสอบทั้งสิ้นจำนวน 16 สายพันธุ์ พบว่ามี 13 สายพันธุ์ ที่อยู่ในระดับความต้านทาน คือ CL 1131-0-0-43-4-12, CLN65-249D₅-2-0, CL5915-93D₄-1-0, CLN475BC₁F₂-265-4-19, BL410, BL342, CL9-0-0-1-3, CL8d-0-7-1, CL143-0-1-0-3-1-10, BL350, BL323, CL5915-206D₄-2-2 และ L285

การใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์จากดิน ได้แก่ เชื้อ *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ CH4, เชื้อ *B. licheniformis* สายพันธุ์ NA 37 และ PH9 , เชื้อ *Pseudomonas fluorescens* สายพันธุ์ NA1 และ SU1, เชื้อ *Serratia marcescens* สายพันธุ์ NA 25 ให้ผลดีที่สุดในการควบคุมเชื้อแบคทีเรีย *R. solanacearum* สาเหตุโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ (อุไรจันทา, 2534) การควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ

โดยใช้แบคทีเรียแอนทาโกนิสต์ *P. fluorescens* สายพันธุ์ NA1 จะให้ผลดีกว่าการใช้สารเคมี Dexan ในมะเขือเทศพันธุ์ L390 ซึ่งเป็นพันธุ์ที่มีอ่อนแอ แต่ในพันธุ์ที่มีความต้านทาน (L 285) จะไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งจากการทดสอบเชื้อ *P. fluorescens* สายพันธุ์ NA1 กับเชื้อ *R. solanacearum* สายพันธุ์ SR21 ในห้องปฏิบัติการ โดยวิธี paper disc diffusion จะให้ผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแตกต่างกันตามความเข้มข้นของสารแขวนลอยเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ ประชากรของเชื้อสายพันธุ์ NA1 ในดินผสมทางการค้า (นนทรี 6) และดินที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อจะมีปริมาณประชากรสูงกว่าดินที่ผสมแกลบและไม่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ หลังจากที่ได้ใส่เชื้อลงสู่ดินเป็นเวลา 60 วัน (สุภกิจ, 2536)

การใช้สารเคมีป้องกันกำจัดซึ่ง Jones *et al.*, (1966) ใช้สารรม (fumigant) ได้แก่ DCB (1,4-dichloro-2-butene + 1,2-dichloro-3-butane), Nemen (chloropicrin 50 เปอร์เซ็นต์ + D-D 50 เปอร์เซ็นต์), SMDC (Sodium N-methyl dithiocarbamate) และ Vorlex (D-D mixture 80 เปอร์เซ็นต์ + Methyl isothiocyanate 20 เปอร์เซ็นต์) โดยใช้อัตรา 50 แกลลอนต่อเอเคอร์ พบว่า การรมยาในดินและมีพลาสติกสีดำคลุมด้วยนั้น Nemen สามารถลดปริมาณเชื้อแบคทีเรียในดินได้ดีที่สุด ส่วน DCB, Vorlex และ SMDC ให้ผลรองลงมาตามลำดับ Enfinger *et al.*, (1979) ได้ทดสอบประสิทธิภาพสารเคมีและวิธีการในการควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ พบว่าการอบดินด้วย chloropicrin อัตรา 326 ลิตรต่อเฮกเตอร์และ Methyl bromide อัตรา 490 กิโลกรัมต่อเฮกเตอร์ และใช้พลาสติกสีดำคลุม สามารถลดปริมาณประชากรของเชื้อแบคทีเรีย *R. solanacearum* ได้ดีในสภาพเรือนทดลอง ส่วนในสภาพแปลงปลูกนั้นพบว่า chloropicrin สามารถลดปริมาณประชากรของเชื้อได้ แต่การใช้สารเคมีเหล่านี้ในแปลงปลูกขนาดใหญ่ทำได้ยาก ลื่นเปื้อนและอาจเกิดอันตรายได้ถ้าใช้ไม่ถูกวิธี

การใช้สารสกัดจากพืชเพื่อการควบคุมโรคพืช นิพนธ์ (2544) กล่าวถึงการใช้สารเคมีที่มีอยู่ในพืชหรือ สารธรรมชาติ (natural product) เพื่อการควบคุมโรคอาจไม่นับว่าเป็นการควบคุมโดยชีวภาพเนื่องจากไม่ได้ใช้สิ่งมีชีวิตควบคุมโรค แต่ใช้สารเคมีหรือสารออกฤทธิ์จากพืช (plant active substance) ในการควบคุมเชื้อโรค การใช้สารเคมีมาจากรธรรมชาติจะเป็นสารเคมีที่ค่อนข้างปลอดภัยกว่าสารเคมีสังเคราะห์ เพราะมีฤทธิ์ในการทำลายเชื้อโรคจะจางและสลายตัวง่ายไม่ค่อยมีพิษตกค้างในสิ่งแวดล้อม ปัจจุบันมีผู้ให้ความสนใจศึกษานำพืชต่าง ๆ มาใช้มากขึ้น ในอนาคตจะมีการทำสารสกัดพืชมาใช้ในการควบคุมโรคพืชโดยผลิตจำหน่ายเป็นการค้าหรือมีการเผยแพร่ให้เกษตรกรผลิตใช้เองมากยิ่งขึ้น

วงศ์และคณะ(2539) ศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืชธรรมชาติในการควบคุมโรคเหี่ยวของมันฝรั่งที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *R. solanacearum* พบว่าสารสกัดจากใบพลู ยอดเปราะน้อย และต้นตะไคร้หอมที่ความเข้มข้น 1,000 ส่วนในล้านส่วนปริมาณ 100 มิลลิลิตรต่อต้นสามารถป้องกันโรคนี้อาจได้ขณะที่ต้นมันฝรั่งยังไม่เป็นโรค สารเหล่านี้จะไม่สามารถควบคุมโรคได้กรณีที่มันฝรั่งเป็นโรคแล้ว จากการทดลองยังพบอีกว่าการใช้สารสกัดจากพืชทั้ง 3 ชนิดข้างต้นอัตรา 10,000 ppm คลุกกับหัวพันธุ์ก่อนปลูกสามารถป้องกันการเกิดโรคเหี่ยวดังกล่าวได้เช่นกัน

วงศ์และคณะ (2540) ศึกษาสารสกัดจากส่วนต่างๆของพลู ได้แก่ ใบ ก้าน ช่อดอก ต้นและราก ในรูปของสารสกัดหยาบ นำมาทดสอบเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *R. solanacearum* สาเหตุโรคเหี่ยวของมันฝรั่งในห้องปฏิบัติการบนอาหารเลี้ยงเชื้อ potato synthesis agar โดยวิธี paper disc diffusion ที่ระดับความเข้มข้น 10 100 1,000 และ 10,000 ส่วนในล้านส่วน ตามลำดับพบว่าสารสกัดจากใบพลูที่ความเข้มข้น 10,000 ppm มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อดังกล่าวได้ดีที่สุดและสารสกัดจากรากพลูไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้

พรทิพย์และคณะ(2540) ศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชสมุนไพร 3 ชนิด ได้แก่ ใบคูณ ใบชุมเห็ดเทศ และแงงของขมิ้นชันในการเจริญเติบโตของเชื้อ *R. solanacearum* พบว่าสารสกัดจากขมิ้นชันให้ผลดีที่สุดในการยับยั้งเชื้อได้ 100 เปอร์เซ็นต์ในสภาพห้องปฏิบัติการ

ชลิดา และคณะ (2541) ทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากสมุนไพร 8 ชนิด คือ เสด็จพังพอนตัวเมีย(*Clinacanthus nutans*) ทองพันชั่ง(*Rhinacanthus nasutus*) สาบเสือ (*Eupatorium odoratum*) พะยอม (*Shorea roxburghii*) เปล้าใหญ่ (*Croton oblongifolius*) กระเจี๊ยบแดง (*Hibiscus sabdariffa*) ฝรั่ง (*Psidium guajava*) และชะพลู (*Piper sarmentosum*) กับเชื้อแบคทีเรีย 12 สายพันธุ์ พบว่าพืชสมุนไพรที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *R. solanacearum* ได้แก่ ฝรั่ง พะยอม และกระเจี๊ยบแดง โดยสารสกัดของฝรั่งมีประสิทธิภาพสูงสุดและกระเจี๊ยบแดงมีประสิทธิภาพต่ำสุด

อุไรวรรณ (2544) ศึกษาประสิทธิภาพสารสกัดจากพืช 56 ชนิดในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *R. solanacearum* พบว่าสารสกัดจากพืช 9 ชนิด ได้แก่ ฝรั่ง ยูคาลิปตัส หนุปลาช่อน การเวก มะขาม มะกอกฝรั่ง น้ำมันราชสีห์ สับปะรด และทับทิมที่มีประสิทธิภาพยับยั้งเชื้อได้

ดวงกมล (2548) ใช้สารสกัดจากกระเทียมและขิงเจียวทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อ *R. solanacearum* ในห้องปฏิบัติการพบว่าสามารถยับยั้งเชื้อได้ จากนั้นคัดเลือกสารสกัดขิงเจียวไปทดลองในโรงเรือนพบว่าสามารถควบคุมการเกิดโรคเหี่ยวได้ดีมะเขือเทศรอดตาย 70 เปอร์เซ็นต์

ณัฐทิยา (2550) แยกสารสกัดหยาบแห้งด้วยวิธี Column chromatography สามารถแยกสารออกมาได้ 21 fraction นำมาทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *Sphaceloma ampelinum* de Bary สาเหตุโรคสแคปขององุ่น พบว่า fraction ที่ 12 และ 13 มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ และเมื่อศึกษาพิษวิทยาพบว่ามีสาร alkaloid เป็นส่วนสำคัญและเมื่อแยกสกัด alkaloid ไปทดสอบพบว่า มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อสาเหตุได้

Molina (1999) ทดสอบโดยสกัดสาร Amides affanin จากรากต้น *Heliopsis longipes* นำมาทดสอบกับเชื้อแบคทีเรียพบว่า ที่ความเข้มข้น 25 กรัมต่อมิลลิลิตร สามารถต้านทานต่อเชื้อ *Escherichia coli* และ *Saccharomyces cerevisiae* ส่วน affinin ที่ความเข้มข้นสูงสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *R. solanacearum* และเชื้อ *Bacillus subtilis* ได้

ธาตุซิลิกอน (Si)

ในดินที่มีความอุดมสมบูรณ์มีปริมาณธาตุซิลิกอนเป็นอันดับสองที่พบรองจากออกซิเจน โดยพบในรูปของซิลิกอนไดออกไซด์ (SiO_2) ซึ่งมีอยู่ประมาณ 50-70 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักดิน (Richmond and Sussman, 2003) ระบบการปลูกพืชและการปุ๋ยเคมี เช่น ในโตรเจน ฟอสฟอรัสและโพแทสเซียม ทำให้ธาตุซิลิกอนที่พืชสามารถนำไปใช้ประโยชน์ในดินลดลงและเกิดการวิตกว่า การขาดธาตุซิลิกอนในดินจะป็นปัจจัยที่จำกัดด้านผลผลิตของพืช ปัจจุบันนี้ซิลิกอนยังไม่เป็นที่ยอมรับว่าเป็นธาตุอาหารที่จำเป็นในการเจริญเติบโต การพัฒนา การเพิ่มผลผลิตของพืชและการต้านทานโรคของพืชหลายชนิด พืชใบเลี้ยงเดี่ยว เช่น พวงกวัก หญ้า วงศ์กก มีการสะสมซิลิกอนไว้ในพืชในปริมาณสูง พืชส่วนใหญ่โดยเฉพาะพืชใบเลี้ยงคู่พบว่าไม่สามารถสะสมซิลิกอนได้ในปริมาณมาก ซึ่งความแตกต่างของการสะสมซิลิกอนระหว่างพืชแต่ละชนิดนั้นขึ้นอยู่กับคุณสมบัติและความสามารถของรากพืชในการดูดซึมซิลิกอน ซิลิกอนดูดซึมจากรากส่งเข้าสู่พืชผ่านทางท่อน้ำในรูปซาลิสิกแอซิด [Salisic acid, $\text{Si}(\text{OH})_4$] โดย 90 เปอร์เซ็นต์จะถูกถ่ายทอดเข้าสู่ต้นพืช จากนั้นจะเปลี่ยนรูปเป็นซิลิกา เจล เพื่อเก็บสะสมไว้ใน bulliform cells และได้ผิวของชั้นคิวติเคิล

บทบาทของซิลิคอนต่อพืช (Ma *et al.*, 2004)

- (1) ปรับปรุงทรงพุ่มช่วยในการสังเคราะห์แสง
- (2) เพิ่มความทนทานต่อสภาพความเครียดต่างๆ
- (3) ส่งเสริมความต้านทานต่อสภาพแวดล้อมทางชีวภาพ เช่น การต้านทานโรคและแมลง

Epstein (1994) รายงานว่าธาตุซิลิคอนเป็นแร่ธาตุที่พบมากในดินที่มีความอุดมสมบูรณ์สูงและยังช่วยบรรเทาความเสียหายที่เกิดจากทั้งสิ่งมีชีวิตและสิ่งไม่มีชีวิตที่มีต่อพืชได้ นอกจากนี้การปรับปรุงดินโดยการเพิ่มธาตุซิลิคอนยังช่วยให้พืชเจริญเติบโตและยังทำให้เนื้อเยื่อพืชทนทานต่อแมลงกานีสที่ความเข้มข้นสูงได้ (Horstand and Marschner, 1978)

Takahashi (1996) พบว่าธาตุซิลิคอนที่สะสมที่ชั้น epidermis ช่วยในการป้องกันการรุกรานของเชื้อราในอ้อยได้ Fawe *et al.*, (2001) รายงานว่าธาตุซิลิคอนสามารถส่งเสริมให้พืชต้านทานต่อเชื้อรา *Pythium* และ *Sphaerotheca* ในแตง และต้านทานต่อโรคใบไหม้ (blast) และกาบใบแห้ง (sheath blight) ในข้าว (Datnoff *et al.*, 2001) ผลจากธาตุซิลิคอนสามารถเพิ่มความต้านทานแก่พืชได้โดยมีรายงานไว้ในหลายๆพืชว่าสามารถเพิ่มความต้านทานต่อเชื้อราได้ เช่น ในแตง ข้าวโอ๊ต ข้าว ข้าวสาลี ข้าวบาร์เลย์ และอ้อย และมีการสะสมธาตุซิลิคอนไว้ในเซลล์พืช (Rodrigues *et al.*, 2003)

Dannon and Wydra (2004) รายงานว่าธาตุซิลิคอนสามารถช่วยลดการเกิดโรคเหี่ยวจากแบคทีเรียของมะเขือเทศได้ทั้งในพันธุ์ที่อ่อนแอและพันธุ์ที่ค่อนข้างต้านทานเมื่อทดลองในแปลงปลูกพืชแบบไม่ใช้ดินและตรวจสอบภายในต้นมะเขือเทศไม่พบว่ามีธาตุซิลิคอนสะสมอยู่พบเพียงเชื้อแบคทีเรียเท่านั้นที่สะสมในต้นมะเขือเทศ Diogo and Wydra (2007) ใช้ซิลิคอนชกน้ามะเขือเทศให้ต้านทานต่อเชื้อ *R. solanacearum* พบว่าซิลิคอนมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของ pectic cell wall ของมะเขือเทศ ช่วยลดการเกิดโรค 38.1 เปอร์เซ็นต์ในพันธุ์ Kingkong (พันธุ์ค่อนข้างต้านทาน) และ 100 เปอร์เซ็นต์ในพันธุ์ฮาวาย 7998 (พันธุ์ต้านทาน) นอกจากนี้ยังพบว่าซิลิคอนไม่มีผลต่อปริมาณประชากรของเชื้อ

สารสำคัญในพืช

สารเคมีที่แยกได้ในพืช จำแนกออกเป็น 2 พวกใหญ่ๆ คือ primary metabolite และ secondary metabolite โดย primary metabolite เป็นสารที่พบได้ในพืชทุกชนิด เป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากกระบวนการสังเคราะห์แสง (photosynthesis) เช่น คาร์โบไฮเดรต กรดอะมิโน และไขมัน ส่วน secondary metabolite นั้นพบไม่เหมือนกันในพืชแต่ละชนิด ไม่พบทั่วไปและไม่มี metabolic function ที่ชัดเจน เช่น แอลคาลอยด์ ไกลโคไซด์ เทนิน เป็นต้น secondary metabolite มีสารตั้งต้นเป็นกรดอะมิโน acetate และ mevalonate โดยมีเอนไซม์ (enzyme) มาเกี่ยวข้อง ซึ่งพืชต่างชนิดกันมีเอนไซม์ไม่เหมือนกันทำให้วิถีทางในกระบวนการชีวสังเคราะห์ (biosynthesis) ต่างกันไป และได้สารประเภท secondary metabolite ต่างกันไปในด้านไม่ต่างชนิดกันหรือต่างฤดู สาเหตุที่แท้จริงในการสร้าง secondary metabolite ในพืชยังไม่ทราบแน่ชัด แต่พบว่าอาจเกิดจากการพยายามปรับตัวให้เข้ากับสิ่งแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงไป (วันดี, 2536)

สารเคมีในพืชจำแนกได้เป็น 9 กลุ่มใหญ่ๆ คือ

- คาร์โบไฮเดรต (carbohydrate)
- แอลคาลอยด์ (alkaloid)
- ไกลโคไซด์ (glycoside)
- น้ำมันหอมระเหย (volatile oil)
- ไขมัน (lipid)
- เรซิน (resin)
- วิตามิน (vitamin)
- สเตอรอยด์ (steroid)
- สารปฏิชีวนะ (antibiotic)

1. คาร์โบไฮเดรต (carbohydrate) คือสารประกอบที่ประกอบด้วย C H และ O ซึ่งอัตราส่วนของ H:O มักเป็น 2:1 และอยู่ในรูปของ polyhydroxy aldehyde หรือ ketone กลุ่มคาร์โบไฮเดรตที่ใช้ทางยามักใช้ในรูปของ dextrose, fructose, glucose, lactose, sucrose, dextran, starch, cotton, agar, pectin และ tragacanth

2. แอลคาลอยด์ (alkaloid) เป็นสารอินทรีย์ซึ่งมีไนโตรเจนเป็นส่วนประกอบ (organic nitrogen compound) พบในพืชชั้นสูงเป็นส่วนมาก แต่พบได้บ้างในสัตว์และจุลินทรีย์ แอลคาลอยด์ส่วนใหญ่มีรสขม ไม่ละลายน้ำ ละลายในตัวทำละลายอินทรีย์ (organic solvent) ชนิดต่างๆ มีฤทธิ์เป็นด่าง และมักมีฤทธิ์ต่อระบบต่างๆ ของร่างกาย

หน้าที่ของแอลคาลอยด์ในพืชยังไม่ทราบแน่ชัด แต่มีผู้สันนิษฐานว่าอาจทำหน้าที่บางอย่างในพืช เช่น

- 1) ป้องกันพืชจากสัตว์และแมลงต่างๆ เนื่องจากสารนี้ส่วนใหญ่จะมีรสขมและมีพิษ
- 2) เป็นแหล่งสะสมไนโตรเจนในพืชเพื่อใช้สร้างโปรตีน
- 3) ช่วยควบคุมการเจริญของพืชหรือการงอกของเมล็ดพืชบางชนิด
- 4) เป็นสารที่ได้จากการทำลายพิษ (detoxication) ซึ่งเกิดขึ้นในกระบวนการเมตาบอลิซึมของพืช
- 5) เป็น nitrogen excretory product เช่นเดียวกับยูเรียหรือกรดยูริกในคนและในสัตว์
- 6) ช่วยรักษาสมดุลย์ไอออน (maintain ionic balance)

แอลคาลอยด์อาจพบในส่วนต่างๆ ของพืช เช่น ในเมล็ด (หมาก) ในผล (พริกไทย) ในใบ (ลำโพง) ในเปลือก (ชิงโคนา) ในเหง้า (ทองคิง) ในราก (ระหยอม) และพบได้ในเชื้อราที่ขึ้นบนพืช (ergot) เป็นต้น

3. ไกลโคไซด์ (glycoside) เป็นสารอินทรีย์ที่ประกอบด้วยส่วนที่เป็น aglycone (genin) กับส่วนที่เป็นน้ำตาล เมื่อถูกไฮโดรไลซ์ด้วยกรดหรือน้ำย่อยจะได้ผลิตภัณฑ์ 2 อย่างนี้ ส่วนที่ไม่ใช่น้ำตาลมีสูตรโครงสร้างแตกต่างกันหลายประเภท ดังนั้นฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของสารประกอบในกลุ่มนี้จึงมีได้กว้างขวางแตกต่างออกไป ส่วนที่เป็นน้ำตาลจะไม่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาแต่เป็นส่วนช่วยให้การละลายและดูดซึมเข้าสู่ร่างกายได้ดีขึ้น หน้าที่ของไกลโคไซด์ในพืชจะทำให้การดำรงชีวิตของพืชอยู่ปกติและทำหน้าที่ป้องกันอันตรายให้แก่พืชด้วย

ไกลโคไซด์ จำแนกตามสูตร โครงสร้างของ aglycone (เนื่องจากมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา) ได้ดังนี้

3.1) คาร์ดิโอ-แอคทีฟ หรือ คาร์ดิแอ็กไกลโคไซด์ (cardio-active group or cardiac glycoside) สารกลุ่มนี้จะมี aglycone เป็น steroid nucleus มีฤทธิ์ต่อกล้ามเนื้อหัวใจ ตัวอย่างเช่น digitoxin, strophanthin และ scillaren

3.2) แอนทราควิโนน กลัยโคไซด์ (anthraquinone glycoside) มีส่วน aglycone เป็นอนุพันธ์ของ anthracene มีฤทธิ์เป็นยาระบายและยาถ่าย ตัวอย่างเช่น emodin, aloë-emodin และ sennoside

3.3) ซาโปนิน กลัยโคไซด์ (saponin glycoside) มีส่วน aglycone เป็นสารจำพวก steroid หรือ triperpenoid เป็นกลุ่มสารที่มีคุณสมบัติเกิดฟองเมื่อเขย่ากับน้ำ ตัวอย่างเช่น dioscin และ sarsaponin

3.4) ไซยาโนเจนนิติก กลัยโคไซด์ (cyanogenetic glycoside) มีส่วน aglycone เป็น cyanogenetic nitrile สารในกลุ่มนี้เมื่อถูกย่อยจะได้สารจำพวกไฮยาไนด์ ตัวอย่างเช่น amygdalin

3.5) ไอโซไทโอไซยาเนต กลัยโคไซด์ (isothiocyanate glycoside) มีส่วน aglycone เป็นสารจำพวก isothiocyanate ตัวอย่างเช่น sinigin และ sinalbin

3.6) ฟลาโวนอล กลัยโคไซด์ (flavonal glycoside) มีส่วน aglycone เป็นสารประกอบที่มีโครงสร้างเป็น $C_6-C_3-C_6$ ส่วนใหญ่จะเป็นสารมีสี (pigments) ในพืช ตัวอย่างเช่น rutin, quercetin และ luteolin

3.7) แอลกอฮอล์ิก กลัยโคไซด์ (alcoholic glycoside) มีส่วน aglycone เป็นแอลกอฮอล์ เช่น salicin

3.8) ฟีนอลิก กลัยโคไซด์ (phenolic glycoside) มีส่วน aglycone เป็นสารพวก phenolic compound ตัวอย่างเช่น arbutin

3.9) แอลดีไฮด์ กลัยโคไซด์ (aldehyde glycoside) มีส่วน aglycone เป็นสารจำพวก aldehyde ตัวอย่างเช่น glucovanilin

3.10) แลคโตน กลัยโคไซด์ (lactone glycosides) มีส่วน aglycone เป็น lactone ring ตัวอย่างเช่น coumarin และ santonin

3.11) กลุ่มแทนนิน (tannins) เป็นสารกลุ่มใหญ่ มีโครงสร้างซับซ้อน มักเป็นสารผสมของ polyphenols ประกอบด้วยเอสเทอร์ที่เกิดจาก gallic acid หรือ polyhydric compound จับกับน้ำตาลกลูโคส เกิดเนื่องจาก phenolic compound จับกับคาร์โบไฮเดรตหรือโปรตีน สารกลุ่มนี้พบได้ทั่วไปในพืชเกือบทุกชนิด สามารถแบ่งเป็น 2 กลุ่มใหญ่ คือ true tannin มีน้ำหนักโมเลกุล 1,000-5,000 และ pseudo tannin ซึ่งมีโมเลกุลเล็กกว่า pseudo tannin เป็นสารที่ทำให้คุณสมบัติบางอย่างคล้าย true tannin ตัวอย่างของ pseudo tannin เช่น gallic acid พบในกระเทียม catechins พบในเปลือกกล้วยและ chlorogenic acid พบในเมล็ดกาแฟ เมล็ดสะเดา เป็นต้น ตัวอย่างของ true tannin ได้แก่ gallo tannin พบได้ในเปลือกอบเชย กลีบกุหลาบ เปลือกผลและเปลือกต้นทับทิม ใบยูคาลิปตัส และเปลือกต้นโอ๊ค condensed tannin พบได้ในเปลือกอบเชย เปลือกชิงโคนา เมล็ดหมาก ใบชา และเปลือกกล้วย

4. น้ำมันหอมระเหย (volatile oil หรือ essential oil) เป็นน้ำมันที่ได้จากพืชโดยการกลั่นด้วยไอน้ำ (steam distillation) หรือการบีบ (expression) มีกลิ่นรสเฉพาะตัว ระเหยได้ง่ายในอุณหภูมิธรรมดา เบากว่าน้ำ นักวิทยาศาสตร์บางท่านกล่าวว่าเป็น waste product ไม่มีประโยชน์ในกระบวนการทางชีวเคมี บางท่านกล่าวว่า สารนี้เกิดขึ้นเพื่อดึงดูดแมลง แต่เป็นไปได้ว่าน้ำมันระเหยเกิดจากการผลิตผลที่ผิดปกติของกระบวนการชีวเคมีของมันและอาจเป็นสารที่เกิดจากการทำลายพืชประโยชน์ทางด้านยาส่วนใหญ่ใช้ในทางขับลม (carminative)ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (antibiotic) ทาถู นวดและเป็นตัวแต่งกลิ่น

5. ไขมัน (lipid) คือสารที่ไม่ละลายน้ำ แต่ละลายในตัวทำละลายอินทรีย์ (organic solvent) ประโยชน์ในทางยาจะใช้เตรียมขี้ผึ้ง หรือใช้เป็นยาระบาย เช่น น้ำมันละหุ่ง รักษาโรคผิวหนัง เช่น น้ำมันกระเบา

6. เรซิน (resin) คือสารอินทรีย์หรือสารผสมประเภทโพลิเมอร์ มีรูปร่างไม่แน่นอนมีสูตรโครงสร้างทางเคมีที่สลับซับซ้อน ไม่ละลายน้ำ ละลายในตัวทำละลายอินทรีย์ เรซินอาจเกิดจาก normal physiological product คือ พืชได้สร้างอยู่เป็นปกติ หรือเกิดการสร้างเมื่อเป็นโรคหรือเมื่อ

ต้น ไม่มีแผลเกิดขึ้นในธรรมชาติพบเรซินรวมกับน้ำมันหอมระเหยหรือ gum เช่น ยางสน มหาหิงค์ กายาน

7. วิตามิน (vitamin) หมายถึงสารประกอบอินทรีย์ที่มีเล็กน้อยในอาหาร ตามธรรมชาติ สามารถเข้าสู่ร่างกายจากอาหารหรือจากแหล่งอื่น เพื่อให้มีหน้าที่เฉพาะทางกายภาพหรือเพื่อการเติบโตเข้าสู่สภาพปกติ วิตามินแบ่งออกเป็น 2 ชนิด คือ วิตามินชนิดที่ละลายได้ในไขมัน เช่น วิตามิน A D E และ K และวิตามินที่ละลายน้ำได้แก่ วิตามิน B และ C

8. สารปฏิชีวนะ (antibiotic) เป็นผลิตภัณฑ์ทางเคมีที่ได้จากสิ่งมีชีวิต ส่วนใหญ่ได้จากแบคทีเรียและรา สำหรับพืชชั้นสูงก็มีสารที่มีฤทธิ์เป็นยาปฏิชีวนะแต่มีจำนวนน้อย

9. สเตอรอยด์ (steroid) คือสารอินทรีย์ที่มีโครงสร้างเป็น tetracyclic terpenoid ซึ่งสร้างขึ้นมาจากพืชและสัตว์

จากสารเคมีทั้ง 9 กลุ่ม กลุ่มสารที่มีผลยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ ได้แก่ แอลคาลอยด์ ไกลโคไซด์ในกลุ่มแทนนิน และน้ำมันหอมระเหย

คุณภาพและประสิทธิภาพของสารสกัด

วีณา (2542) รายงานว่า คุณภาพและประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืชขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆ ดังนี้

1. ระยะเวลาเก็บเกี่ยวปริมาณสารในพืชขึ้นกับระยะการเจริญเติบโตของพืช การทำให้แห้งดินฟ้าอากาศ แหล่งเพาะปลูก และระยะเวลา ส่วนของพืชที่ใช้เป็นยา ได้แก่ ราก หัว เหง้า ลำต้นได้ดิน เปลือก เนื้อไม้ ใบ ส่วนเหนือดิน ดอก เมล็ดและผล จะมีระยะเวลาเก็บเกี่ยวที่แตกต่างกัน เช่น ลำต้นได้ดินควรเก็บปลายฤดูแล้ง ใบและส่วนเหนือดินควรเก็บก่อนหรือขณะมีดอก ดอกควรเก็บหลังจากดอกเริ่มบานเล็กน้อย เมล็ดและผลควรเก็บก่อนผลเริ่มสุกเต็มที่เล็กน้อย ยกเว้นพริกไทยดำให้เก็บขณะผลดิบ

2. การเก็บรักษาสมุนไพร ควรทำสมุนไพรให้แห้ง บรรจุในภาชนะปิด ป้องกันแมลงและควรเก็บในสภาพแห้ง อายุของสมุนไพรจะลดลงตามขนาดของสมุนไพรที่ลดลงและปริมาณความชื้นในสมุนไพรที่มากขึ้นจะเกิดการเปลี่ยนแปลงทางเคมีเพราะพื้นที่ผิวสัมผัสกับภายนอกมาก และความชื้นจะทำให้เกิดการสลายตัวของสาร เกิดเชื้อราและแบคทีเรีย สมุนไพรที่มีน้ำมันหอมระเหยควรระมัดระวังเรื่องภาชนะบรรจุ ไม่ควรใช้พลาสติกเพราะจะเร่งการสูญเสียน้ำมันหอมระเหย

3. ความคงทนของสมุนไพร หากเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง สมุนไพรจะมีความคงทนแตกต่างกันตามองค์ประกอบทางเคมี ดังนี้ สมุนไพรที่มีแอลคาลอยด์มีความคงทน 3 ปี สมุนไพรที่มีแอนทราควิโนน (ยกเว้นยาคำ) มีความคงทน 3-5 ปี สมุนไพรที่มีน้ำมันหอมระเหยมีความคงทน 1.5-2 ปี สมุนไพรที่มีสารขมมีความคงทน 1.5-3 ปี สมุนไพรที่มีฟลาโวนอยด์มีความคงทน 5 ปี เป็นต้น ขณะเก็บรักษาองค์ประกอบเคมีของสมุนไพรจะเปลี่ยนแปลงไปไม่มากนักน้อย เช่น สูญเสียแทนนิน ไกลโคไซด์ น้ำมันหอมระเหย การเปลี่ยนแปลงทางเคมีของแอลคาลอยด์ในใบและรากเบลลาดอนนา ทำให้คุณสมบัติทางเภสัชวิทยาลดลง

4. การเปลี่ยนแปลงของสารในสมุนไพรขณะทำให้แห้งและการเก็บรักษา การทำให้แห้งเป็นการฆ่าเชื้อ การกำจัดน้ำออกทำให้เซลล์ถูกทำลายมีผลต่อคุณสมบัติทางเคมี-ฟิสิกส์ ของเซลล์ และปฏิกิริยาเคมีขององค์ประกอบของเซลล์ การทำให้แห้งไม่ค่อยมีผลต่อปริมาณสารแต่จะทำให้สารสำคัญเปลี่ยนแปลงได้ ดังตัวอย่างต่อไปนี้

4.1 สารที่เกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน ส่วนของพืชที่แห้งและตาย สารที่เปลี่ยนไปคือโพลีฟีนอล ส่วนมากเกิดจากอากาศและมีเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดสในพืชกลายเป็นสารสีแดง (tannin red) ปฏิกิริยานี้ทำให้สมุนไพรมีสีคล้ำเมื่ออบแห้ง เช่น กานพลู เปลือกอบเชย และเมล็ดโคลา ปฏิกิริยาออกซิเดชันที่สำคัญ ได้แก่ การสร้างไดแอนโทโรไกลโคไซด์ จากโมโนแอนโทโรไกลโคไซด์ ขณะอบแห้งซึ่งแสดงฤทธิ์เป็นยาระบาย

4.2 ไกลโคไซด์สลายตัว ไกลโคไซด์เป็นสารอยู่ในช่องว่างระหว่างเซลล์ ขณะที่เมื่อน้ำเมื่อเซลล์ตายเอนไซม์ไกลโคซิเดสจะย่อยไกลโคไซด์ เช่น ต้น *Galium odoratum* ที่เหี่ยวจะมีกลิ่นหอม เนื่องจากไกลโคไซด์ที่ไม่มีกลิ่นถูกย่อยเป็นกลูโคสและกรดควมาริก ซึ่งให้กลิ่นหอมของควมาริน สมุนไพรที่มีคาร์ดิแอกไกลโคไซด์มีเอนไซม์ย่อยน้ำตาล แต่ถ้าไม่มีน้ำเอนไซม์จะไม่ทำงาน

สมุนไพรที่มีไกลโคไซด์ความชื้น เช่น หอมทะเล (sea onion) ต้องเก็บไว้ในภาชนะปิดอย่างแน่นหนา เพื่อไม่ให้ถูกอากาศและความชื้นจะทำให้สารสลายตัว

4.3 การเปลี่ยนแปลงของสารที่เกิดจากการหมัก เป็นขบวนการที่เกิดจากการเกี่ยวข้องกับเอนไซม์และออกซิเจนในอากาศ ทำให้เกิดการย่อยสลายของกรดอะมิโนและกรดไขมันให้สารที่มีกลิ่นหอม โดยสารสำคัญไม่ถูกทำลาย ได้แก่ การหมักใบชา เมล็ดโกโก้ และใบยาสูบ อย่างไรก็ตาม ฝาดการหมักราเจนเซีย (Gentiana lutea) สารขมจะแตกตัวออกเป็นสิ่งเจือปน เปลือกคาสคารา (Cascara sagrada) และ Glossy buckthorn (*Rhamnus frangula*) หลังจากทำให้แห้งแล้วต้องเก็บไว้ 1 ปีเพื่อเป็นการหมัก กรณีนี้จะได้สารหอมแต่ทำให้แอนโทโรไกลโคไซด์ที่ทำให้เกิดอาการคลื่นไส้ อาเจียนและปวด ถูกออกซิไดซ์กลายเป็นแอนทราควิโนนไกลโคไซด์ซึ่งเป็นยาระบาย

ลักษณะโดยทั่วไปของขวงเจียหรือมะแขว่น (บุญส่ง, 2526)

1) ข้อมูลทั่วไปทางพฤกษศาสตร์

(1) ชื่อไทย (Thai Name) : มะแขว่น

(2) ชื่ออื่น (Native Name) : กำจัดตัน (Kamchatton)

พริกหอม (Phrik hom)

หมากเทศ (Maak maat)

ชื่อเรียกทางกรุงเทพฯ

มะม่วงหรือมะแหว่น (Ma Khuang) ชื่อเรียกทางภาคเหนือ

ลูกระมาศ (Luuk ra maat) ชื่อเรียกทางภาคกลาง

หมักข่วง (Mak Khuang) ชื่อเรียกทาง จ. แม่ฮ่องสอน

2) ชื่อทางพฤกษศาสตร์

(1) Family Rutaceae

(2) Genus Zanthoxylum

- | | |
|---------------|--|
| (3) Species | <i>Z. budrunga</i> Wall.ex Hook. f.
<i>Z. limonella</i> Alston.
<i>Z. rhetsa</i> DC. |
| (4) ลักษณะ | เป็นไม้เถาขึ้นต้น ใบดกหนาสีเขียวสด มีผลเป็นช่อเวลาแตกจะอ้าออกเห็นเมล็ดสีดำเล็กๆ ดอกหนึ่งมีราว 4 เมล็ด เมล็ดมีกลิ่นหอม |
| (5) แหล่งปลูก | ขึ้นตามป่าเบญจพรรณทางภาคใต้และภาคเหนือของประเทศไทย เช่นที่อำเภอฝาง จังหวัดเชียงใหม่ |
| (6) ประโยชน์ | ใช้ทำเครื่องเทศ เป็นยาขับลมในลำไส้ ช่วยให้ขับปัสสาวะสะดวก (แพทย์แผนโบราณ) ใช้เป็นยาสกัดรวมกับเมล็ดลาตอนนา และไฮออสซีนามิส ใช้แก้โรคพิษสุรา |

การสกัดสารเคมีจากต้นมะแขว่นนี้ ได้มีผู้ทำการศึกษาเป็นจำนวนมาก สารเคมีหลายประเภทได้ถูกสกัดจากจากต้นมะแขว่น ซึ่งได้แสดงไว้ตามตารางที่ 1

3) สารทุติยภูมิจากพืช

Morel *et al.*, (2002) แยกสารกลุ่ม alkaloids จาก *Zanthoxylum rhoifolium* (Rutaceae) พบสาร dihydrobenzophenanthridines alkaloids และสาร 6-acetonyl dihydroavicine พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Escherichia coli* และ *Salmomella setubal* ได้

พืชในตระกูล *Zanthoxylum* พบสารทุติยภูมิหลากหลายชนิดและชนิดที่มีฤทธิ์ทางชีววิทยา ได้แก่ สารกลุ่ม alkaloids, lignans และ coumarins (Maroquez *et al.*, 2005)

Adeson (2005) ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของพืช *Zanthoxylum* ในประเทศไนจีเรีย พบว่าประกอบด้วยสารกลุ่ม alkaloids, aliphatic และ aromatic amides, lignans, coumarins, sterols, carbohydrate residues และอื่นๆ เมื่อศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาพบว่า สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้และนอกจากนี้ยังสามารถบรรเทาอาการอักเสบได้

Chhetri *et al.*, (2008) ศึกษาพฤกษเคมีเบื้องต้นและฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของพืชสมุนไพรในประเทศเนปาล พืช *Zanthoxylum aromaticum* พบสารกลุ่ม alkaloids, terpenoids , steroids และ tannin เมื่อนำมาทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียพบว่าสามารถยับยั้งเชื้อ *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* และ *Klebsiella* sp. ได้

ตารางที่ 1 สารประกอบที่สกัดได้จากมะแขว่น

ชื่อสาร	จากส่วนของต้นไม้
<u>Monoterpenes</u>	
2-sabinene	ผล, เมล็ด
α -terpinene	ผล
β -phellandrene	ผล
4-terpinenol	ผล
α -terpene	ผล
d- α -phellandrene	ผล
α -pinene	ผล
β -pinene	ผล
mullilamdiol	ผล
d- α -dihydrocarveol	ผล
p-menthane trihydroxy-p-menthane	ผล
<u>Triterpenes</u>	
xanthoxylone	เปลือก
Lupeol	เปลือก
<u>Vitamin E</u>	
<u>Alkaloid</u>	
evodiamine	เปลือก (bark)
hydroxyevodiamine	เปลือก
chelerythrine	เปลือก
budrungaine	เปลือก
Rhetsine	เปลือก
rhetsinin	เปลือก
arbirine	ผล
dictamine	ผล

ที่มา (บุญส่ง, 2526)

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การเตรียมเชื้อ *Ralstonia solanacearum* สาเหตุโรคเหี่ยวของมะเขือเทศเพื่อใช้ในการทดลอง

1.1 เตรียมเชื้อ *R. solanacearum* ที่มีเครื่องหมาย (marker)

นำเชื้อแบคทีเรีย *R. solanacearum* สายพันธุ์ To-Ud3 สาเหตุโรคเหี่ยวของมะเขือเทศที่แยกจาก จ.อุดรธานี ซึ่งเป็นสายพันธุ์เก่าที่เก็บไว้ในห้องปฏิบัติการแบคทีเรีย ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน มาติดเครื่องหมายเพื่อใช้ในการติดตามเชื้อในดินโดยใช้สารปฏิชีวนะ ampicillin ที่ความเข้มข้น 100 ppm เลี้ยงเชื้อ *R. solanacearum* ในอาหารเหลว TTC (ที่ไม่ใส่สาร tetrazolium chloride) นาน 24-48 ชั่วโมง นำมาเตรียมเป็นเซลล์แขวนลอย และกระจายบนอาหารแข็ง tetrazolium chloride medium (TZC) (Kelman, 1954) ที่ผสมสารปฏิชีวนะ ampicillin 50 ppm ป่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลานาน 24-48 ชั่วโมง เก็บโคโลนีเดี่ยวที่เจริญมา cross streak บนอาหาร TZC ที่ผสมสารปฏิชีวนะ ampicillin 50 ppm อีกครั้ง และเก็บโคโลนีเดี่ยวที่เจริญมาเลี้ยงในอาหารเหลว TTC นาน 24-48 ชั่วโมง นำมาเตรียมเป็นเซลล์แขวนลอย และกระจายบนอาหาร TZC ที่ผสมสารปฏิชีวนะ ampicillin 100 ppm ป่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมงและเก็บโคโลนีเดี่ยวที่เจริญ มา cross streak บนอาหาร TZC ที่ผสมสารปฏิชีวนะ ampicillin 100 ppm อีกครั้ง จะได้เชื้อ *R. solanacearum* สายพันธุ์ To-Ud3^{amp} (ติดเครื่องหมาย ampicillin) เพื่อใช้ทดสอบต่อไป

1.2 เตรียมเชื้อ *R. solanacearum* สาเหตุโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ

นำเชื้อ *R. solanacearum* สายพันธุ์ To-Ud3^{amp} มาเลี้ยงในหลอดทดลองที่มีอาหารเหลว TTC ปริมาตร 5 มิลลิลิตรบนเครื่องเขย่า ที่ความเร็ว 150 รอบ/นาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นจึงนำไปเชื้อไปเลี้ยงต่อในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร ที่บรรจุอาหารเหลว TTC 250 มิลลิลิตรบนเครื่องเขย่า ที่ความเร็ว 150 รอบ/นาที เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง จากนั้นนำไปปั่นตกตะกอนโดยเครื่อง centrifuge ที่ความเร็ว 8,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 20 นาที เจือจางตะกอนที่ได้ด้วยน้ำนิ่งมาเชื้อ ปรับความขุ่นของสารละลายเชื้อโดย Spectrophotometer ที่ค่า optical density (O.D.) เท่ากับ 0.2 ที่ช่วงคลื่นแสง 600 นาโนเมตรจะได้ความเข้มข้นของเชื้อประมาณ 8 Log CFU/ml

ปลูกเชื้อบนมะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์ 3 อายุ 25-30 วัน ด้วยวิธีใช้เข็มฉีดยาบรรจุสารละลายเชื้อที่มีปริมาณประชากรเชื้อที่เจือจางด้วยน้ำกลั่นหนึ่งหมื่นเชื้อได้ความเข้มข้น 5 Log CFU/ml แล้วฉีดเข้าลำต้นบริเวณใต้ใบที่สาม นับจากยอด (Kelman and Person, 1961) (ภาพที่ 1) นำมะเขือเทศที่แสดงอาการเหี่ยวกลับมาแยกเชื้อบนอาหารTZCเปรียบเทียบกับลักษณะเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ปลูกเชื้อครั้งแรก (ปิยรัตน์, 2541) จากนั้นเก็บโคโลนีเดียวที่เจริญมา cross streak บนอาหาร TZC ที่ผสมสารปฏิชีวนะ ampicilin 100 ppm เพื่อใช้ทดสอบต่อไป

2. การคัดเลือกและการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืชในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียโรคพืชในห้องปฏิบัติการ

2.1 การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืชในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Ralstonia solanacearum* ในห้องปฏิบัติการ

คัดเลือกพืชที่มีรายงานว่าสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ทั้งในสัตว์และในมนุษย์ ซึ่งพืชที่คัดเลือกทั้งหมด 9 ชนิดได้แก่ เมล็ดขวงเจีย (*Zanthoxylum* sp.), ใบพลู (*Piper betle*), ใบชะพลู (*Piper sarmentosum*), ใบยูคาลิปตัส (*Eucalyptus camaldulensis*), ใบสะเดา (*Azadirachta indica*), ใบการเวก (*Artabotrys hexapetalus*), เปลือกมังคุด (*Garcinia mangostana*), ใบกระดังงา (*Peperomia pellucida*) และใบฝรั่ง (*Psidium guajava*) (ภาพที่ 2) นำส่วนของพืชที่ต้องการทดสอบมาบดและชั่งน้ำหนัก โดยใช้เอทิลแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ เป็นตัวทำละลาย ในอัตราส่วน 1:10 (w/v) แช่ไว้ในที่มืดหรือที่บดแสง 3 วัน จากนั้นกรองด้วยสำลีและกระดาษกรอง (Whatman เบอร์ 1) นำสารสกัดพืชที่ได้มาทดสอบประสิทธิภาพโดยวิธี paper disc diffusion (ชลิดาและคณะ, 2541) ทดสอบการยับยั้ง *R. solanacearum* และเปรียบเทียบกับเชื้อ *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* และ เชื้อ *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* เลี้ยงเชื้อไว้ในอาหาร nutrient broth (NB) (Schaad *et al.*, 2001) อายุ 24 ชั่วโมง นำมาปรับปริมาณเชื้อโดยใช้เครื่อง Spectrophotometer ที่ค่า optical density (O.D.) เท่ากับ 0.2 ที่ช่วงคลื่นแสง 600 นาโนเมตรจะได้ความเข้มข้นของเชื้อประมาณ 8 Log CFU/ml แล้วผสมกับอาหาร NA ปริมาณ 1 ต่อ 9 เมื่อหน้าอาหารแห้งจึงนำแผ่นกระดาษกรองกลม (Whatman เบอร์ 1) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 มิลลิเมตร ที่หยดสารสกัดแต่ละชนิดปริมาณ 10 ไมโครลิตร วางบนผิวหน้าอาหารและใช้เอทิลแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์เป็นตัวเปรียบเทียบ จากนั้นบ่มไว้ในตู้หมักหมมห้อง 48 ชั่วโมง บันทึกผลการยับยั้งการ

เจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย โดยการวัดเส้นผ่าศูนย์กลางความกว้างของบริเวณใส (clear zone) ที่เกิดขึ้นรอบแผ่นกระดาษกรองกลมทำการทดลอง 20 ซ้ำ



ภาพที่ 1 การปลูกเชื้อแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* สาเหตุโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ ในมะเขือเทศอายุ 25 วันหลังย้ายปลูกแบบวิธีใช้เข็มฉีดยาฉีดเข้าลำต้นที่เหนือก้านใบที่ 4 จากโคนต้น



ภาพที่ 2 พืช 9 ชนิดที่นำมาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Ralstonia solanacearum* สายพันธุ์ To-Ud3^{amp}(RS) ในห้องปฏิบัติการ (ก) พลู่ (*Piper betle*) (ใบ) (ข) ยูคาลิปตัส (*Eucalyptus camaldulensis*) (ใบ) (ค) การเวก (*Artabotrys hexapetalus*) (ใบ) (ง) ชะพลู (*Piper sarmentosum*) (ใบ) (จ) มังคุด (*Garcinia mangostana*) (เปลือก) (ฉ) กระสัง (*Peperomia pellucida*) (ใบ) (ช) ขวงเจีย (*Zanthoxylum* sp.) (เมล็ด) (ซ) ฝรั่ง (*Psidium guajava*) (ใบ) และ (ฅ) สะเดา (*Azadirachta indica*) (ใบ)

2.2 การทดสอบประสิทธิภาพสารสกัดจากพืชหลังเก็บรักษาระยะไว้เป็นระยะเวลา 4 เดือนในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Ralstonia solanacearum* สาเหตุโรคเหี่ยวของมะเขือเทศในห้องปฏิบัติการ

นำส่วนของพืชที่คัดเลือกจากข้อ 2.1 มาบดและชั่งน้ำหนักโดยใช้เอทิลแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์เป็นตัวทำละลาย ในอัตราส่วน 1:10 (w/v) แช่ไว้ในที่มืด หรือที่บดแสง 3 วัน จากนั้นกรองด้วยสำลีและกระดาษกรอง (Whatman เบอร์ 1) แล้วนำมาทดสอบประสิทธิภาพหลังจากเก็บรักษาทุก 1 เดือนเป็นเวลา 4 เดือนโดยวิธี paper disc diffusion (ชลิตาและคณะ, 2541) เตรียมเชื้อ *R. solanacearum* สายพันธุ์ To-Ud3^{amp} ที่เลี้ยงไว้ในอาหารเหลว nutrient broth (NB) (Schaad *et al.*, 2001) อายุ 24 ชั่วโมง ประมาณ 8 Log CFU/ml แล้วผสมกับอาหาร NA ปริมาณ 1 ต่อ 9 เมื่อหน้าอาหารแห้งจึงนำแผ่นกระดาษกรองกลม (Whatman เบอร์ 1) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 มิลลิเมตร ที่หยดสารสกัดหยาบ (crude extract) แต่ละชนิดปริมาณ 10 ไมโครลิตร วางบนผิวหน้าอาหารและใช้เอทิลแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์เป็นตัวเปรียบเทียบ จากนั้นบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 48 ชั่วโมง บันทึกผลการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *R. solanacearum* สายพันธุ์ To-Ud3^{amp} โดยการวัดเส้นผ่าศูนย์กลางความกว้างของบริเวณใส (clear zone) ที่เกิดขึ้นรอบแผ่นกระดาษกรองกลม ทำการทดลอง 20 ซ้ำ

2.3 การทดสอบประสิทธิภาพความเข้มข้นของสารสกัดจากพืชในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Ralstonia solanacearum* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ TTC เหลว

2.3.1 การเตรียมเซลล์แขวนลอยของเชื้อ *R. solanacearum* สาเหตุโรคเหี่ยวของมะเขือเทศตามข้อ 1.2 ที่กล่าวมาข้างต้น

2.3.2 การเตรียมสารสกัดพืช

นำส่วนของพืชที่ต้องการทดสอบ 5 ชนิด ได้แก่ ขวงเจีย (*Zanthoxylum* sp.) (เมล็ด) พลุ (*Piper betle*) (ใบ) ยูคาลิปตัส (*Eucalyptus camaldulensis*) (ใบ) ฝรั่ง (*Psidium guajava*) (ใบ) และการเวก (*Artabotrys hexapetalus*) (ใบ) มาบดและชั่งน้ำหนักโดยใช้เอทิลแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์เป็นตัวทำละลาย ในอัตราส่วน 1:10 (w/v) แช่ไว้ในที่มืด หรือที่บดแสง 3 วัน จากนั้นกรองด้วยสำลีและกระดาษกรอง (Whatman เบอร์ 1) จากนั้นนำสารสกัดที่ได้บรรจุในขวดและเก็บไว้ในที่ที่บดแสง ณ อุณหภูมิห้อง

2.3.3 การทดลอง

เตรียมสารสกัดจากพืชแต่ละชนิดลงในอาหารเหลวที่มีปริมาตร 49 มิลลิลิตร ให้มีความเข้มข้นสุดท้าย 2, 4, 6, 8 และ 10 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นนำมาผสมกับเซลล์แขวนลอยของเชื้อ *R. solanacearum* สายพันธุ์ To-Ud3^{amp} (RS) เพื่อทดสอบอัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างสารสกัดพืชต่อเชื้อ RS จากนั้นเขย่าไว้ที่เวลา 24 และ 48 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้อง บันทึกปริมาณประชากรของเชื้อและวัดค่าความเป็นกรดเป็นด่าง(pH) ของสารละลาย โดยการนำอาหารเหลวที่ใส่สารสกัดแต่ละชนิดอย่างละ 1 มิลลิลิตร เจือจางละลายในน้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อ 9 มิลลิลิตร แล้วนำมาแยกเชื้อโดยวิธี dilution plate method บนอาหาร tetrazolium chloride medium (TZC) (Kelman, 1954) แล้วนับปริมาณประชากร

2.4 การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืชในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Ralstonia solanacearum* ในดินในห้องปฏิบัติการ

2.4.1 การเตรียมเซลล์แขวนลอยของเชื้อ *R. solanacearum* สาเหตุโรคเหี่ยวของมะเขือเทศตามข้อ 1.2 ที่กล่าวมาข้างต้น

2.4.2 การเตรียมสารสกัดจากพืช

นำส่วนของพืชที่ต้องการทดสอบ 5 ชนิด มาเตรียมสารสกัดตามข้อ 2.3.2 ดังที่กล่าวข้างต้น

2.4.3 การทดลอง

นำเซลล์แขวนลอยของเชื้อ *R. solanacearum* สายพันธุ์ To-Ud3^{amp} ปริมาณ 8 Log CFU/ml ผสมกับดินที่อบฆ่าเชื้อแล้ว ใช้อัตราส่วนเซลล์แขวนลอยของเชื้อ 100 มิลลิลิตรต่อดิน 1 กิโลกรัม ผสมให้เข้ากัน นำดินที่ผสมเชื้อใส่ในขวด ขวดละ 50 กรัม ได้ความเข้มข้นของเชื้อเริ่มต้น 3.45 Log CFU/ml จากนั้นนำสารสกัดจากพืชแต่ละชนิดลงในขวดที่บรรจุดินผสมเซลล์แขวนลอยของเชื้อ ปริมาณขวดละ 1 มิลลิลิตร วางแผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ (Completely Randomized Design, CRD) บันทึกผลโดยเก็บดินที่ 2, 4, 6 และ 8 สัปดาห์ ศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณของเชื้อ โดยวิธี soil suspension โดยใช้น้ำตัวอย่างดินตัวอย่างละ 1 กรัม ละลายในน้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อ 9 มิลลิลิตร เขย่า 30 นาที แล้วนำมาแยกเชื้อ โดยวิธี dilution plate method จากนั้นนำสารละลายดินความเข้มข้น ที่ต้องการอย่างละ 0.1 มิลลิลิตร มากระจายบนอาหาร TZC ที่ผสม ampicilin 100 ppm บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24- 48 ชั่วโมง แล้วนับปริมาณประชากรของเชื้อในแต่ละกรรมวิธีทดสอบ

2.5 ทดสอบธาตุซิลิกอนในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Ralstonia solanacearum* สายพันธุ์ To-Ud3^{amp} ในห้องปฏิบัติการ

นำซิลิกอน 2 รูปแบบได้แก่ ซาลิซิก แอซิด [salisic acid, Si(OH₄)] และโซเดียมซิลิเกต (sodium silicate, NaSiO₂) ที่ความเข้มข้น 9 mM มาทดสอบโดยวิธี paper disc diffusion (ชลิตา และคณะ, 2541) เตรียมเชื้อ *R. solanacearum* ที่เลี้ยงไว้ในอาหารเหลว nutrient broth (NB) (Schaad *et al.*, 2001) อายุ 24 ชั่วโมง ปรับปริมาณเชื้อโดยใช้เครื่อง Spectrophotometer ที่ค่า O.D. เท่ากับ 0.2 ที่ช่วงคลื่นแสง 600 นาโนเมตรจะได้ความเข้มข้นของเชื้อประมาณ 8 Log CFU/ml แล้วผสมกับอาหาร NA ปริมาณ 1 ต่อ 9 หลังนำอาหารแห้งจึงนำแผ่นกระดาษกรองกลม (Whatman เบอร์ 1) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 มิลลิเมตร ที่หยดซิลิกอนแต่ละชนิดปริมาณ 10 ไมโครลิตร วางบนผิวหน้าอาหารและใช้เอทิลแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์เป็นตัวเปรียบเทียบ (control) จากนั้นบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง 48 ชั่วโมง บันทึกผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อโรคโดยการวัดความกว้างของบริเวณใส (clear zone) ที่เกิดขึ้นรอบแผ่นกระดาษกรองกลม ทำการทดลองทั้งหมด 20 ซ้ำ

3. การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดพืชร่วมกับซิลิกอน ในการควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศสาเหตุจากเชื้อ *Ralstonia solanacearum* ในเรือนทดลอง

3.1 การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดพืชในการควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศสาเหตุจากเชื้อ *R. solanacearum* สายพันธุ์ To-Ud3^{amp} ในเรือนทดลอง

3.1.1 เตรียมเชื้อ *R. solanacearum* สาเหตุโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ

เตรียมเซลล์แขวนลอยของเชื้อ *R. solanacearum* สาเหตุโรคเหี่ยวของมะเขือเทศตามข้อ 1.2 ที่กล่าวมาข้างต้น

3.1.2 การเตรียมสารสกัดพืช

นำส่วนของพืชที่ต้องการทดสอบ 5 ชนิด มาเตรียมสารสกัดตามข้อ 2.3.2 ดังที่กล่าวข้างต้น

3.1.3 การวางแผนการทดลองและการปลูกเชื้อ *R. solanacearum* ในมะเขือเทศ

นำเชื้อ *R. solanacearum* สายพันธุ์ To-Ud3^{amp} ปริมาณประชากร 6.96 Log CFU/ml ปลูกเชื้อโดยวิธีราดโคนต้นมะเขือเทศ 300 มิลลิตรต่อกระถาง เมื่อมะเขือเทศอายุ 25-30

วัน จากนั้นนำสารสกัดจากพืชแต่ละชนิดผสมน้ำในอัตราส่วน 1:10 (v/v) รวดโคนต้นปริมาณ 100 มิลลิลิตรต่อกระถาง ก่อนปลูกเชื้อ 1 วันและหลังปลูกเชื้อสัปดาห์ละ 1 ครั้ง รวม ทั้งหมด 6 สัปดาห์ วางแผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อกสมบูรณ์ (Randomized Complete Block Design, RCBD) การทดลองนี้แบ่งเป็น 7 กรรมวิธี ๆ 3 ซ้ำๆ ละ 3 ต้น ดังนี้ คือ

T1 = ใช้น้ำเพียงอย่างเดียว (negative control)

T2 = ปลูกเชื้อ *R. solanacearum* สายพันธุ์ To-Ud3^{amp} เพียงอย่างเดียว (positive control)

T3 = รวดสารสกัดจากขวงเจีย ครั้งละ 100 มิลลิลิตรต่อกระถาง 1 วันก่อนปลูกเชื้อ

R. solanacearum สายพันธุ์ To-Ud3^{amp} และหลังจากปลูกเชื้อสัปดาห์ละ 1 ครั้ง รวม 6 สัปดาห์

T4 = รวดสารสกัดจากยูคาลิปตัสครั้งละ 100 มิลลิลิตรต่อกระถางที่ 1 วันก่อนปลูกเชื้อ

R. solanacearum สายพันธุ์ To-Ud3^{amp} และหลังจากปลูกเชื้อสัปดาห์ละ 1 ครั้ง รวม 6 สัปดาห์

T5 = รวดสารสกัดจากฝรั่งครั้งละ 100 มิลลิลิตรต่อกระถางที่ 1 วันก่อนปลูกเชื้อ

R. solanacearum สายพันธุ์ To-Ud3^{amp} และหลังจากปลูกเชื้อสัปดาห์ละ 1 ครั้ง รวม 6 สัปดาห์

T6 = รวดสารสกัดจากพลูครั้งละ 100 มิลลิลิตรต่อกระถางที่ 1 วันก่อนปลูกเชื้อ

R. solanacearum สายพันธุ์ To-Ud3^{amp} และหลังจากปลูกเชื้อสัปดาห์ละ 1 ครั้ง รวม 6 สัปดาห์

T7 = รวดสารสกัดจากการเวกครั้งละ 100 มิลลิลิตรต่อกระถางที่ 1 วันก่อนปลูกเชื้อ

R. solanacearum สายพันธุ์ To-Ud3^{amp} และหลังจากปลูกเชื้อสัปดาห์ละ 1 ครั้ง รวม 6 สัปดาห์

บันทึกการทดลองโดยนับจำนวนต้นที่แสดงอาการเหี่ยวทุกสัปดาห์และตรวจสอบการเข้าทำลายและความรุนแรงของเชื้อ *R. solanacearum* สายพันธุ์ To-Ud3^{amp} ภายในต้นมะเขือเทศเป็นเวลา 6 สัปดาห์ เพื่อกำหนดหาเปอร์เซ็นต์การรอดตายและความรุนแรงของโรค ศึกษาจำนวนประชากรเชื้อโดยเก็บตัวอย่างดินทุกสัปดาห์จากบริเวณรากต้นมะเขือเทศที่เป็นโรคมมาทำการแยกเชื้อ โดยนำตัวอย่างดินปริมาณ 1 กรัมมาละลายในน้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อแล้วปริมาณ 9 มิลลิลิตร เขย่าประมาณ 30 นาที แล้วนำมาแยกเชื้อโดยวิธี dilution plate method ตรวจนับปริมาณประชากรของเชื้อบนอาหาร mSM-1 (ปิรรัตน์, 2541) ที่ 48 ชั่วโมง

3.2 ทดสอบประสิทธิภาพของซิลิกอนในการป้องกันการเข้าทำลายของเชื้อ *R. solanacearum* สาเหตุโรคเหี่ยวของมะเขือเทศในเรือนทดลอง

3.2.1 เตรียมเชื้อ *R. solanacearum* สาเหตุโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ

การเตรียมเซลล์แขวนลอยของเชื้อ *R. solanacearum* สาเหตุโรคเหี่ยวของมะเขือเทศตามข้อ 1.2 ที่กล่าวมาข้างต้น

3.2.2 การวางแผนการทดลองและการปลูกเชื้อ *R. solanacearum* ในมะเขือเทศ

นำเชื้อ *R. solanacearum* สายพันธุ์ To-Ud3^{amp} มาปลูกเชื้อโดยวิธีราดลงโคนต้นมะเขือเทศ 300 มิลลิลิตรต่อกระถาง เมื่อมะเขือเทศอายุ 25-30 วัน ซิลิกอนใช้ในการทดสอบ 2 ชนิด ได้แก่ ซาลิซิก แอซิด [Si(OH₄)] และโซเดียมซิลิเกต (NaSiO₂) โดยใช้ที่ความเข้มข้น 9 mM คือ ซาลิซิก แอซิด [Si(OH₄)] ปริมาณ 9 กรัม/น้ำ 1 ลิตรและโซเดียมซิลิเกต (NaSiO₂) ปริมาตร 560 ไมโครลิตร/น้ำ 1 ลิตรใช้ราดโคนต้นมะเขือเทศปริมาณ 100 มิลลิลิตรต่อกระถาง วางแผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อกสมบูรณ์ (Randomized Complete Block Design, RCBD) การทดลองนี้แบ่งออกเป็น 4 กรรมวิธี ๆ ละ 3 ซ้ำๆ ละ 3 ต้น ดังนี้ คือ

T1 = ใช้น้ำเพียงอย่างเดียว (negative control)

T2 = ปลูกเชื้อ *R. solanacearum* สายพันธุ์ To-Ud3^{amp} เพียงอย่างเดียว (positive control)

T3 = ราดซาลิซิก แอซิด ที่ความเข้มข้น 9 mM ปริมาตร 100 มิลลิลิตร / กระถาง 1 วันก่อนปลูกเชื้อ *R. solanacearum* สายพันธุ์ To-Ud3^{amp} และหลังปลูกเชื้อสัปดาห์ละ 1 ครั้ง

T4 = ราดโซเดียมซิลิเกต ที่ความเข้มข้น 9 mM ปริมาตร 100 มิลลิลิตร / กระถาง 1 วันก่อนปลูกเชื้อ *R. solanacearum* สายพันธุ์ To-Ud3^{amp} และหลังปลูกเชื้อสัปดาห์ละ 1 ครั้ง

ทดลองทั้งหมดเป็นเวลา 6 สัปดาห์ บันทึกผลการทดลองโดยนับจำนวนต้นที่แสดงอาการเหี่ยวและตรวจสอบการเข้าทำลายของเชื้อ *R. solanacearum* สายพันธุ์ To-Ud3^{amp} ภายในต้นมะเขือเทศโดยคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การรอดตายและความรุนแรงของโรค เก็บตัวอย่างดินทุกสัปดาห์มาวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงประชากรของเชื้อ โดยนำตัวอย่างดินปริมาณ 1 กรัมมาละลายในน้ำกลั่นหนึ่งขวด ปริมาณ 9 มิลลิลิตร เขย่าประมาณ 30 นาที แล้วนำมาแยกเชื้อโดยวิธี dilution plate method ตรวจสอบปริมาณประชากรของเชื้อบนอาหาร mSM-1 (ปิยรัตน์, 2541) ที่ 48 ชั่วโมง

3.3 การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืชร่วมกับซิลิกอนในการป้องกันและยับยั้งการเจริญของเชื้อ *R. solanacearum* สาเหตุโรคเหี่ยวของมะเขือเทศในสภาพเรือนทดลอง

3.3.1 เตรียมเชื้อ *R. solanacearum* สาเหตุโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ

เตรียมเซลล์แขวนลอยของเชื้อ *R. solanacearum* สาเหตุโรคเหี่ยวของมะเขือเทศตามข้อ 1.2 ที่กล่าวมาข้างต้น

3.3.2 การเตรียมสารสกัดพืช

นำส่วนของพืชใบของยูคาลิปตัส (*Eucalyptus camaldulensis*) มาบดให้ละเอียดและนำผงขวงเจีย (*Zanthoxylum* sp.) ชั่งน้ำหนักจากนั้นใช้เอทิลแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์เป็นตัวทำละลายในอัตราส่วน 1:10 (w/v) แช่ไว้ในที่มืดหรือที่บดแสง 3 วัน จากนั้นกรองด้วยสำลีและกระดาษกรอง (Whatman เบอร์ 1) จากนั้นบรรจุในขวดและเก็บไว้ในที่ที่บดแสง

3.3.3 การเตรียมซิลิกอน

ซาลิซิก แอซิด [$\text{Si}(\text{OH}_4)$] และ โซเดียมซิลิเกต (NaSiO_2) โดยใช้ที่ความเข้มข้น 9 mM คือ ซาลิซิก แอซิด [$\text{Si}(\text{OH}_4)$] ปริมาณ 9 กรัม/น้ำ 1 ลิตรและ โซเดียมซิลิเกต (NaSiO_2) ปริมาตร 560 ไมโครลิตร/น้ำ 1 ลิตรใช้ราดโคนต้นมะเขือเทศปริมาณ 100 มิลลิตรต่อกระถาง

3.3.4 การวางแผนการทดลองและการปลูกเชื้อ *R. solanacearum* ในมะเขือเทศ

ปลูกเชื้อ *R. solanacearum* สายพันธุ์ To-Ud3^{amp} โดยวิธีราดลงดิน 300 มิลลิตรต่อกระถาง เมื่อต้นมะเขือเทศอายุ 25-30 วัน นำสารสกัดจากพืชแต่ละชนิดผสมกับน้ำในอัตราส่วน 1:10 แล้วราดโคนต้น 100 มิลลิตรต่อกระถาง ก่อนปลูกเชื้อ 1 วันและหลังปลูกเชื้อสัปดาห์ละ 1 ครั้ง ซาลิซิก แอซิด [$\text{Si}(\text{OH}_4)$] และ โซเดียมซิลิเกต (NaSiO_2) ราดโคนต้นมะเขือเทศปริมาณ 100 มิลลิตรต่อกระถาง ก่อนปลูกเชื้อ 1 วันและหลังปลูกเชื้อสัปดาห์ละ 1 ครั้ง รวม 6 สัปดาห์ วางแผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อกสมบูรณ์ (Randomized Complete Block Design, RCBD) การทดลองนี้แบ่งเป็น 10 กรรมวิธี ๆ ละ 3 ซ้ำ ๆ ละ 3 ต้น ดังนี้ คือ

T1 = ใช้น้ำเพียงอย่างเดียว (control)

T2 = ปลูกเชื้อ *R. solanacearum* สายพันธุ์ To-Ud3^{amp} เพียงอย่างเดียว (positive control)

T3 = ราดซาลิซิก แอซิด ปริมาตร 100 มิลลิตร / กระถาง 1 วันก่อนปลูกเชื้อ *R. solanacearum* สายพันธุ์ To-Ud3^{amp} และหลังปลูกเชื้อสัปดาห์ละ 1 ครั้ง

T4 = ราดโซเดียมซิลิเกต ปริมาตร 100 มิลลิตร / กระถาง 1 วันก่อนปลูกเชื้อ

R. solanacearum สายพันธุ์ To-Ud3^{amp} และหลังปลูกเชื้อสัปดาห์ละ 1 ครั้ง

T5 = ราดสารสกัดขวงเจีย ลงดินปลูกมะเขือเทศ 100 มล./ กระถาง 1 วันก่อนปลูกเชื้อ *R. solanacearum* สายพันธุ์ To-Ud3^{amp} และหลังปลูกเชื้อสัปดาห์ละ 1 ครั้ง

T6 = ราดซาลิซิก แอซิดและสารสกัดขวงเจียอย่างละ 100 มิลลิลิตร/ กระถาง 1 วันก่อนปลูกเชื้อ *R. solanacearum* สายพันธุ์ To-Ud3^{amp} และหลังปลูกเชื้อสัปดาห์ละ 1 ครั้ง

T7 = ราดโซเดียมซลิเคตและราดสารสกัดขวงเจียอย่างละ 100 มิลลิลิตร / กระถาง 1 วันก่อนปลูกเชื้อ *R. solanacearum* สายพันธุ์ To-Ud3^{amp} และหลังปลูกเชื้อสัปดาห์ละ 1 ครั้ง

T8 = ราดสารสกัดจากยูคาลิปตัส ลงดินปลูกมะเขือเทศ ครั้งละ 100 มล./ กระถาง 1 วันก่อนปลูกเชื้อ *R. solanacearum* สายพันธุ์ To-Ud3^{amp} และหลังปลูกเชื้อสัปดาห์ละ 1 ครั้ง

T9 = ราดซาลิซิก แอซิดและสารสกัดจากยูคาลิปตัสอย่างละ 100 มิลลิลิตร/ กระถาง 1 วันก่อนปลูกเชื้อ *R. solanacearum* สายพันธุ์ To-Ud3^{amp} และหลังปลูกเชื้อสัปดาห์ละ 1 ครั้ง

T10 = ราดโซเดียมซลิเคตและราดสารสกัดจากยูคาลิปตัสอย่างละ 100 มิลลิลิตร / กระถาง 1 วันก่อนปลูกเชื้อ *R. solanacearum* สายพันธุ์ To-Ud3^{amp} และหลังปลูกเชื้อสัปดาห์ละ 1 ครั้ง

ทำการทดลองทั้งหมดเป็นเวลา 6 สัปดาห์ แล้วบันทึกผลการทดลองโดยนับจำนวนต้นที่แสดงอาการเหี่ยวและตรวจสอบการเข้าทำลายของเชื้อ ภายในต้นมะเขือเทศทุกสัปดาห์เพื่อคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การรอดตายและความรุนแรงของโรค ศึกษาจำนวนประชากรเชื้อโดยเก็บตัวอย่างดินทุกสัปดาห์ จากบริเวณรากต้นมะเขือเทศมาแยกเชื้อโดยนำตัวอย่างดินปริมาณ 1 กรัมมาละลายในน้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อแล้วปริมาณ 9 มิลลิลิตร เขย่าประมาณ 30 นาที แล้วนำมาแยกเชื้อโดยวิธี dilution plate method แล้วตรวจนับปริมาณประชากรของเชื้อบนอาหาร mSM-1 (ปิยรัตน์, 2541) ที่ 48 ชั่วโมง

3.4 การทดสอบประสิทธิภาพของขวงเจียวร่วมกับซิลิกอนในป้องกันและการควบคุมการเจริญของเชื้อ *R. solanacearum* สาเหตุโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ ณ โรงเรือนปลูกพืชแบบการค้า ณ สถาบันเทคโนโลยีแห่งเอเชีย จ.ปทุมธานี

3.4.1 เตรียมเชื้อ *R. solanacearum* สาเหตุโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ

เตรียมเซลล์แขวนลอยของเชื้อ *R. solanacearum* สาเหตุโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ ตามข้อ 1.2 ที่กล่าวมาข้างต้น

3.4.2 การเตรียมพืชขวงเจียว

การทดลองนี้ใช้ผลิตภัณฑ์ขวงเจียวจากบริษัท ง่วนสูง จำกัด ตราหมื่นชูนิวหัวแม่มือ ซึ่งบรรจุในถุงพลาสติก ถุงละ 500 กรัม (ภาพที่ 3) แบ่งใส่ซองพลาสติกใส ซองละ 3 กรัม แล้วเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง

3.4.3 การเตรียมซิลิกอน

ซิลิกอนใช้ในการทดสอบ 2 ชนิดได้แก่ ซาลิซิลิก แอซิด [$\text{Si}(\text{OH}_4)$] และ โซเดียมซิลิเกต (NaSiO_2) โดยใช้ที่ความเข้มข้น 9 mM คือ ซาลิซิลิก แอซิด [$\text{Si}(\text{OH}_4)$] ปริมาณ 9 กรัม/น้ำ 1 ลิตร และ โซเดียมซิลิเกต (NaSiO_2) ปริมาตร 560 ไมโครลิตร/น้ำ 1 ลิตร ปริมาณ 100 มิลลิตรต่อกระถาง

3.4.4 การวางแผนการทดลองและการปลูกเชื้อ *R. solanacearum* ในมะเขือเทศ

ทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *R. solanacearum* สายพันธุ์ To-Ud3^{amp} (RS) ในมะเขือเทศ ทดลองภายใต้สภาพโรงเรือนที่สถาบันเทคโนโลยีแห่งเอเชีย (AIT) จ.ปทุมธานี หลังจากย้ายปลูกต้นมะเขือเทศ (อายุ 25-30 วัน) ประมาณ 1 สัปดาห์จึงปลูกเชื้อ *R. solanacearum* (ปริมาณเชื้อเริ่มต้นที่ 8.87 Log CFU/ml) โดยวิธีรดลงดินจำนวน 300 มิลลิตรต่อกระถาง วางแผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อกสมบูรณ์ (Randomized Complete Block Design, RCBD) การทดลองนี้แบ่งเป็น 6 กรรมวิธี ๆ ละ 3 ซ้ำๆ ละ 3 ต้น ดังนี้

T1 = กรรมวิธีควบคุม (ไม่ใส่อะไร)

T2 = ซาลิซิลิก แอซิด อัตราความเข้มข้น 9 mM ปริมาณ 100 มิลลิตรต่อกระถาง

T3 = โซเดียมซิลิเกต อัตราความเข้มข้น 9 mM ปริมาณ 100 มิลลิตรต่อกระถาง

T4 = ขวงเจียว 3 กรัม/กระถาง 1 วันก่อนปลูกเชื้อ *R. solanacearum* สายพันธุ์ To-Ud3^{amp} และหลังปลูกเชื้อสัปดาห์ละ 1 ครั้ง

T5= ขวงเจีย 3 กรัม/ กระถาง ร่วมกับราดซาลิซิค แอซิดปริมาณ 100 มิลลิตรต่อกระถาง 1 วันก่อนปลูกเชื้อ *R. solanacearum* สายพันธุ์ To-Ud3^{amp} และหลังปลูกเชื้อสัปดาห์ละ 1 ครั้ง

T6= ขวงเจีย 3 กรัม/ กระถาง ร่วมกับฟนโซเดียม ซิลิเคตปริมาณ 100 มิลลิตรต่อกระถาง 1 วันก่อนปลูกเชื้อ *R. solanacearum* สายพันธุ์ To-Ud3^{amp} และหลังปลูกเชื้อสัปดาห์ละ 1 ครั้ง

ทดลองทั้งหมดเป็นเวลา 8 สัปดาห์ แล้วบันทึกผลการทดลองโดยนับจำนวนต้นที่แสดงอาการเหี่ยวและตรวจสอบการเข้าทำลายของเชื้อ ภายในต้นมะเขือเทศทุกสัปดาห์เพื่อคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การรอดตายและผลผลิตมะเขือเทศ ศึกษาจำนวนประชากรเชื้อโดยเก็บตัวอย่างดินทุกสัปดาห์ จากบริเวณรากต้นมะเขือเทศมาแยกเชื้อโดยนำตัวอย่างดินปริมาณ 1 กรัมมาละลายในน้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อแล้วปริมาณ 9 มิลลิตร เขย่าประมาณ 30 นาที แล้วนำมาแยกเชื้อโดยวิธี dilution plate method แล้วตรวจนับปริมาณประชากรของเชื้อบนอาหาร mSM-1 (ปิยรัตน์, 2541) ที่ 48 ชั่วโมง

4. การศึกษาสารทุติยภูมิของสารสกัดจากขวงเจีย

4.1 การสกัด (extract)

นำส่วนของพืชที่คัดเลือก ได้แก่ พงขวงเจีย (*Zanthoxylum* sp.) แช่ในเอทิลแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ในอัตราส่วน 1:10 (w/v) แช่ไว้ในที่มืด หรือที่บแสง 3 วัน ที่อุณหภูมิห้องจากนั้นกรองด้วยสำลีและกระดาษกรอง (Whatman เบอร์ 1) จากนั้นบรรจุในขวดสีชาและเก็บไว้ในที่ที่บแสงอุณหภูมิ -4 องศาเซลเซียส

4.2 ตรวจสอบสารสำคัญทางพฤกษเคมีเบื้องต้น (phytochemical screening)

4.2.1 การตรวจสอบเบื้องต้น (preliminary test)

การตรวจสอบเบื้องต้นจะใช้การตรวจสอบด้วยปฏิกิริยาสีหรือการตกตะกอน โดยตรวจสอบกลุ่มสารที่สำคัญ 4 กลุ่ม คือ alkaloid, steriod, triterpenoid และ unsaturated lactone ring (ตารางที่ 2)

4.2.2 แยกสารสกัดหยาบด้วยเทคนิค TLC (Thin layer chromatography)

1) หาอัตราส่วนของตัวทำละลายที่เหมาะสมสำหรับใช้แยกสารใน TLC chamber พี่แต่ละชนิดจะใช้ชนิดของตัวทำละลายและอัตราส่วนต่างกัน นอกจากนี้ยังขึ้นอยู่กับอัตราส่วนของตัวทำละลาย ซึ่งจะต้องนำสารสกัดหยาบแต่ละชนิดมาหยดลงบนแผ่น TLC ขนาด 3×10 เซนติเมตร แล้วนำไปแยกสารใน TLC chamber ขนาดเล็กตัดแปลงจากขวดโหลแก้ว เช่น ขวดกาแฟหรือขวดแยมอัตราส่วนของตัวทำละลายที่ใช้จะใช้สารที่มีขั้วน้อยผสมกับสารที่มีขั้วมาก เช่น คลอโรฟอร์ม:เมทานอล ในอัตราส่วนดังนี้ 9:1, 8:2, 7:3, 6:4 ไปเรื่อยๆ จนกว่าสารจะแยกออกจากกันชัดเจน เมื่อนำไปตรวจดูภายใต้แสงอัลตราไวโอเลตที่ความยาวคลื่น 254 และ 356 นาโนเมตร แล้วจึงนำอัตราส่วนนั้นไปใช้ทำการแยกสารใน TLC chamber ขนาดจริงต่อไป

2) เตรียมแผ่น TLC ใช้แผ่นขนาด 20×20 เซนติเมตร ใช้ดินสอขีดเส้นด้านล่างขึ้นมา 1.50 เซนติเมตร และแบ่งเส้นด้านบนใช้ดินสอลากเส้นโดยวัดจากด้านบนลงมา 1 เซนติเมตร จากนั้นใช้ดินสอจุดที่เส้นด้านล่างแต่ละจุดห่างกัน 0.50 เซนติเมตรจุดแรกและจุดสุดท้ายห่างจากขอบซ้ายขวา 1.00 เซนติเมตร

3) นำ capillary tube ขนาด 5 ไมโครลิตร ดูดสารและค่อยๆ หยดสารลงบนแผ่น TLC จนสารในหลอดหมดและรอจนสารแห้งก่อนจะดูดครั้งต่อไปเพื่อไม่ให้ขนาดของจุดมีความกว้างเกินไป จากนั้นดูดขึ้นมาจนครบ 15 ไมโครลิตร

4) การเตรียม chamber อัตราส่วนของตัวทำละลายของสารสกัดขงเจียได้แก่ คลอโรฟอร์ม:เมทานอล (7:3) จากนั้นบรรจุใส่ใน TLC chamber โดยใช้ปริมาณสารทั้งหมด 100 มิลลิกรัม ปิดฝาให้สนิทเพื่อให้ TLC chamber อิ่มตัวด้วยตัวทำละลายประมาณ 20-30 นาที

5) การวางแผ่น TLC โดยนำแผ่น TLC ที่หยดสารค้อย่างวางลงใน TLC chamber รีบปิดฝาดังที่ไว้ในอุณหภูมิจนกว่าตัวทำละลายจะเคลื่อนที่ผ่านแผ่น TLC ถึงแนวเส้นที่ทำเครื่องหมายไว้ด้านบน จากนั้นนำแผ่น TLC ออกมาวางไว้ในแนวตั้งเพื่อให้ตัวทำละลายระเหยออกไปจนแห้ง แล้วนำไปส่องดูสารที่สามารถเรืองแสงภายใต้แสงอัลตราไวโอเลตที่ความยาวคลื่น 254 และ 356 นาโนเมตร บันทึกจุดปรากฏโดยใช้ดินสอวงเป็นจุดไขว่ปลาบริเวณที่เรืองแสง แล้วนำมาคำนวณค่า R_f (อัตราส่วนของระยะที่สารเคลื่อนที่ต่อระยะทางที่ตัวทำละลายเคลื่อนที่)

4.3 ศึกษาคุณสมบัติของสารสกัดจากพืชในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Ralstonia solanacearum* สายพันธุ์ To-Ud3 สาเหตุโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ

4.3.1 การเตรียมเชื้อ *Ralstonia solanacearum* สาเหตุโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ

นำเชื้อ *R. solanacearum* มาเลี้ยงในหลอดทดลองที่มีอาหารเหลว TTC (Kelman, 1965) ปริมาตร 5 มิลลิลิตรบนเครื่องเขย่า ที่ความเร็ว 150 รอบ/นาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นจึงนำเชื้อไปเจือจางให้มีปริมาณประชากรเชื้อ 5 Log CFU/ml เพื่อเตรียมไว้ใช้ต่อไป

ตารางที่ 2 การตรวจสอบสารสำคัญทางพฤกษเคมีเบื้องต้น (phytochemical screening) ของสารสกัดพืชและน้ำยาที่ใช้ในการตรวจสอบและสีที่ปรากฏ

สารประกอบ	น้ำยาตรวจสอบ	สีที่ปรากฏ
alkaloid	Dragendorff's reagent	สีส้มถึงสีส้มแดง
steriod	Conc. sulfuric acid : acetic anhydride	สารละลายสีฟ้าเขียว
triterpenoid		สีแดงหรือม่วงเข้ม
unsaturated lactone ring	Kedde's reagent	แดง
	Reymond's reagent	ม่วงน้ำเงิน

ที่มา (สรัญญา, 2549)



ภาพที่ 3 ผลิตภัณฑ์ขวงเจียที่ใช้ในการทดลองจากบริษัท ง่วนฮุ้น จำกัด ตราหมู่นิ้วหัวแม่มือซึ่งบรรจุในถุงพลาสติก ถุงละ 500 กรัม

4.3.2 การยับยั้งการเจริญของเชื้อ (bioautography assay)

นำแผ่น TLC ที่ได้ในข้อ 4.2.5 ไปฆ่าเชื้อด้วยแสงอัลตราไวโอเลต 30 นาที จากนั้นเชื้อ *R. solanacearum* ที่เตรียมไว้ในข้อ 4.3.1 ผสมกับอาหาร TTC ที่ผสมวุ้น 1.5% ที่อุ่นไว้แล้ว จากนั้นเขย่าให้เข้ากันแล้วพ่นกระจายให้ทั่วแผ่น TLC แล้วบ่มไว้ในตู้เขี่ยเชื้อ เป็นเวลา 24 ชั่วโมงตรวจสอบบริเวณยับยั้ง (clear zone) ที่เกิดขึ้นบนแผ่น TLC แล้วบันทึกค่า R_f

4.3.3 ตรวจสอบสารออกฤทธิ์จากสารสกัดขวงเจีย

ทดสอบสารออกฤทธิ์ที่เกิดขึ้นการยับยั้งบนแผ่น TLC จากนั้นนำแผ่น TLC ที่ได้จากข้อ 4.2.2. พ่นด้วยน้ำยาทดสอบ Dragendorff's reagent เพื่อตรวจสอบสารกลุ่ม alkaloid ถ้ามีสารกลุ่ม alkaloid จะปรากฏสีส้ม บันทึกค่า R_f บนตำแหน่งสีที่ปรากฏ

5. สถานที่ทำการทดลอง

- 1) ห้องปฏิบัติการภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน
- 2) โรงเรียนปลูกพืชทดลองภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน
- 3) โรงเรียนปลูกพืชทดลองทางการค้า สถาบันเทคโนโลยีแห่งเอเชีย (AIT) จ.ปทุมธานี

6. ระยะเวลาในการทดลอง

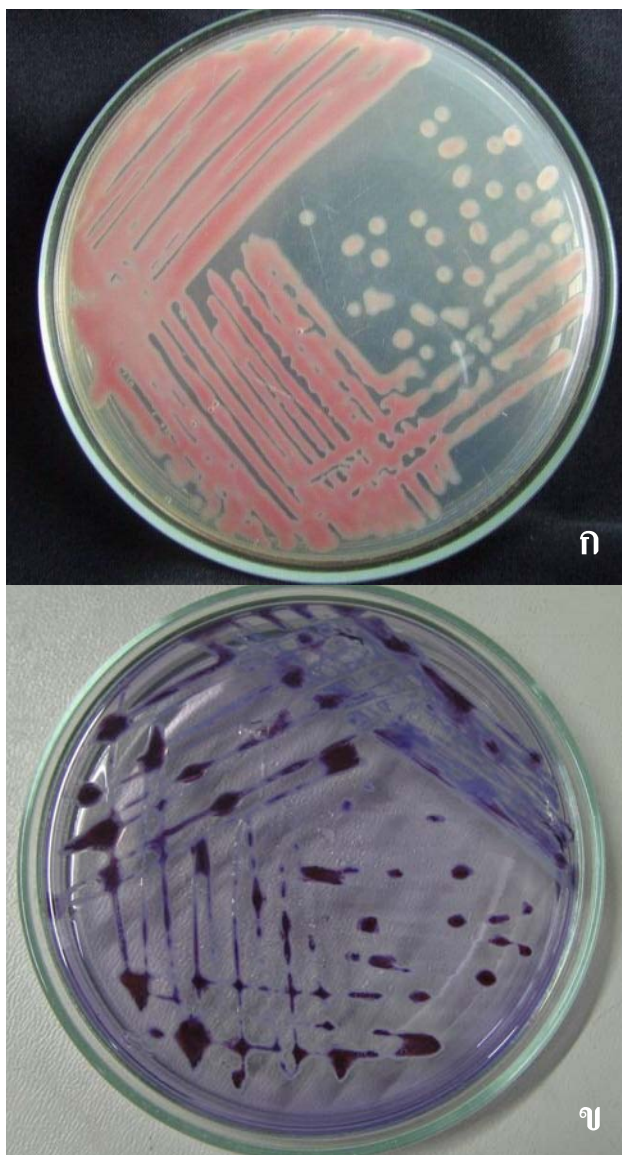
การทดลองนี้เริ่มตั้งแต่เดือนพฤษภาคม พ.ศ. 2549 ถึงเดือนมีนาคม พ.ศ. 2552

ผลและวิจารณ์

ผล

1. เตรียมเชื้อ *Ralstonia solanacearum* สาเหตุโรคเหี่ยวของมะเขือเทศเพื่อใช้ในการทดลอง

เชื้อที่ใช้ในการทดลอง เตรียมโดยนำเชื้อ *Ralstonia solanacearum* สายพันธุ์ To-Ud3 สาเหตุโรคเหี่ยวของมะเขือเทศที่แยกจาก จ.อุดรธานี ซึ่งเป็นสายพันธุ์เก่าที่เก็บไว้ในห้องปฏิบัติการแบคทีเรีย ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน นำมาเลี้ยงบนอาหารแข็ง TZC แล้ว cross streak เพื่อให้ได้โคโลนีเดี่ยว ผลที่ได้คือ โคโลนีขอบสีขาวขุ่น ไม่เรียบ กลางโคโลนีมีสีแดง รูปร่างรี แสดงว่า เชื้อที่ได้ไม่มีความรุนแรง (avirulent) ดังนั้นจึงนำเชื้อที่ได้ไปปลูกเชื้อบนดินมะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์ 3 ที่มีอายุระหว่าง 25-30 วัน โดยวิธีการตัดใบ (scalpel petiole clipping) แต่พบว่าไม่เกิดอาการของโรค จากนั้นจึงได้ปลูกเชื้ออีกครั้งโดยวิธีใช้เข็มฉีดยา แล้วนำมะเขือเทศต้นที่แสดงอาการเหี่ยวมาแยกเชื้อ โดยการใช้มีดตัดลำต้นตามขวาง แล้วจุ่มในหลอดน้ำกลั่นที่นิ่งฆ่าเชื้อเพื่อให้ ooze ไหลออกมาในหลอดแล้วนำไปแยกเชื้อ โดยวิธี dilution plate method บนอาหารแข็ง TZC และ mSM-1 และนำมา cross streak อีกครั้งให้ได้โคโลนีเดี่ยว ผลที่ได้คือ ได้โคโลนีลักษณะเยิ้ม ขอบไม่เรียบ สีขาวขุ่น ตรงกลางโคโลนีมีสีชมพู รูปร่างรี บนอาหาร TZC แสดงว่าเป็นเชื้อที่มีความรุนแรงในการทำให้เกิดโรค (virulent) ส่วนบนอาหาร mSM-1 พบว่าโคโลนีลักษณะเยิ้ม ขอบไม่เรียบ สีม่วงอ่อนตรงกลางโคโลนีสีชมพู รูปร่างค่อนข้างกลมหรือรี (ภาพที่ 4) และเมื่อนำเชื้อนี้ไปทำการทดสอบด้วยสารปฏิชีวนะ ampicillin ทดสอบการเกิดโรคกับต้นมะเขือเทศสามารถทำให้เกิดโรคกับมะเขือเทศได้รุนแรง นำไปเก็บรักษาเพื่อใช้ในการศึกษาต่อไป



ภาพที่ 4 ลักษณะโคโลนีของเชื้อ *Ralstonia solanacearum* สายพันธุ์ To-Ud3 ที่มีความรุนแรง (virulent) บนอาหาร Kelman's tetrazolium chloride medium (TZC) (ก) และบนอาหาร mSM-1 (ข) โคโลนีมีรูปร่างค่อนข้าง กลมหรือรีลักษณะเข้ม ขอบไม่เรียบ สีฟ้าหรือม่วงอ่อนตรงกลางมีสีชมพูอ่อน

2. การคัดเลือกและการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืช ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียโรคพืชในห้องปฏิบัติการ

2.1 การทดสอบประสิทธิภาพสารสกัดจากพืชในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Ralstonia solanacearum* สาเหตุโรคเหี่ยวของมะเขือเทศในห้องปฏิบัติการ

จากการทดลองพบว่าเส้นผ่านศูนย์กลางการยับยั้ง (clear zone) ที่เกิดขึ้นบนอาหาร NA ของสารสกัดฝรั่งสามารถยับยั้งเชื้อ *R. solanacearum* สายพันธุ์ To-Ud3^{amp} ได้ดีกว่าสารสกัดชนิดอื่น โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางการยับยั้งเท่ากับ 2.17 เซนติเมตร รองลงมาคือสารสกัดยูคาลิปตัสซึ่งมีเส้นผ่านศูนย์กลางการยับยั้งเท่ากับ 2.00 เซนติเมตรซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่แตกต่างกันทางสถิติกับสารสกัดพลูมีเส้นผ่านศูนย์กลางการยับยั้ง 1.40 เซนติเมตร สารสกัดขวงเจีย สารสกัดการเวก และสารสกัดสะเดามีเส้นผ่านศูนย์กลางการยับยั้ง 1.10, 1.03 และ 0.95 เซนติเมตรตามลำดับ (ภาพที่ 5) สารสกัดพืชทุกชนิดที่คัดเลือกมานั้นมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *R. solanacearum* ที่แตกต่างกันโดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางการยับยั้งระหว่าง 0.53 -2.17 เซนติเมตร

สารสกัดจากพืชเหล่านี้ยังมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* และเชื้อ *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* แตกต่างกัน สารสกัดยูคาลิปตัสมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* ดีที่สุด โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางการยับยั้ง 0.43 เซนติเมตร รองลงมาคือสารสกัดฝรั่งและสารสกัดพลูมีเส้นผ่านศูนย์กลางการยับยั้ง 0.41 และ 0.36 เซนติเมตรตามลำดับโดยสารทั้ง 2 ชนิดนี้ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

สารสกัดยูคาลิปตัสมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* ได้ดีที่สุด โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางการยับยั้ง 0.50 เซนติเมตร ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากสารสกัดพืชทุกชนิด รองลงมาคือสารสกัดพลู สารสกัดสะเดาและสารสกัดฝรั่ง มีเส้นผ่านศูนย์กลางการยับยั้ง 0.41, 0.39 และ 0.38 เซนติเมตรตามลำดับแต่โดยมีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 ผลของสารสกัดพืชในการยับยั้งการเจริญ(บริเวณใส)ของเชื้อ *Ralstonia solanacearum* (RS), *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* (ECC) และ *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (XCC) บนอาหาร nutrient agar (NA) เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

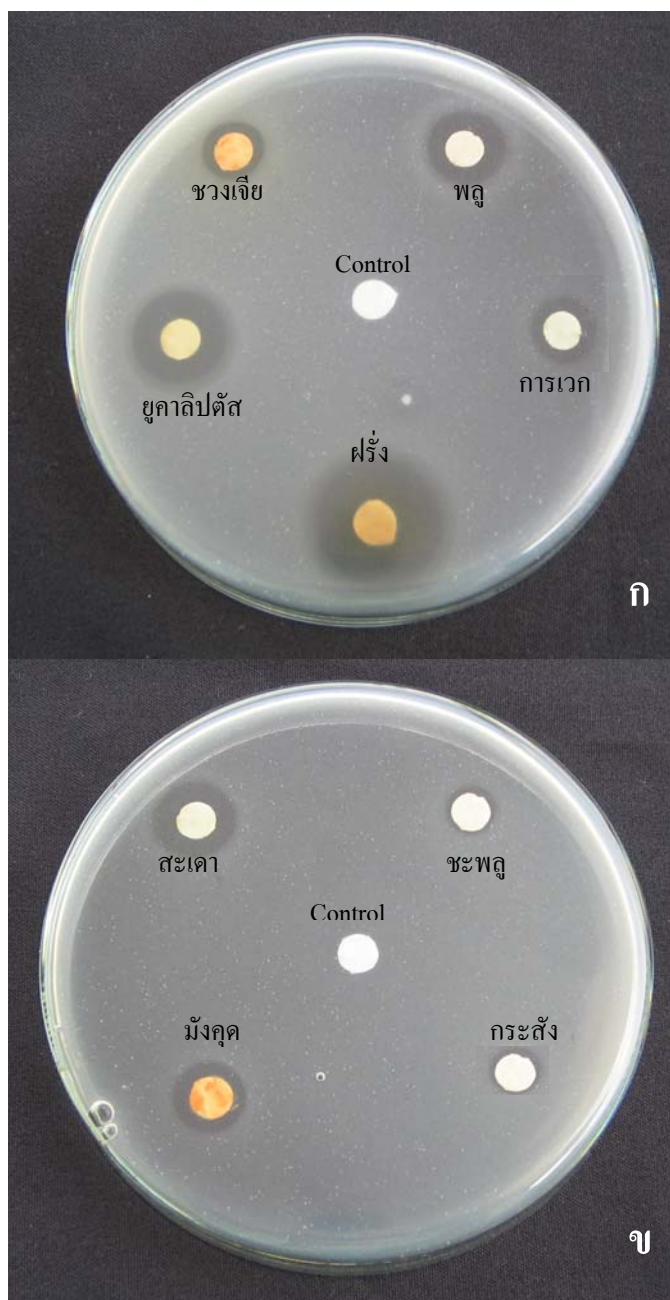
สารสกัดพืช	เส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณใสของการยับยั้งเชื้อ(ชม)		
	บนอาหารNA ^{1/}		
	RS	ECC	XCC
ขวงเจีย (<i>Zanthoxylum</i> sp.)	1.10c ±0.23	0.00c	0.00d ^{2/}
พลู (<i>Piper betle</i>)	1.41b ±0.33	0.36a ± 0.07	0.41b± 0.77
ยูคาลิปตัส (<i>Eucalyptus camaldulensis</i>)	2.00 a±0.22	0.43a± 0.12	0.50a±0.09
ฝรั่ง (<i>Psidium guajava</i>)	2.17a ±0.35	0.41a±0.12	0.38b±0.46
การเวก (<i>Artabotrys hexapetalus</i>)	1.03c ± 0.22	0.00c	0.00d
สะเดา (<i>Azadirachta indica</i>)	0.95cd ±0.21	0.10b± 0.05	0.39b±0.06
ชะพลู (<i>Piper sarmentosum</i>)	0.56e ±0.10	0.00c	0.00d
มังคุด (<i>Garcinia mangostana</i>)	0.75de ±0.15	0.18b± 33	0.18c ± 0.33
กระดัง (<i>Peperomia pellucida</i>)	0.53e±0.31	0.00c	0.00d
เอทิลแอลกอฮอล์ 95% (control)	0.00f	0.00c	0.00d

^{1/} ค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 20 ซ้ำ เส้นผ่านศูนย์กลางการยับยั้งหาได้จากสูตร

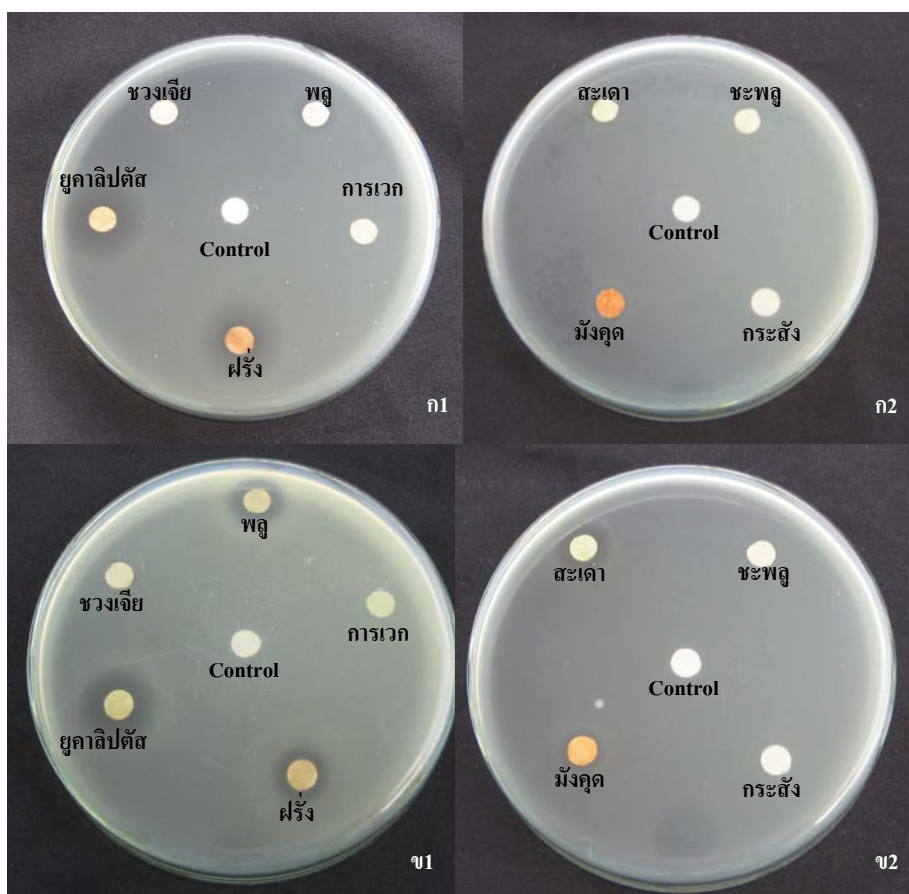
เส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณใส (ชม) – เส้นผ่านศูนย์กลาง paper disc (ชม)

2

^{2/} ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) โดยวิธี Duncan's new multiple range test (Duncan,1997)



ภาพที่ 5 ประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืชในการยับยั้งการเจริญ(บริเวณใส)ของเชื้อ *Ralstonia solanacearum* สายพันธุ์ To-Ud3^{amp} บนอาหาร nutrient agar (NA) เป็นเวลา 48 ชั่วโมง (ก) สารสกัดขวงเจีย สารสกัดพลู สารสกัดการเวก สารสกัดฝรั่ง และสารสกัดยูคาลิปตัส (ข) สารสกัดสะเดา สารสกัดชะพลู สารสกัดมังคุด และสารสกัดกระสัง เมื่อเทียบกับ เอทิลแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ (control)



ภาพที่ 6 ประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืชในการยับยั้งการเจริญ(บริเวณใส)ของเชื้อ *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* บนอาหาร nutrient agar เป็นเวลา 48 ชั่วโมง สารสกัดขวงเจีย สารสกัดพลู สารสกัดการเวก สารสกัดฝรั่งและสารสกัดยูคาลิปตัส (ก1) สารสกัดสะเดา สารสกัดชะพลู สารสกัดมังคุด และสารสกัดกระดังง์ (ก2) และการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* ของสารสกัด ขวงเจีย สารสกัดพลู สารสกัดการเวก สารสกัดฝรั่ง และสารสกัดยูคาลิปตัส (ข1) สารสกัดสะเดา สารสกัด ชะพลู สารสกัดมังคุดและสารสกัดกระดังง์ (ข2) เมื่อเทียบกับเอทิลแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ (control)

2.2 การทดสอบประสิทธิภาพสารสกัดจากพืชหลังเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 4 เดือนในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Ralstonia solanacearum* สาเหตุโรคเหี่ยวของมะเขือเทศในห้องปฏิบัติการ

สารสกัดจากพืชที่มีระยะเวลาการเก็บรักษาที่นานขึ้นจะมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *R. solanacearum* เพิ่มขึ้น (ตารางที่ 4) สารสกัดขวงเจียหลังเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 1 เดือนมีเส้นผ่านศูนย์กลางการยับยั้งการเจริญของเชื้อ 0.65 เซนติเมตรซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติกับสารสกัดขวงเจียที่เริ่มเก็บ (0 เดือน) สารสกัดขวงเจียที่เก็บไว้นาน 2 และ 3 เดือนมีประสิทธิภาพเพิ่มขึ้นจากที่เก็บไว้ 0 และ 1 เดือนโดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางการยับยั้งการเจริญของเชื้อที่ 0.80 และ 1.10 เซนติเมตรและแตกต่างกันทางสถิติ ส่วนสารสกัดขวงเจียที่เก็บไว้นาน 4 เดือนมีประสิทธิภาพการยับยั้งเท่ากับการเก็บไว้ที่ 3 เดือน

สารสกัดพลูลงเก็บรักษาระยะเวลา 1 เดือน มีเส้นผ่านศูนย์กลางการยับยั้งการเจริญของเชื้อ 1.40 เซนติเมตรซึ่งแตกต่างทางสถิติกับสารสกัดพลูลงที่เริ่มเก็บ (0 เดือน) สารสกัดพลูลงที่เก็บไว้นาน 2 และ 3 เดือนมีเส้นผ่านศูนย์กลางการยับยั้งการเจริญของเชื้อเท่ากันคือ 1.97 เซนติเมตร ส่วนสารสกัดพลูลงที่เก็บไว้นาน 4 เดือน มีเส้นผ่านศูนย์กลางการยับยั้งการเจริญของเชื้อ 2.00 เซนติเมตรโดยมีประสิทธิภาพเพิ่มขึ้นจากที่เก็บไว้ 0, 1, 2 และ 3 เดือน และแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

สารสกัดยูคาลิปตัสหลังเก็บรักษาระยะเวลา 1 เดือนมีเส้นผ่านศูนย์กลางการยับยั้งการเจริญของเชื้อ 1.45 เซนติเมตร ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติกับสารสกัดยูคาลิปตัสที่เริ่มเก็บ (0 เดือน) สารสกัดยูคาลิปตัสที่เก็บไว้นาน 2, 3 และ 4 เดือนมีเส้นผ่านศูนย์กลางการยับยั้งการเจริญของเชื้อ 1.80, 2.00 และ 2.30 เซนติเมตรตามลำดับ ซึ่งเพิ่มขึ้นจากที่เก็บไว้ 0 และ 1 เดือน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

สารสกัดฝรั่งมีประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อเพิ่มขึ้นจากที่เริ่มเก็บ (0 เดือน) เมื่อเก็บไว้เป็นระยะเวลา 1 เดือน มีเส้นผ่านศูนย์กลางการยับยั้งการเจริญของเชื้อ 1.50 เซนติเมตรและเมื่อเวลา 2, 3 และ 4 เดือน มีเส้นผ่านศูนย์กลางการยับยั้งการเจริญของเชื้อ 1.67, 2.17 และ 2.55 เซนติเมตรตามลำดับโดยแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

สารสกัดการเวกมีประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อเพิ่มขึ้นจากที่เริ่มเก็บ (0 เดือน) เมื่อระยะเวลา 1 เดือนมีเส้นผ่านศูนย์กลางการยับยั้งการเจริญของเชื้อ 0.60 เซนติเมตรและเวลา 2, 3, และ 4 เดือน มี

เส้นผ่านศูนย์กลางการยับยั้งการเจริญของเชื้อเพิ่มขึ้นคือ 0.65, 0.95 และ 1.20 เซนติเมตรตามลำดับ โดยแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

เปอร์เซ็นต์การเพิ่มขึ้นของประสิทธิภาพสารสกัดจากพืชที่เก็บรักษาระยะเวลา 4 เดือน พบว่าสารสกัดพืชมะขามมีประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อเพิ่มสูงขึ้น 61.50 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาได้แก่สารสกัดการเวกและฝรั่ง 52.00 และ 51.30 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ส่วนสารสกัดขวงเจียและยูคาลิปตัสมีประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อเพิ่มสูงขึ้น 40.90 และ 36.90 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ(ตารางผนวกที่ 1)

ตารางที่ 4 ประสิทธิภาพสารสกัดจากพืชในการยับยั้งการเจริญเติบโต(บริเวณใส)ของเชื้อ *Ralstonia solanacearum* สายพันธุ์ To-Ud3^{amp} (RS) หลังเก็บรักษาสารสกัดพืชเป็นระยะเวลา 4 เดือน เมื่อทดสอบบนอาหาร nutrient agar เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

สารสกัดพืช	เส้นผ่านศูนย์กลาง(บริเวณใส)การยับยั้ง (ชม.)เชื้อRS ^{1/}				
	ระยะเวลา (เดือน)				
	0	1	2	3	4
ขวงเจีย (<i>Zanthoxylum</i> sp.)	0.65cCD	0.65cB	0.80bC	1.10aB	1.10aC ^{2/}
พุด (<i>Piper betle</i>)	0.77dC	1.40cA	1.97bA	1.97bAB	2.00abB
ยูคาลิปตัส (<i>Eucalyptus camaldulensis</i>)	1.45dA	1.45dA	1.80cA	2.00baB	2.30aAB
ฝรั่ง (<i>Psidium guajava</i>)	1.24eB	1.50dA	1.67cB	2.17bA	2.55aD
การเวก (<i>Artabotrys hexapetalus</i>)	0.48eE	0.60dB	0.65cCD	0.95bC	1.00aC

^{1/} ค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 20 ซ้ำ เส้นผ่านศูนย์กลางการยับยั้งมีหน่วยเป็นเซนติเมตร(ชม)

^{2/} ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรตัวพิมพ์ใหญ่ในแนวตั้งและตัวอักษรตัวพิมพ์เล็กในแนวนอนที่แตกต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) โดยวิธี Duncan's new multiple range test (Duncan, 1997)

2.3 การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืชในการยับยั้งประชากรของเชื้อ *R. solanacearum* สายพันธุ์ To-Ud3^{amp} (RS) ในอาหารเลี้ยงเชื้อ

การศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืชในการยับยั้งประชากรของเชื้อ *R. solanacearum* สายพันธุ์ To-Ud3^{amp} (RS) ในอาหารเลี้ยงเชื้อ (ตารางที่ 5) พบว่าประชากรเชื้อ RS จากปริมาณเริ่มต้นที่ 1.75 Log CFU/ml จะมีประชากรลดลงที่เวลา 24 ชั่วโมง หลังการใส่สารสกัดพืช ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ โดยสารสกัดฝรั่งมีประชากรเชื้อต่ำสุดคือ 4.70 Log CFU/ml รองลงมา ได้แก่ สารสกัดพลู สารสกัดยูคาลิปตัส สารสกัดการเวกและสารสกัดขวงเจีย โดยมีปริมาณประชากรเชื้อ 5.07, 5.50, 6.24 และ 10.90 Log CFU/ml ตามลำดับ โดยทุกกรรมวิธีมีความแตกต่างกันทางสถิติจากกรรมวิธีควบคุมที่ไม่ได้ใส่สารสกัด การใส่สารสกัดพืชความเข้มข้น 4 เปอร์เซ็นต์พบว่าทุกกรรมวิธีการทดลองมีประชากรเชื้อลดลง โดยสารสกัดพลูมีประชากรเชื้อต่ำสุด 0.95 Log CFU/ml รองลงมา ได้แก่ สารสกัดฝรั่ง สารสกัดยูคาลิปตัส สารสกัดขวงเจียและสารสกัดการเวก โดยมีปริมาณประชากรเชื้อ 4.19, 4.50, 5.70 และ 5.98 Log CFU/ml ตามลำดับ ทุกกรรมวิธีมีความแตกต่างกันทางสถิติจากกรรมวิธีควบคุมที่ไม่ได้ใส่สารสกัด การใส่สารสกัดพืชความเข้มข้น 6 เปอร์เซ็นต์ ทุกกรรมวิธีมีประชากรเชื้อลดลงโดยสารสกัดการเวกไม่มีประชากรเชื้อเหลืออยู่ ส่วนสารสกัดยูคาลิปตัสมีปริมาณประชากรเชื้อ 0.65 Log CFU/ml สารสกัดขวงเจียและสารสกัดพลูมีประชากรเชื้อเท่ากันคือ 0.90 Log CFU/ml และสารสกัดฝรั่งมีประชากรเชื้อ 2.10 Log CFU/ml โดยทุกกรรมวิธีมีความแตกต่างกันทางสถิติจากกรรมวิธีควบคุมที่ไม่ได้ใส่สารสกัด การใส่สารสกัดพืชความเข้มข้น 8 เปอร์เซ็นต์ ทุกกรรมวิธีการทดลองมีประชากรเชื้อลดลง โดยกรรมวิธีที่ใส่สารสกัดขวงเจียไม่มีประชากรเชื้อเหลืออยู่ ส่วนสารสกัดยูคาลิปตัสมีประชากรลดลงเหลือ 0.30 Log CFU/ml ตามด้วยสารสกัดพลูและสารสกัดฝรั่งที่มีประชากรเชื้อเท่ากับ 0.60 และ 0.95 Log CFU/ml ตามลำดับ โดยทุกกรรมวิธีมีความแตกต่างกันทางสถิติจากกรรมวิธีควบคุมที่ไม่ได้ใส่สารสกัด ส่วนการใส่สารสกัดพืชความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ พบว่าทุกกรรมวิธีไม่มีประชากรเชื้อเหลืออยู่

หลังการใส่สารสกัดพืชเป็นเวลา 48 ชั่วโมง พบว่าทุกกรรมวิธีมีประชากรเชื้อลดลง การใส่สารสกัดพืชที่ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ สารสกัดพลูมีประชากรเชื้อต่ำสุดเท่ากับ 2.95 Log CFU/ml รองลงมา ได้แก่ สารสกัดฝรั่ง สารสกัดยูคาลิปตัส สารสกัดการเวกและสารสกัดขวงเจีย โดยมีปริมาณประชากรเชื้อ 3.40, 3.90, 5.90 และ 6.36 Log CFU/ml ตามลำดับ โดยทุกกรรมวิธีมีความแตกต่างกันทางสถิติจากกรรมวิธีควบคุมที่ไม่ได้ใส่สารสกัด เมื่อใส่สารสกัดพืชความเข้มข้น 4

เปอร์เซ็นต์ พบว่าสารสกัดพลูมีประชากรเชื้อต่ำสุดที่ 0.95 Log CFU/ml รองลงมาคือสารสกัดการเวกและสารสกัดขวงเจีย โดยมีปริมาณประชากรเชื้อ 6.20 และ 4.47 Log CFU/ml ตามลำดับ ส่วนกรรมวิธีที่ได้สารสกัดยูคาลิปตัสและฝรั่งมีประชากรเชื้อเท่ากับ 1.80 และ 1.90 Log CFU/ml ตามลำดับ โดยทุกกรรมวิธีมีความแตกต่างกันทางสถิติจากกรรมวิธีควบคุมที่ไม่ได้ใส่สารสกัด ใส่สารสกัดพืชความเข้มข้น 6 เปอร์เซ็นต์ พบว่าสารสกัดขวงเจีย สารสกัดพลูและสารสกัดการเวกไม่มีประชากรเชื้อเหลืออยู่ ส่วนกรรมวิธีใส่สารสกัดยูคาลิปตัสและสารสกัดฝรั่งมีประชากรเชื้อเหลืออยู่ 0.43 และ 0.95 Log CFU/ml ตามลำดับโดยทุกกรรมวิธีมีความแตกต่างกันทางสถิติจากกรรมวิธีควบคุมที่ไม่ได้ใส่สารสกัด ส่วนการใส่สารสกัดความเข้มข้น 8 เปอร์เซ็นต์และ 10 เปอร์เซ็นต์ พบว่าทุกกรรมวิธีไม่มีประชากรเชื้อเหลืออยู่ เมื่อวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของแต่ละกรรมวิธีการทดลองพบว่าเมื่อเพิ่มปริมาณสารสกัดลงไปในการเลี้ยงเชื้อส่งผลให้ภายในอาหารเลี้ยงเชื้อมีค่าความเป็นกรดเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ เมื่อเทียบกับค่าความเป็นกรด-ด่างในกรรมวิธีควบคุมที่ไม่ใส่เชื้อเพียงอย่างเดียว(control) (ภาพผนวกที่ 3)

ตารางที่ 5 ประสิทธิภาพของสารสกัดขวงเจีย พลู ยูคาลิปตัส ฝรั่ง และการเวกที่ความเข้มข้นต่างๆ (2-10%) ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Ralstonia solanacearum* สายพันธุ์ To-Ud3^{amp} (RS) ในอาหารเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง

สารสกัด ^{1/}	ระยะเวลา (ชั่วโมง)	ประชากรเชื้อ RS (Log CFU/ml) หลังใส่สารสกัดพืช				
		1%	2%	3%	4%	5% ^{2/}
ขวงเจีย	24	10.90b	5.70c	0.90c	0.00e	0.00b ^{3/}
พลู		5.07d	0.95f	0.90c	0.60c	0.00b
ยูคาลิปตัส		5.50d	4.15d	0.65d	0.30d	0.00b
ฝรั่ง		4.70e	4.19e	2.10b	0.95b	0.00b
การเวก		6.24c	5.98b	0.00e	0.00e	0.00b
ควบคุม		12.09a	12.09a	12.09a	12.09a	12.09a
ขวงเจีย	48	6.36b	4.47c	0.00d	0.00b	0.00b
พลู		2.95f	0.95e	0.00d	0.00b	0.00b
ยูคาลิปตัส		3.90d	1.80d	0.43c	0.00b	0.00b
ฝรั่ง		3.40e	1.90d	0.95b	0.00b	0.00b
การเวก		5.90c	6.20b	0.00d	0.00b	0.00b
ควบคุม		14.80a	14.80a	14.80a	14.80a	14.80a

^{1/} นำสารสกัดพืชแต่ละชนิดใส่ในอาหารเหลว TTC ที่มีเชื้อ RS ให้มีความเข้มข้น 2-10% และบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 และ 48 ชั่วโมงก่อนนำไปหาปริมาณประชากรของเชื้อ RS โดยมีประชากรเชื้อ *R. solanacearum* เริ่มต้นที่ 1.75 Log CFU/ml

^{2/} ความเข้มข้นของสารสกัด (เปอร์เซ็นต์)

^{3/} ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรที่แตกต่างกันในแนวดิ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) โดยวิธี Duncan's new multiple range test (Duncan, 1997)

2.4 การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืชในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Ralstonia solanacearum* ในดินในห้องปฏิบัติการ

ในการศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืชในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *R. solanacearum* สายพันธุ์ To-Ud3^{amp} (RS) ในดิน พบว่าประชากรเชื้อ RS เริ่มต้นที่ 3.45 Log CFU/g ของดิน หลังการใส่สารสกัดในแต่ละกรรมวิธีที่ปริมาณ 1 มิลลิตร เป็นเวลา 2 สัปดาห์ สารสกัดขวงเจียมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อสูงสุด โดยมีประชากรเชื้อต่ำสุด 1.18 Log CFU/g ของดิน รองลงมาคือสารสกัดฝรั่ง สารสกัดยูคาลิปตัส สารสกัดพลู และสารสกัดการเวมมีปริมาณประชากร 1.37, 1.98, 1.44 และ 1.55 Log CFU/g ของดิน ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากกรรมวิธีควบคุมที่ไม่ได้ใส่สารสกัด ในสัปดาห์ที่ 4 หลังการทดลอง พบว่าทุกกรรมวิธีมีประชากรเชื้อลดลงและมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยสารสกัดขวงเจียยังคงมีประชากรเชื้อต่ำสุด 1.23 Log CFU/g ของดิน รองลงมาคือสารสกัดพลู สารสกัดยูคาลิปตัส สารสกัดฝรั่ง และสารสกัดการเวมมีประชากรเชื้อ 1.39, 1.39, 1.41 และ 1.58 Log CFU/g ของดินตามลำดับ ในสัปดาห์ที่ 6 ของการทดลองทุกกรรมวิธียังคงประชากรเชื้อลดลง โดยสารสกัดยูคาลิปตัสมีปริมาณเชื้อต่ำสุดคือ 1.14 Log CFU/g ของดิน รองลงมาได้แก่กรรมวิธีใส่สารสกัดขวงเจีย 1.23 Log CFU/g ของดิน ซึ่งแตกต่างกันทางสถิติ ส่วนสารสกัดพลูและสารสกัดการเวมมีประชากรเชื้อเท่ากันคือ 1.39 Log CFU/g ของดิน และสารสกัดฝรั่งมีประชากรเชื้อ 1.35 Log CFU/g ของดิน โดยทุกกรรมวิธีมีความแตกต่างกันทางสถิติจากกรรมวิธีที่ไม่ได้ใส่สารสกัด และในสัปดาห์ที่ 8 กรรมวิธีที่มีประชากรเชื้อต่ำสุดได้แก่ สารสกัดขวงเจีย 0.96 Log CFU/g ของดิน ตามด้วยสารสกัดยูคาลิปตัส สารสกัดฝรั่ง สารสกัดพลู และสารสกัดการเวมโดยมีประชากรเชื้อ 1.06, 1.14, 1.19 และ 1.22 Log CFU/g ของดิน ตามลำดับ ทุกกรรมวิธีมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากกรรมวิธีควบคุมที่ไม่ได้ใส่สารสกัด

ตารางที่ 6 ประสิทธิภาพของสารสกัดขวงเจีย สารสกัดพลู สารสกัดยูคาลิปตัส สารสกัดฝรั่ง และ สารสกัดการเวก ที่ปริมาณต่างๆในการยับยั้งประชากรของเชื้อ *Ralstonia solanacearum* สายพันธุ์ To-Ud3^{amp} (RS) ในดินในห้องปฏิบัติการระยะเวลา 8 สัปดาห์

สารสกัดพืช ^{1/}	ระยะเวลา (สัปดาห์)	ปริมาณเชื้อ RS (Log CFU/g)หลังใส่สารสกัดจากพืช				
		1 มิลลิลิตร	2 มิลลิลิตร	3 มิลลิลิตร	4 มิลลิลิตร	5 มิลลิลิตร
ขวงเจีย	2	1.18c ^{2/}	1.41d	1.15f	0.90f	0.67d
พลู		1.44c	1.47b	1.32e	1.38c	0.00e
ยูคาลิปตัส		1.4d	1.36f	2.01c	1.21d	0.00e
ฝรั่ง		1.37d	1.39e	1.50d	1.41b	1.03c
ควบคุม		2.76a	2.76a	2.76a	2.76a	2.76a
ขวงเจีย	4	1.23e	1.19e	1.31bc	0.09f	0.00d
พลู		1.39d	1.44b	1.32b	0.68e	0.00d
ยูคาลิปตัส		1.39cd	1.26d	1.28c	1.03d	0.00d
ฝรั่ง		1.41c	1.35c	1.12d	1.24b	0.80b
ควบคุม		1.88a	1.88a	1.88a	1.88a	1.88a
ขวงเจีย	6	1.23d	1.30b	0.92e	0.00f	0.00b
พลู		1.34c	1.20d	1.28c	0.38d	0.00b
ยูคาลิปตัส		1.11e	1.22c	1.33b	0.70c	0.00b
ฝรั่ง		1.35b	1.15e	0.60f	0.18e	0.00b
ควบคุม		1.79a	1.79a	1.79a	1.79a	1.79a
ขวงเจีย	8	0.96f	1.12c	0.78d	0.00c	0.00b
พลู		1.19c	1.10d	1.14b	0.00c	0.00b
ยูคาลิปตัส		1.06e	1.54b	0.60e	0.18b	0.00b
ฝรั่ง		1.14d	1.12c	0.00f	0.00c	0.00b
ควบคุม		1.56a	1.56a	1.56a	1.56a	1.56a

^{1/}เตรียมสารสกัดพืชแต่ละชนิดในเอทิลแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์และใส่ลงดินที่มีเชื้อ RS เริ่มต้น 3.45 Log CFU/g ของดินในอัตรา 1-5 มิลลิลิตรต่อดิน 50 กรัมโดยชุดควบคุมไม่ได้ใส่สารสกัดพืช และนำมาตรวจสอบประชากรของเชื้อ RS ทุก 2 สัปดาห์เป็นเวลา 8 สัปดาห์

^{2/} ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) โดยวิธี Duncan's new multiple range test (Duncan, 1997)

การใส่สารสกัดพืชปริมาณ 2 มิลลิตร ในสัปดาห์ที่ 2 พบว่าสารสกัดจากยูคาลิปตัสมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ดีที่สุด โดยการมีประชากรเชื้อต่ำสุดเท่ากับ 1.15 Log CFU/g ของดิน รองลงมาคือสารสกัดฝรั่ง สารสกัดขวงเจีย สารสกัดการเวกและสารสกัดพลูมีประชากรเชื้อเท่ากับ 1.39, 1.41, 1.45 และ 1.47 Log CFU/g ของดิน ตามลำดับซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากกรรมวิธีควบคุมที่ไม่ได้ใส่สารสกัด สัปดาห์ที่ 4 พบว่าทุกกรรมวิธีมีประชากรเชื้อลดลง กรรมวิธีใส่สารสกัดขวงเจียมีประชากรเชื้อต่ำสุดคือ 1.19 Log CFU/g ของดิน รองลงมาได้แก่สารสกัดยูคาลิปตัส 1.26 Log CFU/g ของดิน ส่วนสารสกัดพลูและสารสกัดการเวกมีประชากรเชื้อไม่แตกต่างกันทางสถิติ สัปดาห์ที่ 6 ทุกกรรมวิธีมีประชากรเชื้อลดลง สารสกัดฝรั่งมีประชากรเชื้อต่ำสุด 1.15 Log CFU/g ของดิน รองลงมาได้แก่กรรมวิธีใส่สารสกัดพลูและสารสกัดการเวกมีประชากรเชื้อเท่ากับ 1.20 Log CFU/g ของดิน ส่วนสารสกัดยูคาลิปตัสและสารสกัดขวงเจียมีประชากรเชื้อเท่ากับ 1.22 และ 1.30 Log CFU/g ของดินตามลำดับ โดยทุกกรรมวิธีมีความแตกต่างกันทางสถิติจากกรรมวิธีที่ไม่ได้ใส่สารสกัดและในสัปดาห์ที่ 8 กรรมวิธีใส่สารสกัดการเวกมีประชากรเชื้อต่ำสุด 1.07 Log CFU/g ของดิน รองลงมาได้แก่กรรมวิธีใส่สารสกัดพลู 1.10 Log CFU/g ของดิน ส่วนกรรมวิธีใส่สารสกัดขวงเจียและสารสกัดฝรั่งซึ่งไม่มีความแตกต่างทางสถิติ และสารสกัดยูคาลิปตัสมีปริมาณประชากรเชื้อ 1.56 Log CFU/g ของดิน โดยทุกกรรมวิธีควบคุมมีความแตกต่างกันทางสถิติจากกรรมวิธีที่ไม่ได้ใส่สารสกัด

การใส่สารสกัดจากพืชในแต่ละกรรมวิธีที่ปริมาณ 3 มิลลิตร ในสัปดาห์ที่ 2 พบว่ากรรมวิธีใส่สารสกัดขวงเจียมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ดีที่สุดคือมีประชากรเชื้อต่ำสุดที่ 1.15 Log CFU/g ของดิน รองลงมาคือ สารสกัดพลู สารสกัดฝรั่ง สารสกัดยูคาลิปตัสและสารสกัดการเวกมีประชากรเชื้อ 1.32, 1.50, 2.01 และ 2.40 Log CFU/g ของดินตามลำดับโดยทุกกรรมวิธีมีความแตกต่างกันทางสถิติจากกรรมวิธีควบคุมที่ไม่ได้ใส่สารสกัด สัปดาห์ที่ 4 พบว่าทุกกรรมวิธีมีประชากรเชื้อลดลง โดยกรรมวิธีใส่สารสกัดการเวกมีประชากรเชื้อต่ำสุดคือ 1.08 Log CFU/g ของดินรองลงมาได้แก่สารสกัดฝรั่งและสารสกัดยูคาลิปตัส มีประชากรเชื้อ 1.12 และ 1.28 Log CFU/g ของดินตามลำดับ ส่วนสารสกัดขวงเจียและสารสกัดพลูมีประชากรเชื้อเท่ากันที่ 1.31 Log CFU/g ของดิน โดยทุกกรรมวิธีมีความแตกต่างกันทางสถิติจากกรรมวิธีที่ไม่ได้ใส่สารสกัด ในสัปดาห์ที่ 6 พบว่าทุกกรรมวิธีมีประชากรเชื้อลดลง กรรมวิธีใส่สารสกัดฝรั่งมีประชากรเชื้อต่ำสุด 0.60 Log CFU/g ของดิน รองลงมาได้แก่กรรมวิธีใส่สารสกัดขวงเจียมีประชากรเชื้อ 0.92 Log CFU/g ของดิน ส่วนสารสกัดการเวก สารสกัดพลูและสารสกัดยูคาลิปตัสโดยมีประชากรเชื้อ 1.05, 1.28 และ 1.33 Log CFU/g ของดินตามลำดับ ซึ่งทุกกรรมวิธีมีความแตกต่างกันทางสถิติจาก

กรรมวิธีควบคุมที่ไม่ได้ใส่สารสกัด และในสัปดาห์ที่ 8 กรรมวิธีใส่สารสกัดฝรั่งไม่มีประชากรเชื้ออยู่ในดิน ส่วนกรรมวิธีใส่สารสกัดยูคาลิปตัส สารสกัดขมิ้น สารสกัดการเวกและสารสกัดพลู มีประชากรเชื้อ 0.60, 0.78, 0.96 และ 1.14 Log CFU/g ของดิน ตามลำดับโดยทุกกรรมวิธีมีความแตกต่างกันทางสถิติจากกรรมวิธีควบคุม

การใส่สารสกัดในแต่ละกรรมวิธีที่ปริมาณ 4 มิลลิตรในสัปดาห์ที่ 2 พบว่ากรรมวิธีใส่สารสกัดขมิ้นมีประชากรเชื้อต่ำสุดคือ 0.90 Log CFU/g ของดิน รองลงมาได้แก่สารสกัดการเวก 1.18 Log CFU/g ของดิน ตามด้วยกรรมวิธีใส่สารสกัดยูคาลิปตัส สารสกัดพลูและสารสกัดฝรั่งได้แก่ 1.21, 1.38 และ 1.41 Log CFU/g ของดินตามลำดับ โดยทุกกรรมวิธีมีความแตกต่างกันทางสถิติจากกรรมวิธีที่ไม่ได้ใส่สารสกัด ในสัปดาห์ที่ 4 พบว่าทุกกรรมวิธีมีประชากรเชื้อลดลง โดยกรรมวิธีใส่สารสกัดขมิ้นมีประชากรเชื้อต่ำสุดคือ 0.09 Log CFU/g ของดิน รองลงมาได้แก่กรรมวิธีใส่สารสกัดพลูคือ 0.68 Log CFU/g ของดิน ส่วนสารสกัดยูคาลิปตัส สารสกัดการเวกและสารสกัดฝรั่ง 1.03, 1.12 และ 1.24 Log CFU/g ของดิน ตามลำดับโดยทุกกรรมวิธีมีความแตกต่างกันทางสถิติจากกรรมวิธีที่ไม่ได้ใส่สารสกัด ในสัปดาห์ที่ 6 ทุกกรรมวิธีมีประชากรเชื้อลดลง พบว่ากรรมวิธีใส่สารสกัดขมิ้นไม่มีประชากรเชื้อเหลืออยู่ และในสัปดาห์ที่ 8 พบว่ากรรมวิธีใส่สารสกัดพลู สารสกัดฝรั่ง และสารสกัดการเวกไม่มีประชากรเชื้อเหลืออยู่ โดยมีเพียงสารสกัดยูคาลิปตัสเท่านั้นที่มีประชากรเชื้อเหลืออยู่เพียง 0.18 Log CFU/g ของดิน โดยทุกกรรมวิธีมีความแตกต่างกันทางสถิติจากกรรมวิธีควบคุมที่ไม่ได้ใส่สารสกัด

การใส่สารสกัดในแต่ละกรรมวิธีที่ปริมาณ 5 มิลลิตร ในสัปดาห์ที่ 2 พบว่ากรรมวิธีใส่สารสกัดพลูและสารสกัดยูคาลิปตัสไม่มีประชากรเชื้อเหลืออยู่ ส่วนกรรมวิธีใส่สารสกัดขมิ้น สารสกัดฝรั่งและสารสกัดการเวกมีประชากรเชื้อ 0.67, 1.03 และ 1.17 Log CFU/g ของดิน โดยทุกกรรมวิธีมีความแตกต่างกันทางสถิติจากกรรมวิธีควบคุมที่ไม่ได้ใส่สารสกัด ในสัปดาห์ที่ 4 กรรมวิธีใส่สารสกัดขมิ้นไม่มีประชากรเชื้อเหลืออยู่ มีเพียงสารสกัดการเวกและสารสกัดฝรั่งเท่านั้นที่มีประชากรเชื้อเหลือเท่ากับ 0.26 และ 0.80 Log CFU/g ของดิน ตามลำดับโดยทุกกรรมวิธีมีความแตกต่างกันทางสถิติจากกรรมวิธีควบคุมที่ไม่ได้ใส่สารสกัด ส่วนในสัปดาห์ที่ 6 และสัปดาห์ที่ 8 พบว่าทุกกรรมวิธีไม่มีประชากรเชื้อเหลืออยู่ (ตารางที่ 6)

การลดลงของประชากรเชื้อ *Ralstonia solanacearum* (RS) ในดินทั้ง 8 สัปดาห์ เมื่อใส่สารสกัดปริมาณ 1 มิลลิตร พบว่าสารสกัดขมิ้นมีการลดลงของประชากรมากกว่ากรรมวิธีอื่น

โดยมีประชากรลดลง 71 เปอร์เซ็นต์รองลงมาได้แก่สารสกัดยูคาลิปตัสและสารสกัดฝรั่ง 69 และ 67 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ สารสกัดพลู และแอลกอฮอล์มีประชากรลดลง 65 และ 64 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ปริมาณสารสกัด 2 มิลลิตรพบว่าแอลกอฮอล์มีประชากรเชื้อลดลง 68.9 เปอร์เซ็นต์รองลงมาได้แก่ สารสกัดพลู ชวงเจีย ฝรั่งและยูคาลิปตัส คือ 68, 68, 67 และ 55 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ปริมาณสารสกัด 3 มิลลิตรพบว่าสารสกัดฝรั่งมีประชากรลดลงสูงสุด 100 เปอร์เซ็นต์รองลงมาได้แก่สารสกัดยูคาลิปตัส ชวงเจีย แอลกอฮอล์และพลู คือ 82.00, 77.00, 72.00 เปอร์เซ็นต์และ 67.00 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ. ปริมาณสารสกัด 4 มิลลิตรพบว่าสารสกัดทุกชนิดมีปริมาณประชากรลดลง 100 เปอร์เซ็นต์ยกเว้นสารสกัดยูคาลิปตัสที่มีประชากรลดลง 94.00 เปอร์เซ็นต์ ส่วนปริมาณสารสกัด 5 มิลลิตรพบว่าสารสกัดทุกชนิดมีประชากรลดลง 100 เปอร์เซ็นต์ในขณะที่กรรมวิธีทดลองมีประชากรลดลงเพียง 55.00 เปอร์เซ็นต์(ภาพผนวกที่ 5)

2.5 ทดสอบธาตุซิลิคอนต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Ralstonia solanacearum* สายพันธุ์ To-Ud3^{amp} ในห้องปฏิบัติการ

เมื่อทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *R. solanacearum* สายพันธุ์ To-Ud3^{amp} โดยวิธี paper disc diffusion ของธาตุซิลิคอนทั้ง 2 รูปแบบพบว่าทั้ง ซาลิซิก แอซิด [salisic acid, Si(OH)₄] และ โซเดียมซิลิเกต (sodium silicate, NaSiO₂) ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้ (ภาพที่ 7)

3. การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดพืชร่วมกับซิลิคอน ในการควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศสาเหตุจากเชื้อ *Ralstonia solanacearum* ในเรือนทดลอง

3.1 การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดพืชในการควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศสาเหตุจากเชื้อ *Ralstonia solanacearum* สายพันธุ์ To-Ud3^{amp} (RS) ในเรือนทดลอง

จากการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืชในการควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศสาเหตุจากเชื้อ *R. solanacearum* สายพันธุ์ To-Ud3^{amp} (RS) ในเรือนทดลองเป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่าการใช้สารสกัดจากพืชทุกชนิดสามารถควบคุมการเกิดโรคและความรุนแรงของโรคได้ในระดับที่แตกต่างกัน โดยสารสกัดจากชวงเจียมีประสิทธิภาพสูงสุดในการควบคุมการเกิดโรค เปอร์เซ็นต์การรอดตายของมะเขือเทศสูงสุด 44 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ สารสกัดยูคาลิปตัส สาร

สีกัดฝรั่ง สารสกัดการเวกและสารสกัดพลู โดยมีเปอร์เซ็นต์การรอดตาย 33, 22, 22 และ 22 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัดที่มีเปอร์เซ็นต์การรอดตายเพียง 11 เปอร์เซ็นต์ ส่วนระดับความรุนแรงของโรคมียัตรอาการเพิ่มขึ้นตามลำดับในทุกสัปดาห์ ซึ่งพบว่าสารสกัดจากพืชทุกชนิดสามารถลดความรุนแรงของโรคได้ในทุกสัปดาห์ของการทดลองเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมที่ไม่ใส่เชื้อเพียงอย่างเดียว ในสัปดาห์ที่ 6 สารสกัดขิงเจียมีระดับความรุนแรงต่ำสุดที่ระดับ 3.30 รองลงมาคือสารสกัดยูคาลิปตัส สารสกัดฝรั่ง สารสกัดการเวกและสารสกัดพลูมีระดับความรุนแรงที่ระดับ 3.44, 3.50, 3.50 และ 4.33 ตามลำดับ ในขณะที่กรรมวิธีควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัดมีระดับความรุนแรงที่ระดับ 4.50 (ตารางที่ 7)



ภาพที่ 7 การทดสอบประสิทธิภาพของซิลิกอนในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ

Ralstonia solanacearum สายพันธุ์ To-Ud3^{amp} ในรูปของซาลิซิก แอซิด (salisic acid, [Si(OH)₄] และ โซเดียมซิลิเกต (sodium silicate, NaSiO₂) ที่ความเข้มข้น 9 mM เมื่อเทียบกับเอทิลแอลกอฮอล์แอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์(control) บนอาหาร nutrient agar ที่ 48 ชั่วโมง

การศึกษาปริมาณประชากรของเชื้อ *R. solanacearum* สายพันธุ์ To-Ud3^{amp} (RS) จากดินบริเวณรากมะเขือเทศ พบว่าเชื้อ RS ปลูกเชื้อลงดินมีความเข้มข้นของสารละลายเชื้อ 7.16 Log CFU/ml ปริมาณ 100 มิลลิตรต่อดิน 1 กิโลกรัม เมื่อนำดินมาวิเคราะห์ปริมาณประชากรของ โดยวิธี dilution plate method บนอาหาร mSM-1 พบว่าหลังการปลูกเชื้อลงในดินปลูกมะเขือเทศ 1 สัปดาห์

ทุกกรรมวิธีมีปริมาณประชากรเชื้อที่แตกต่างกัน กรรมวิธีที่ใส่สารสกัดยูคาลิปตัสจะมีปริมาณเชื้อมากที่สุด คือ 2.88 Log CFU/g ของดินรองลงมาได้แก่กรรมวิธีใส่สารสกัดการเวก สารสกัดฝรั่ง และสารสกัดพลู คือ 2.66 ,2.54, 1.90 Log CFU/g ของดิน ส่วนกรรมวิธีที่ใส่สารสกัดขวงเจียมีประชากรเหลือน้อยที่สุดคือ 1.76 Log CFU/g ของดินซึ่งแตกต่างจากกรรมวิธีใส่เชื้อเพียงอย่างเดียว อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ หลังปลูกเชื้อ 2 สัปดาห์ปริมาณเชื้อ RS ลดลงในทุกกรรมวิธี โดยกรรมวิธีที่ใส่สารสกัดพลู สารสกัดยูคาลิปตัสและกรรมวิธีควบคุมที่ใส่เชื้อเพียงอย่างเดียวมีปริมาณเชื้อสูงสุดตามลำดับคือ 2.69, 2.53 และ 2.51 Log CFU/g ของดินซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติ รองลงมาได้แก่ สารสกัดฝรั่ง สารสกัดขวงเจียและสารสกัดการเวก มีจำนวนประชากรเชื้อ 2.31, 2.21 และ 2.06 Log CFU/g ของดินตามลำดับโดยไม่แตกต่างทางสถิติ หลังการทดลอง 3 สัปดาห์ทุกกรรมวิธีการทดลองมีปริมาณประชากรเชื้อลดลงและพบว่าทุกกรรมวิธีการทดลองมีปริมาณประชากรเชื้อน้อยกว่ากรรมวิธีควบคุมที่ใส่เชื้อเพียงอย่างเดียว สัปดาห์ที่ 4 ของการทดลองทุกกรรมวิธีทดลองมีปริมาณประชากรเชื้อลดลง โดยสารสกัดยูคาลิปตัสมีปริมาณประชากรเชื้อมากที่สุด คือ 1.92 Log CFU/g ของดิน รองลงมาคือสารสกัดฝรั่ง 1.88 Log CFU/g ของดินซึ่งไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีควบคุมที่ใส่เชื้อเพียงอย่างเดียว สัปดาห์ที่ 5 และ 6 ของการทดลองพบว่าปริมาณประชากรเชื้อลดลง โดยปริมาณประชากรของเชื้อในกรรมวิธีที่ใส่สารสกัดขวงเจียมีปริมาณน้อยสุด 1.46 และ 0.32 Log CFU/g ของดินตามลำดับโดยแตกต่างทางสถิติจากกรรมวิธีควบคุมที่ใส่เชื้อเพียงอย่างเดียวที่มีปริมาณประชากร 1.61 และ 1.48 Log CFU/g ของดินตามลำดับ (ตารางที่ 8)

3.2 ทดสอบประสิทธิภาพของซิลิโคนในการป้องกันการเข้าทำลายของเชื้อ

Ralstonia solanacearum สายพันธุ์ To-Ud3^{amp}(RS) สาเหตุโรคเหี่ยวของมะเขือเทศในเรือนทดลอง

จากผลการศึกษาระดับอาการของโรคพบว่าหลังการปลูกเชื้อ 1 สัปดาห์มะเขือเทศไม่แสดงอาการของโรค สัปดาห์ที่ 2 หลังการทดลองมีเพียงกรรมวิธีควบคุมที่ใส่เชื้อเพียงอย่างเดียวเท่านั้นแสดงระดับความรุนแรงที่ระดับ 1.38 สัปดาห์ที่ 3 หลังการทดลองกรรมวิธีที่ไซเดียมซิลิเกตมีระดับความรุนแรงที่ระดับ 1.25 ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากกรรมวิธีชาลิซิค แอซิดและกรรมวิธีควบคุมที่ใส่เชื้อเพียงอย่างเดียวที่มีระดับความรุนแรงที่ระดับ 1.25 และ 2.40 ตามลำดับ สัปดาห์ที่ 4 หลังการทดลองกรรมวิธีไซเดียมซิลิเกตและชาลิซิค แอซิดมีระดับความรุนแรงที่ระดับ 2.25 และ 2.5 ตามลำดับโดยแตกต่างทางสถิติจากกรรมวิธีควบคุมที่ใส่เชื้อเพียงอย่างเดียว ในสัปดาห์ที่ 5 และ 6 หลังการทดลองพบว่ากรรมวิธีไซเดียมซิลิเกตมีระดับความรุนแรงต่ำสุด

คือ 3.10 และ 3.33 ตามลำดับ ส่วนกรรมวิธีชาลิซิก แอซิดมีระดับความรุนแรงที่ระดับ 3.25 และ 4.00 ตามลำดับ ส่วนการศึกษาเปอร์เซ็นต์การรอดตายของมะเขือเทศพบว่ากรรมวิธีโซเดียมซิลิเกต มะเขือเทศรอดตายสูงสุด 44 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือกรรมวิธีชาลิซิก แอซิดมะเขือเทศรอดตาย 33 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากกรรมวิธีควบคุมที่ใส่เชื้อเพียงอย่างเดียวที่มี มะเขือเทศรอดตายเพียง 11 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 9)

ตารางที่ 7 ประสิทธิภาพของสารสกัดพืชในการควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศสาเหตุจากเชื้อ *Ralstonia solanacearum* สายพันธุ์ To-Ud3^{amp} (RS) ในเรือนทดลองเป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์

กรรมวิธีทดลอง	ความรุนแรงของโรค ^{1/}						การรอดตาย ^{2/} (เปอร์เซ็นต์)
	สัปดาห์						
	1	2	3	4	5	6	
น้ำ (control-)	1.00	1.00c	1.00d	1.00f	1.00g	1.00f	100a ^{3/}
RS (control+)	1.00	1.38a	2.40a	3.50a	3.60b	4.50a	11d
RS+ ขวงเจีย	1.00	1.00c	1.33c	1.33e	2.50e	3.33e	44b
RS+พลู	1.00	1.25b	1.33c	2.69b	4.33a	4.33b	22c
RS+ยูคาลิปตัส	1.00	1.00c	1.33c	2.25 d	2.44f	3.44d	33bc
RS+ฝรั่ง	1.00	1.00c	1.33c	2.25d	2.69d	3.50c	22c
RS+การเวก	1.00	1.00c	2.25b	2.40c	3.33 c	3.50c	22c

^{1/} ระดับความรุนแรงของโรคเหี่ยว: 1 = พืชไม่แสดงอาการเหี่ยว 2 = ใบแสดงอาการเหี่ยว 1 ใบ 3 = ใบแสดงอาการเหี่ยว 2-3 ใบ 4 = ใบแสดงอาการเหี่ยว 4 ใบหรือมากกว่า 5 = พืชตาย

^{2/} การรอดตายของมะเขือเทศ (เปอร์เซ็นต์) = $\frac{\text{จำนวนของมะเขือเทศที่รอดตาย (ต้น)}}{\text{จำนวนมะเขือเทศทดสอบทั้งหมด (ต้น)}} \times 100$

^{3/} ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยอักษรที่แตกต่างกันในแนวดิ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) โดยวิธี Duncan's new multiple range test (Duncan, 1997)

ตารางที่ 8 ประสิทธิภาพสารสกัดพืชในการยับยั้งปริมาณประชากรของเชื้อ *Ralstonia solanacearum* สายพันธุ์ To-Ud3^{amp} (RS) ในดินปลูกมะเขือเทศในเรือนทดลองเป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์หลังการใส่สารสกัด

กรรมวิธีทดลอง	ปริมาณเชื้อ <i>Ralstonia solanacearum</i> (Log CFU/g ของดิน) ^{1/}					
	สัปดาห์ 1	สัปดาห์ 2	สัปดาห์ 3	สัปดาห์ 4	สัปดาห์ 5	สัปดาห์ 6
น้ำ (control-)	0.00d	0.00c	0.00d	0.00d	0.00c	0.00f ^{2/}
RS (control+)	3.38bc	2.51ab	2.08c	1.58b	1.61ab	1.48a
RS+ขวงเจีย	1.76cd	2.2b	2.47a	1.03cd	1.46bc	0.32e
RS+พลู	1.9c	2.68a	2.23b	1.22c	1.47bc	0.64d
RS+ยูคาลิปตัส	2.87a	2.53ab	2.44ab	1.91a	1.63ab	1.02b
RS+ฝรั่ง	2.53bc	2.3b	2.42ab	1.88ab	1.64a	1.03b
RS+การเวก	2.65b	2.06bc	2.21b	1.53b	1.49b	0.85c

^{1/} ปลูกเชื้อลงดินโดยใส่เชื้อความเข้มข้น 7.16 Log CFU/ml จำนวน 100 ml/ดิน 1 kg.

^{2/} ค่าเฉลี่ยของปริมาณประชากรเชื้อ *Ralstonia solanacearum* สายพันธุ์ To-Ud3^{amp} ในดินปลูกมะเขือเทศในเรือนทดลองหลังการปลูกเชื้อ ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแนวดังนี้ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) โดยวิธี Duncan's new multiple range test (Duncan, 1997)

ตารางที่ 9 ประสิทธิภาพของซิลิโคนในการควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศจากเชื้อ *Ralstonia solanacearum* สายพันธุ์ To-Ud3^{amp} (RS) ในเรือนทดลองเป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์

กรรมวิธีทดลอง	ความรุนแรงของโรค ^{1/}						การอยู่รอด ^{2/} (เปอร์เซ็นต์)
	สัปดาห์						
	1	2	3	4	5	6	
น้ำ (control-)	1.00	1.00	1.00d	1.00d	1.00d	1.00d	100a ^{3/}
RS (control+)	1.00	1.38	2.40a	3.50a	3.60a	4.5a	11c
RS + ซาลิซิก แอซิด	1.00	1.00	1.25b	2.5b	3.25b	4.00b	33b
RS+ โซเดียมซิลิเกต	1.00	1.00	1.15c	2.25c	3.1c	3.33c	44b

^{1/} ระดับความรุนแรงของโรคเหี่ยว : 1 = พืชไม่แสดงอาการเหี่ยว 2 = ใบแสดงอาการเหี่ยว 1 ใบ 3 = ใบแสดงอาการเหี่ยว 2-3 ใบ 4 = ใบแสดงอาการเหี่ยว 4 ใบหรือมากกว่า 5 = พืชตาย

^{2/} การอยู่รอดของมะเขือเทศ (เปอร์เซ็นต์) = $\frac{\text{จำนวนของมะเขือเทศที่รอดตาย (ต้น)}}{\text{จำนวนมะเขือเทศทดสอบทั้งหมด (ต้น)}} \times 100$

^{3/} ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) โดย วิธี Duncan's new multiple range test (Duncan,1997)

การศึกษาปริมาณประชากรของเชื้อ *R. solanacearum* สายพันธุ์ To-Ud3^{amp} (RS) จากดินบริเวณรากมะเขือเทศ พบว่าปลูกเชื้อลงดินที่ความเข้มข้นของสารละลายเชื้อ 7.16 Log CFU/ml ปริมาณ 100 มิลลิลิตรต่อดิน 1 กิโลกรัม เมื่อนำดินมาวิเคราะห์ปริมาณประชากรของเชื้อ RS โดยวิธี dilution plate method บนอาหาร mSM-1 (ตารางที่ 10) พบว่าหลังการปลูกเชื้อ RS ลงดินปลูกมะเขือเทศ 1 สัปดาห์กรรมวิธีโซเดียมซิลิเกต ราดซาลิซิก แอซิดและกรรมวิธีควบคุมที่ใส่เชื้อเพียงอย่างเดียวมีปริมาณประชากรเชื้อไม่แตกต่างกันทางสถิติคือ 2.56, 2.53 และ 2.39 Log CFU/g ของดินตามลำดับ ในสัปดาห์ที่ 2 หลังการทดลองพบว่าปริมาณประชากรเชื้อในกรรมวิธีโซเดียม ซิลิเกตมีปริมาณประชากรสูงสุด คือ 2.61 Log CFU/g ของดินมากกว่ากรรมวิธีควบคุมที่ใส่เชื้อเพียงอย่างเดียวและกรรมวิธีซาลิซิก แอซิดโดยมีปริมาณประชากรเชื้อ 2.51 และ 2.50 Log CFU/g ของดินตามลำดับ ในสัปดาห์ที่ 3 หลังการทดลองพบว่าปริมาณประชากรเชื้อของกรรมวิธีโซเดียมซิลิเกตยังคงมีประชากรสูงสุด 2.18 Log CFU/g ของดิน สัปดาห์ที่ 4 หลังการทดลอง กรรมวิธีควบคุมที่ใส่

เชื้อเพียงอย่างเดียวมีปริมาณประชากรสูงสุด 1.58 Log CFU/g ของดิน ซึ่งแตกต่างทางสถิติจากกรรมวิธีชาลิซิกแอซิดและโซเดียมซลิเคตที่มีปริมาณประชากร 1.54 และ 1.43 Log CFU/g ของดินตามลำดับ สัปดาห์ที่ 5 หลังการทดลองกรรมวิธีควบคุมที่ใส่เชื้อเพียงอย่างเดียวมีปริมาณประชากรเชื้อสูงสุด 1.62 Log CFU/g ของดินส่วนกรรมวิธีโซเดียม ซลิเคตและชาลิซิก แอซิดมีประชากรเชื้อ 1.53 และ 1.47 Log CFU/g ของดินตามลำดับ ส่วนสัปดาห์ที่ 6 หลังการทดลองประชากรเชื้อไม่แตกต่างกันมากนักกรรมวิธีควบคุมที่ใส่เชื้อเพียงอย่างเดียวมีประชากรสูงสุด 1.49 Log CFU/g ของดินส่วนกรรมวิธีโซเดียม ซลิเคตและชาลิซิก แอซิดมีประชากรเชื้อ 1.44 และ 1.42 Log CFU/g ของดินตามลำดับ (ตารางที่ 10)

ตารางที่ 10 ปริมาณประชากรของเชื้อ *Ralstonia solanacearum* สายพันธุ์ To-Ud3^{amp} (RS) ในดินปลูกมะเขือเทศในเรือนทดลองเป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์หลังการปลูกเชื้อ

กรรมวิธีทดลอง	ปริมาณเชื้อ RS(Log CFU/g ของดิน) ^{1/}					
	สัปดาห์ 1	สัปดาห์ 2	สัปดาห์ 3	สัปดาห์ 4	สัปดาห์ 5	สัปดาห์ 6
น้ำ (control-)	0.00c	0.00c	0.00d	0.00d	0.00c	0.00c ^{2/}
RS (control+)	2.39ab	2.51bc	2.08b	1.58a	1.62a	1.49a
RS + ชาลิซิก แอซิด	2.53a	2.50b	2.03c	1.54b	1.47bc	1.42ab
RS+ โซเดียมซลิเคต	2.56a	2.61a	2.18a	1.43c	1.53ab	1.44b

^{1/} ปลูกเชื้อลงดินโดยใส่เชื้อความเข้มข้น 7.16 Log CFU/ml จำนวน 100 ml/ดิน 1 kg.

^{2/} ค่าเฉลี่ยของปริมาณประชากรเชื้อ *Ralstonia solanacearum* สายพันธุ์ To-Ud3^{amp} (RS) ในดินปลูกมะเขือเทศในเรือนทดลองหลังการปลูกเชื้อ ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแนวดังนี้ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ(P<0.05) โดยวิธี Duncan's new multiple range test (Duncan, 1997)

3.3 การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืชร่วมกับซิลิโคนในการป้องกันและควบคุมการเจริญของเชื้อ *Ralstonia solanacearum* สายพันธุ์ To-Ud3^{amp} สาเหตุโรคเหี่ยวของมะเขือเทศในสภาพเรือนทดลอง

ผลการศึกษาระดับอาการของโรคหลังการปลูกเชื้อ สัปดาห์ที่ 2 หลังการทดลอง กรรมวิธีที่ใส่เชื้อเพียงอย่างเดียวแสดงอาการของโรคระดับความรุนแรงเท่ากับ 1.38 สัปดาห์ที่ 3 (ภาพที่ 8) หลังการปลูกเชื้อกรรมวิธีที่ใส่เชื้อเพียงอย่างเดียวมีระดับอาการของโรครุนแรงสูงสุดที่ระดับ 2.40 รองลงมาได้แก่กรรมวิธีสารสกัดขวงเจียและยูคาลิปตัสมีระดับความรุนแรงที่ระดับ 1.33 ส่วนกรรมวิธีโซเดียม ซิลิเคต กรรมวิธีชาลิซิก แอซิคร่วมกับสารสกัดขวงเจีย กรรมวิธีโซเดียมซิลิเคตร่วมกับสารสกัดขวงเจียและกรรมวิธีโซเดียม ซิลิเคตร่วมกับสารสกัดยูคาลิปตัส มีระดับความรุนแรงเท่ากันที่ระดับ 1.15 สัปดาห์ที่ 4 หลังการปลูกเชื้อระดับความรุนแรงเพิ่มขึ้นในทุกกรรมวิธีทดลอง ยกเว้นกรรมวิธีโซเดียม ซิลิเคตร่วมกับสารสกัดยูคาลิปตัสที่ระดับความรุนแรงคงที่ที่ระดับ 1.15 สัปดาห์ที่ 5 หลังการปลูกเชื้อทุกกรรมวิธีการทดลองสามารถชะลอระดับความรุนแรงของโรคได้โดยคู่ได้จากกรรมวิธีควบคุมที่ใส่เชื้อเพียงอย่างเดียวมีระดับความรุนแรงสูงสุดที่ระดับ 3.60 รองลงมาได้แก่กรรมวิธีด้วยชาลิซิก แอซิคและโซเดียม ซิลิเคตมีระดับความรุนแรงที่ระดับ 3.25 และ 3.10 ตามลำดับที่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ส่วนกรรมวิธีสารสกัดขวงเจียและสารสกัดยูคาลิปตัสมีระดับความรุนแรงที่ระดับ 2.50 และ 2.44 ตามลำดับและไม่แตกต่างกันทางสถิติ กรรมวิธีโซเดียม ซิลิเคตร่วมกับสารสกัดขวงเจียมีระดับความรุนแรงที่ระดับ 1.6 และกรรมวิธีโซเดียม ซิลิเคตร่วมกับสารสกัดยูคาลิปตัส กรรมวิธีชาลิซิก แอซิคร่วมกับสารสกัดขวงเจียและกรรมวิธีชาลิซิก แอซิคร่วมกับสารสกัดยูคาลิปตัสมีระดับความรุนแรงที่ระดับ 1.55, 1.50 และ 1.50 ตามลำดับซึ่งไม่แตกต่างทางสถิติ สัปดาห์ที่ 6 หลังการปลูกเชื้อทุกกรรมวิธีการทดลองมีระดับความรุนแรงของโรคเพิ่มขึ้น ซึ่งกรรมวิธีควบคุมที่ใส่เชื้อเพียงอย่างเดียวมีระดับความรุนแรงสูงสุดที่ระดับ 4.50 รองลงมาได้แก่กรรมวิธีชาลิซิก แอซิคมีระดับความรุนแรงที่ระดับ 4.00 กรรมวิธีสารสกัดยูคาลิปตัสมีระดับความรุนแรงที่ระดับ 3.44 กรรมวิธีโซเดียม ซิลิเคตและกรรมวิธีสารสกัดขวงเจียมีระดับความรุนแรงเท่ากันที่ระดับ 3.33 กรรมวิธีชาลิซิก แอซิคร่วมกับสารสกัดขวงเจียและกรรมวิธีชาลิซิก แอซิคร่วมกับสารสกัดยูคาลิปตัสมีระดับความรุนแรงที่ระดับ 2.65 และ 2.69 ตามลำดับ โดยไม่แตกต่างทางสถิติ ส่วนกรรมวิธีโซเดียม ซิลิเคตร่วมกับสารสกัดขวงเจีย และกรรมวิธีโซเดียม ซิลิเคตร่วมกับสารสกัดยูคาลิปตัสมีระดับความรุนแรงของโรคต่ำสุดที่ระดับ 2.25 และ 2.20 ตามลำดับ โดยแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากกรรมวิธีควบคุมที่ใส่เชื้อเพียงอย่างเดียวที่มีระดับความรุนแรงที่ระดับ 4.50 (ตารางที่ 11)

การศึกษาเปอร์เซ็นต์การรอดตายของต้นมะเขือเทศพบว่ากรรมวิธีโซเดียมซลิเคตร่วมกับสารสกัดขวงเจียและกรรมวิธีโซเดียมซลิเคตร่วมกับสารสกัดยูคาลิปตัสมีมะเขือเทศรอดตายสูงสุด 78 เปอร์เซ็นต์รองลงมาได้แก่กรรมวิธีซาลิซิก แอซิดร่วมกับสารสกัดขวงเจียและกรรมวิธีซาลิซิก แอซิดร่วมกับสารสกัดยูคาลิปตัสมีมะเขือเทศรอดตาย 67 เปอร์เซ็นต์ ส่วนกรรมวิธีโซเดียมซลิเคตร่วมกับสารสกัดขวงเจียมีมะเขือเทศรอดตาย 44 เปอร์เซ็นต์ กรรมวิธีซาลิซิก แอซิดและกรรมวิธีสารสกัดยูคาลิปตัสมีมะเขือเทศรอดตายเท่ากันที่ 33 เปอร์เซ็นต์ ส่วนกรรมวิธีควบคุมที่ใส่เชื้อเพียงอย่างเดียวมีมะเขือเทศรอดตายเพียง 11 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 11)

การศึกษาปริมาณประชากรของเชื้อ *R. solanacearum* สายพันธุ์ To-Ud3^{amp} (RS) จากดินบริเวณรากมะเขือเทศ โดยปลูกเชื้อลงดินมีความเข้มข้นของสารละลายเชื้อ 7.15 Log CFU/ml ปริมาณ 100 มิลลิลิตรต่อดิน 1 กิโลกรัม เมื่อนำดินมาวิเคราะห์ปริมาณประชากรของเชื้อ *R. solanacearum* โดยวิธี dilution plate method บนอาหาร mSM-1 พบว่าหลังการปลูกเชื้อลงในดินปลูกมะเขือเทศ 1 สัปดาห์ทุกกรรมวิธีมีปริมาณประชากรเชื้อลดลงโดยกรรมวิธีที่ใส่สารสกัดยูคาลิปตัสมีปริมาณประชากรมากที่สุดเท่ากับ 2.88 Log CFU/g ของดิน ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติจากกรรมวิธีใส่เชื้อเพียงอย่างเดียวและกรรมวิธีอื่นๆ มีเพียงกรรมวิธีที่ราดซาลิซิก แอซิดร่วมกับใส่สารสกัดขวงเจียเท่านั้นที่แตกต่างทางสถิติจากกรรมวิธีอื่นๆ โดยปริมาณประชากรน้อยที่สุดเท่ากับ 1.5 Log CFU/g ของดิน สัปดาห์ที่ 2 หลังการปลูกเชื้อพบว่าปริมาณประชากรมีปริมาณลดลงสัปดาห์ที่ 1 โดยกรรมวิธีราดซาลิซิก แอซิดมีปริมาณประชากรเชื้อมากที่สุดเท่ากับ 2.61 Log CFU/g ของดิน แต่ไม่แตกต่างทางสถิติจากกรรมวิธีใส่สารเชื้อเพียงอย่างเดียวและกรรมวิธีอื่นๆ ยกเว้นกรรมวิธีราดซาลิซิก แอซิดร่วมกับสารสกัดขวงเจียที่มีปริมาณประชากรน้อยที่สุดเท่ากับ 2.06 Log CFU/g ของดิน โดยแตกต่างทางสถิติจากกรรมวิธีอื่น สัปดาห์ที่ 3 หลังการปลูกเชื้อพบว่าปริมาณประชากรในกรรมวิธีราดด้วยซาลิซิก แอซิดและโซเดียม ซลิเคตร่วมกับใส่สารเชื้อที่ไม่เปลี่ยนแปลงจากสัปดาห์ที่ 2 มากนักคือมีปริมาณประชากรเท่ากับ 2.18 และ 2.03 Log CFU/g ของดินตามลำดับ ซึ่งทั้งสองกรรมวิธีไม่แตกต่างทางสถิติจากกรรมวิธีใส่เชื้อเพียงอย่างเดียวที่มีปริมาณประชากร 2.08 Log CFU/g ของดิน สัปดาห์ที่ 4 หลังการทดลองกรรมวิธีราดด้วยโซเดียม ซลิเคตร่วมกับใส่สารสกัดขวงเจียมีปริมาณประชากรเชื้อมากที่สุดเท่ากับ 1.97 Log CFU/g ของดิน รองลงมาได้แก่กรรมวิธีใส่สารสกัดขวงเจียคือ 1.92 Log CFU/g ของดิน และกรรมวิธีราดซาลิซิก แอซิดร่วมกับสารสกัดยูคาลิปตัสคือ 1.88 Log CFU/g ของดิน ซึ่งปริมาณประชากรทั้ง 3 กรรมวิธีไม่แตกต่างกันทางสถิติ กรรมวิธีใส่เชื้อเพียงอย่างเดียวมีปริมาณประชากร 1.58 Log CFU/g ของดิน กรรมวิธีที่มีปริมาณประชากรน้อยที่สุดคือกรรมวิธีใส่สารสกัดขวงเจียมีประชากรเชื้อเพียง 1.03 Log CFU/g ของดิน ที่

แตกต่างทางสถิติจากกรรมวิธีใส่เชื้อเพียงอย่างเดียว สัปดาห์ที่ 5 และ 6 หลังการปลูกเชื้อมีปริมาณประชากรเชื้อลดลงหลังจากการปลูกเชื้อโดยกรรมวิธีที่มีปริมาณประชากรเชื้อน้อยที่สุดคือกรรมวิธีราดชาลิซิก แอซิดร่วมกับใส่สารสกัดขวงเจียที่มีปริมาณประชากรเชื้อเท่ากับ 1.44 และ 0.24 Log CFU/g ของดินตามลำดับ โดยแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญจากกรรมวิธีใส่เชื้อเพียงอย่างเดียวที่มีปริมาณประชากรเชื้อเท่ากับ 1.62 และ 1.49 Log CFU/g ของดินตามลำดับ (ตารางที่ 12)

ตารางที่ 11 ประสิทธิภาพของสารสกัดขวงเจียและยูคาลิปตัสร่วมกับซิลิกอนในการควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศสาเหตุจากเชื้อ *Ralstonia solanacearum* สายพันธุ์ To-Ud3^{amp} ในเรือนทดลองเป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์

กรรมวิธีทดลอง ^{1/}	ความรุนแรงของโรค ^{2/}						การอยู่รอด ^{3/} (เปอร์เซ็นต์)
	สัปดาห์						
	1	2	3	4	5	6	
น้ำ(control-)	1.00	1.00b	1.00e	1.00h	1.00e	1.00e	100a ^{4/}
RS(control+)	1.00	1.38a	2.40a	3.50a	3.60a	4.50a	11d
RS+Si1	1.00	1.00b	1.25c	2.5b	3.25b	4.00ab	33cd
RS+Si2	1.00	1.00b	1.15d	2.25c	3.10b	3.33bc	44c
RS+Za	1.00	1.00b	1.33b	1.33e	2.50c	3.33bc	44c
RS+ Ec	1.00	1.00b	1.33b	2.25c	2.44c	3.44b	33cd
RS+Si1+Za	1.00	1.00b	1.15d	1.25f	1.50ed	2.65c	67bc
RS+Si1+Ec	1.00	1.00b	1.25c	1.25f	1.50ed	2.69c	67bc
RS+Si2+Za	1.00	1.00b	1.15d	1.50d	1.60d	2.25de	78b
RS+Si2+Ec	1.00	1.00b	1.15d	1.15g	1.55ed	2.20de	78b

^{1/} Si1= ชาลิซิก แอซิด, Si2= โซเดียม ซิลิเกต, Za= ขวงเจีย, Ec= ยูคาลิปตัส

^{2/} ระดับความรุนแรงของโรคเหี่ยว : 1 = พืชไม่แสดงอาการเหี่ยว 2 = ใบแสดงอาการเหี่ยว 1 ใบ 3 = ใบแสดงอาการเหี่ยว 2-3 ใบ 4 = ใบแสดงอาการเหี่ยว 4 ใบหรือมากกว่า 5 = พืชตาย

^{3/} การอยู่รอดของมะเขือเทศ (เปอร์เซ็นต์) = $\frac{\text{จำนวนของมะเขือเทศที่รอดตาย (ต้น)}}{\text{จำนวนมะเขือเทศทดสอบทั้งหมด (ต้น)}} \times 100$

^{4/} ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) โดยวิธี Duncan's new multiple range test (Duncan,1997)

ตารางที่ 12 ปริมาณประชากรของเชื้อ *Ralstonia solanacearum* สายพันธุ์ To-Ud3^{amp} (RS) ในดิน
ปลูกมะเขือเทศในเรือนทดลองเป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์หลังการใส่สารสกัดและซิลิกอน

กรรมวิธี ทดลอง ^{1/}	ปริมาณเชื้อ <i>Ralstonia solanacearum</i> (CFU/ml) ^{2/}					
	สัปดาห์ 1	สัปดาห์ 2	สัปดาห์ 3	สัปดาห์ 4	สัปดาห์ 5	สัปดาห์ 6
น้ำ (control-)	0.00c	0.00c	0.00d	0.00d	0.00d	0.00e ^{3/}
RS (control+)	2.39abc	2.51ab	2.08a	1.58b	1.62ab	1.49a
RS+Si1	2.53ab	2.50ab	2.03a	1.54b	1.47bc	1.42b
RS+Si2	2.55ab	2.61a	2.18a	1.43b	1.53b	1.44ab
RS +Za	1.76abc	2.2ab	2.47b	1.03c	1.46bc	0.32d
RS+Ec	2.88a	2.53a	2.45b	1.92a	1.63a	1.02c
RS +Si1+Za	1.51bc	2.05b	2.45b	1.03c	1.44c	0.24de
RS+Si1+Ec	2.75ab	2.51ab	2.20c	1.88ab	1.47bc	0.99c
RS+Si2+Za	1.71abc	2.35ab	2.45b	1.67c	1.55b	0.31d
RS+Si2+Ec	2.53ab	2.59ab	2.41b	1.96a	1.62ab	1.01c

^{1/} Si1= ซาลิซิก แอซิด, Si2= โซเดียม ซิลิเกต, Za= ขวงเจีย, Ec= ยูคาลิปตัส

^{2/} ปลูกเชื้อลงดินโดยใส่เชื้อความเข้มข้น 7.16 Log CFU/ml จำนวน 100 ml/ดิน 1 kg.

^{3/} ค่าเฉลี่ยของปริมาณประชากรเชื้อ *Ralstonia solanacearum* สายพันธุ์ To-Ud3^{amp} (RS) ในดินปลูกมะเขือเทศในเรือนทดลองหลังการปลูกเชื้อ ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแนวดังนี้ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) โดยวิธี Duncan's new multiple range test (Duncan, 1997)

3.4 การทดสอบประสิทธิภาพของขวงเจียวร่วมกับซิลิคอนในการป้องกันและยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Ralstonia solanacearum* สายพันธุ์ To-Ud3^{amp}(RS) สาเหตุโรคเหี่ยวของมะเขือเทศในโรงเรือนปลูกพืชแบบการค้า ณ สถาบันเทคโนโลยีแห่งเอเชีย จ.ปทุมธานี

การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืชและการใช้สารสกัดจากพืชร่วมกับธาตุซิลิคอน 2 รูปแบบในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *R. solanacearum* สายพันธุ์ To-Ud3^{amp}(RS) ในมะเขือเทศภายใต้สภาพโรงเรือน หลังการปลูกเชื้อพบว่า ทุกกรรมวิธีสามารถลดการเกิดโรคเหี่ยวในมะเขือเทศได้ การใช้ธาตุซิลิคอนทั้ง 2 รูปแบบสามารถควบคุมการเกิดโรคได้สูงสุด มีมะเขือเทศรอดตาย 78 เปอร์เซ็นต์ ส่วนสารสกัดขวงเจียวมีมะเขือเทศรอดตาย 33 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเทียบกับกรรมวิธีควบคุมมีมะเขือเทศรอดตายเพียง 11 เปอร์เซ็นต์ โดยแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 13) ปริมาณประชากรเชื้อในสัปดาห์ที่ 8 หลังการปลูกเชื้อ พบว่าทุกกรรมวิธีการทดลองมีปริมาณประชากรเชื้อลดลงในทุกสัปดาห์ ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 8.87 Log CFU/ml จำนวน 300 มิลลิตร/ดิน 5 กิโลกรัมในกรรมวิธีโซเดียม ซิลิเคตและกรรมวิธีซาลิซิก แอซิดมีปริมาณประชากรเชื้อสัปดาห์ที่ 8 ต่ำสุดคือ 2.67 และ 2.68 Log CFU/g ของดินตามลำดับเมื่อเทียบกับกรรมวิธีควบคุมที่มีปริมาณประชากรเชื้อสูงสุด 2.75 Log CFU/g ของดินและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การศึกษาปริมาณผลผลิตของมะเขือเทศ (เฉลี่ยต่อต้น) กรรมวิธีซาลิซิก แอซิดและกรรมวิธีโซเดียมซิลิเคตมีปริมาณผลผลิตมะเขือเทศสูงสุด 150 กรัมและ 110 กรัม/ต้นตามลำดับ ส่วนกรรมวิธีซาลิซิกแอซิดร่วมกับขวงเจียวและกรรมวิธีโซเดียมซิลิเคตร่วมกับขวงเจียวมีผลผลิตมะเขือเทศ 50 และ 80 กรัมต่อต้นตามลำดับ ส่วนกรรมวิธีขวงเจียวมีผลผลิตมะเขือเทศปริมาณ 50 กรัม/ต้นเมื่อเทียบกับกรรมวิธีควบคุมที่ใส่เชื้อเพียงอย่างเดียวมีปริมาณผลผลิตมะเขือเทศเพียง 10 กรัมต่อต้น ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 14)

ตารางที่ 13 ประสิทธิภาพของขวงเจีย (*Zanthoxylum* sp.) และซิลิคอนในการควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศสาเหตุจากเชื้อ *Ralstonia solanacearum* สายพันธุ์ To-Ud3^{amp} (RS) ในมะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์ 3 ที่เวลา 2, 4, 6 และ 8 สัปดาห์หลังการปลูกเชื้อและผลผลิตการเก็บเกี่ยวที่ 8 สัปดาห์ ณ โรงเรือนสถาบันเทคโนโลยีแห่งเอเชีย จ.ปทุมธานี

กรรมวิธี ^{1/}	การอยู่รอดของมะเขือเทศ ^{2/} (เปอร์เซ็นต์)				ผลผลิตมะเขือเทศ ^{3/} (กรัม/ต้น)
	สัปดาห์ 2	สัปดาห์ 4	สัปดาห์ 6	สัปดาห์ 8	
RS (control+)	100a	78b	33b	11d ^{4/}	10d ^{4/}
RS + Si1	100a	100a	78a	78a	150a
RS+Si2	100a	100a	78a	78a	110b
RS +Za	100a	78b	33b	33b	50c
RS+ Si1+Za	100a	78b	33b	33b	50c
RS+Si2+Za	100a	78b	33b	22c	80bc

^{1/} Si1= ซาลิซิก แอซิด, Si2= โซเดียม ซิลิเกต, Za= ขวงเจีย

^{2/} การอยู่รอดของมะเขือเทศ (เปอร์เซ็นต์) =
$$\frac{\text{จำนวนของมะเขือเทศที่รอดตาย (ต้น)}}{\text{จำนวนมะเขือเทศทดสอบทั้งหมด (ต้น)}} \times 100$$

^{3/} ผลผลิตของมะเขือเทศต้นปกติค่าเฉลี่ย 120 กรัม/ต้น

^{4/} ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) โดยวิธี Duncan's new multiple range test (Duncan,1997)

ตารางที่ 14 ปริมาณประชากรเชื้อ *Ralstonia solanacearum* สายพันธุ์ To-Ud3^{amp}(RS) ในดินปลูกมะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์ 3 ที่เวลา 2, 4, 6 และ 8 สัปดาห์หลังการปลูกเชื้อ ณ โรงเรือนสถาบันเทคโนโลยีแห่งเอเชีย จ.ปทุมธานี

กรรมวิธีทดลอง ^{1/}	ปริมาณเชื้อ <i>Ralstonia solanacearum</i> (Log CFU/g) ^{2/}			
	สัปดาห์ 2	สัปดาห์ 4	สัปดาห์ 6	สัปดาห์ 8
RS (control+)	8.18a	6.95a	4.66a	2.75a ^{3/}
RS+Si1	7.25b	5.15c	3.39ab	2.68ab
RS+Si2	7.31 b	5.44bc	3.49ab	2.67ab
RS + Za	7.02 c	5.92b	3.65a	2.73a
RS + Si1 +Za	7.11 c	5.83b	3.50ab	2.70ab
RS+Si2+Za	7.18 c	6.59a	3.45ab	2.70ab

^{1/} Si1= ซาลิซิก แอซิด, Si2= โซเดียม ซิลิเกต, Za= ชวงเจีย

^{2/} ปลูกเชื้อลงดินโดยใส่เชื้อความเข้มข้น 8.87 Log CFU/ml จำนวน 300 ml/ดิน 5 kg

^{3/} ค่าเฉลี่ยของปริมาณประชากรเชื้อ *Ralstonia solanacearum* สายพันธุ์ To-Ud3^{amp} (RS) ในดินปลูกมะเขือเทศในเรือนทดลองหลังการปลูกเชื้อเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแนวดิ่ง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ(P<0.05) โดยวิธี Duncan's new multiple range test (Duncan, 1997)



ภาพที่ 8 ลักษณะอาการโรคเหี่ยวที่เกิดกับมะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์ 3 หลังปลูกเชื้อ *Ralstonia solanacearum* สายพันธุ์ To-Ud3^{amp} ที่เวลา 3 สัปดาห์ในเรือนทดลองทดลองภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ก. กรรมวิธีควบคุม (ปลูกเชื้อเพียงอย่างเดียว) ข. กรรมวิธีสารสกัดขวงเจีย
 ค. กรรมวิธีสารสกัดยูคาลิปตัส ง. กรรมวิธีราดชาลิซิก แอซิด
 จ. กรรมวิธีราดชาลิซิก แอซิดร่วมกับสารสกัดขวงเจีย
 ฉ. กรรมวิธีราดชาลิซิก แอซิดร่วมกับสารสกัดยูคาลิปตัส
 ช. กรรมวิธีราดโซเดียมซิลิเกต
 ซ. กรรมวิธีราดโซเดียมซิลิเกตร่วมกับสารสกัดขวงเจีย

4. การวิเคราะห์ทางพฤกษเคมี (phytochemical investigation)

4.1 การสกัด (extract)

ผลิตภัณฑ์ขวงเจีย (*Zanthoxylum* sp.) จากบริษัท ง่วนฮุน ปริมาณ 1 กิโลกรัม ใช้เอทิลแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ เป็นตัวทำละลายจะได้สารสกัดขวงเจียสีน้ำตาลแดง จากนั้นบรรจุในขวดและเก็บไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้อง

4.2 ตรวจสอบสารสำคัญทางพฤกษเคมีเบื้องต้น (phytochemical screening)

4.2.1 การตรวจสอบเบื้องต้น (preliminary test)

การตรวจสอบเบื้องต้นตรวจสอบด้วยปฏิกิริยาสีหรือการตกตะกอน โดยตรวจสอบกลุ่มสารที่สำคัญ 4 กลุ่ม คือ alkaloid, steroid, triterpenoid และ unsaturated lactone ring ซึ่งได้ผลการตรวจสอบคือ สารสกัดขวงเจียเมื่อหยดลงบนแผ่นกระดาษกรองสีขาวและตรวจสอบด้วย Dragendorff's reagent พบว่าเปลี่ยนเป็นสีส้ม แสดงว่าสารสกัดขวงเจียมีสารกลุ่ม alkaloid เป็นส่วนประกอบ ตรวจสอบด้วย Conc. sulfuric acid : acetic anhydride เพื่อตรวจหาสาร steroid และ triterpenoid พบว่าไม่พบการเปลี่ยนแปลงสีเกิดขึ้น และตรวจสอบสารกลุ่ม unsaturated lactone ring ด้วย Kedde-Reymond reagent พบว่าไม่พบการเปลี่ยนสีของสารสกัดขวงเจีย แสดงว่าสารสกัดขวงเจียเมื่อตรวจสอบเบื้องต้นพบเพียงสารประกอบกลุ่ม alkaloid เป็นส่วนประกอบ (ตารางที่ 15 ภาพที่ 9, 10 และ 11)

ตารางที่ 15 ผลการตรวจสอบสารสำคัญทางพฤกษเคมีเบื้องต้นของสารสกัดขวงเจีย (*Zanthoxylum* sp.)

สารประกอบ	นำยาตรวจสอบ	สีที่ปรากฏ
alkaloid	Dragendorff's reagent	สีส้ม
steroid	Conc. sulfuric acid : acetic anhydride	ไม่เปลี่ยนแปลง
triterpenoid		ไม่เปลี่ยนแปลง
unsaturated lactone ring	Kedde's reagent	ไม่เปลี่ยนแปลง
	Reymond's reagent	ไม่เปลี่ยนแปลง



ภาพที่ 9 ทดสอบพฏกษเคมีของสารสกัดขวงเจียเบื่องต้นเพื่อตรวจหาสารกลุ่ม alkaloid ด้วย Dragendorff's reagent บนกระดาษกรอง (ก) หยดสารสกัดขวงเจียเพียงอย่างเดียว (ข) ด้านบนหยด Dragendorff's reagent เพียงอย่างเดียว ส่วนด้านล่างหยดสารสกัดขวงเจีย และ Dragendorff's reagent ปรากฏสีที่เปลี่ยนเป็นสีส้มอิฐ



ภาพที่ 10 ทดสอบสารพฏกษเคมีของสกัดขวงเจียเบื่องต้นเพื่อตรวจหาสารกลุ่ม steroid และ triterpenoid ด้วย acetic anhydride และ conc. H_2SO_4 (ก) สารสกัดขวงเจีย (ข) สารสกัดขวงเจีย ทำปฏิกิริยากับ acetic anhydride และ conc. H_2SO_4 ไม่พบการเปลี่ยนแปลงสีของสารสกัดขวงเจีย



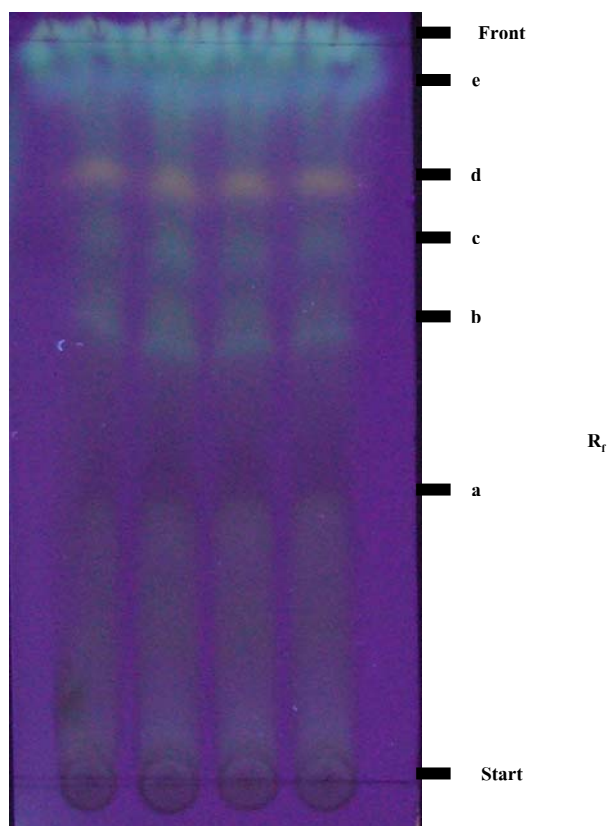
ภาพที่ 11 ทดสอบพฏกษเคมีของสารสกัดขวงเจียเบื้องต้นเพื่อตรวจสอบสารกลุ่ม unsaturated lactone ring ด้วย Kedde's reagent และ Raymond's reagent (ก) สารสกัดขวงเจีย (ข)สารสกัดขวงเจียทำปฏิกิริยากับ Kedde's reagent ไม่พบการเปลี่ยนแปลง (ค) สารสกัดขวงเจียทำปฏิกิริยากับ Raymond's reagent ไม่พบการเปลี่ยนแปลง

4.2.2 แยกสารสกัดหยาบด้วยเทคนิค Thin layer chromatography (TLC)

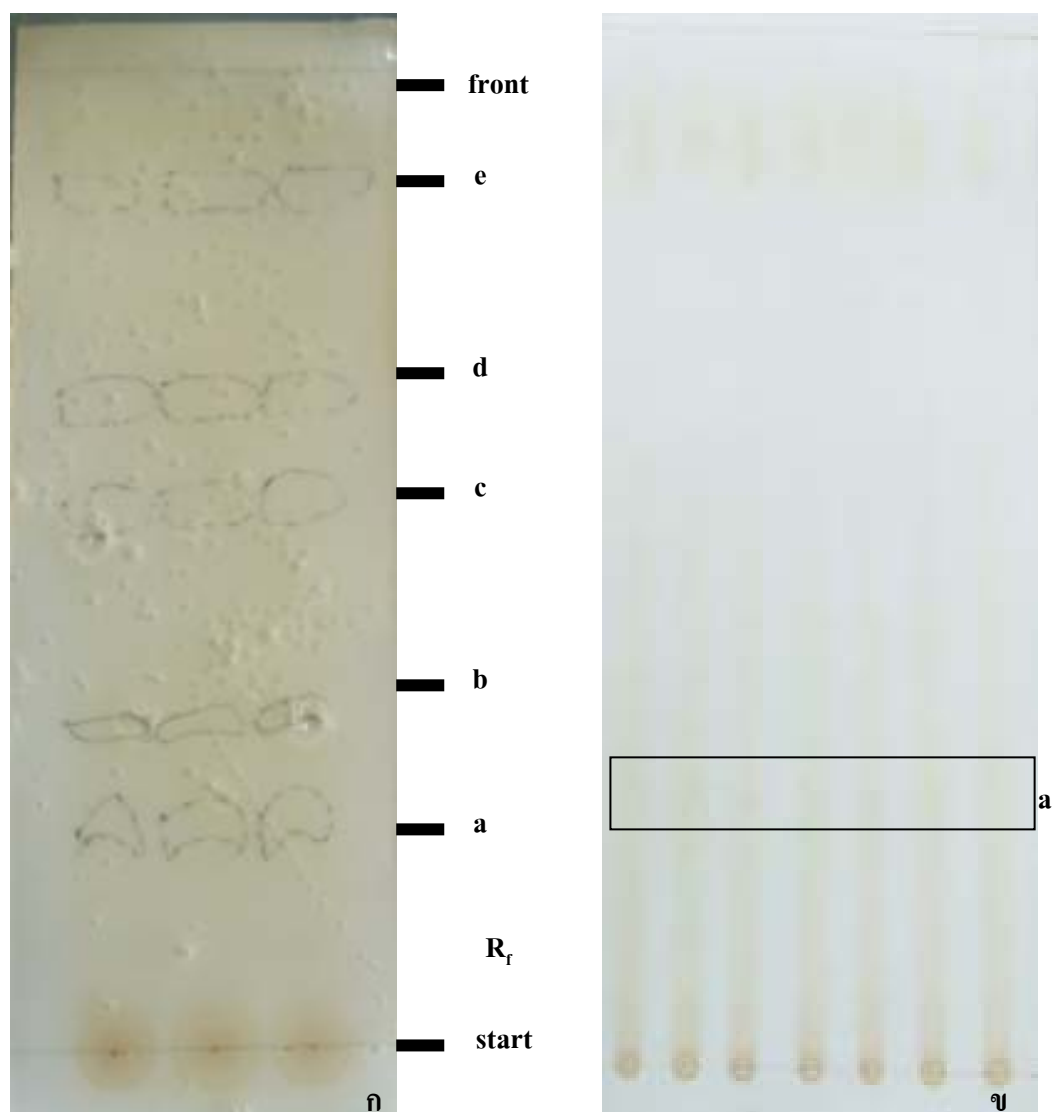
สารสกัดหยาบขวงเจียเมื่อนำไปตรวจสอบด้วยเทคนิค Thin layer chromatography โดยใช้สารสกัดขวงเจียที่สกัดในเอทิลแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ในการตรวจสอบซึ่งเมื่อทดสอบด้วยวิธี Paper disc diffusion พบว่ามีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *Ralstonia solanacearum* สายพันธุ์ To-Ud3^{amp} ในห้องปฏิบัติการ ใช้อัตราส่วนของคลอโรฟอร์มต่อเมทานอล (7:3) เป็น solvent system ในการ development TLC เมื่อตรวจสอบการเรืองแสงด้วยรังสีอัลตราไวโอเลตความยาวคลื่นแสง 365 นาโนเมตรของสารสกัดหยาบมี 5 ตำแหน่ง คือ a, b, c, d และ e มีค่า R_f คือ 0.36, 0.54, 0.64, 0.75 และ 0.93 ตามลำดับ (ภาพที่ 12)

4.3 ศึกษาคุณสมบัติของสารสกัดจากพืชในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Ralstonia solanacearum* สายพันธุ์ To-Ud3^{amp}

ทดสอบสารออกฤทธิ์ที่เกิดขึ้นการยับยั้งบนแผ่น TLC จากนั้นนำแผ่น TLC ที่ develop มาเชื่อมด้วยแสงอัลตราไวโอเลตจากนั้นนำอาหาร TTC ที่หลอมแล้วผสมเชื้อ *R. solanacearum* สายพันธุ์ To-Ud3 เททับบางๆบนแผ่น TLC แล้วบ่มไว้ 48 ชั่วโมง ผลการทดลองพบว่าสารสกัดที่ develop บนแผ่น TLC ไม่สามารถยับยั้งเชื้อได้ โดยสังเกตจากบริเวณยับยั้งที่ไม่ปรากฏบนแผ่น TLC และเมื่อนำแผ่น TLC ไปพ่นด้วย Dragendorff's reagent ผลที่ได้คือ แผ่น TLC เปลี่ยนเป็นสีส้มที่ตำแหน่ง a มีค่า R_f 0.36 (ภาพที่ 13)



ภาพที่ 12 สารทุติยภูมิจากขวงเจีย โดยใช้สารสกัดหยาบขวงเจียใช้เอทิลแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์เป็นตัวทำละลาย develop TLC ใน solvent system CHCl_3 : MeOH (7:3) เมื่อตรวจสอบการเรืองแสงด้วยรังสีอัลตราไวโอเลตความยาวคลื่นแสง 365 นาโนเมตร ของสารสกัดหยาบพบสารเรืองแสง 5 ตำแหน่ง คือ a, b, c, d และ e มีค่า R_f เท่ากับ 0.36, 0.54, 0.64, 0.75 และ 0.93 ตามลำดับ



ภาพที่ 13 ทดสอบสารออกฤทธิ์ของสารสกัดขวงเจียที่แสดงการยับยั้งบนแผ่น TLC โดยเทอาหาร TTC ที่หลอมแล้วผสมเชื้อ *Ralstonia solanacearum* สายพันธุ์ To-Ud3^{amp} ทับบางๆ บนแผ่น TLC แล้วบ่มไว้ 48 ชั่วโมง (ก) ไม่สามารถยับยั้งเชื้อได้โดยสังเกตจากบริเวณยับยั้งที่ไม่ปรากฏบนแผ่น TLC (ข) แผ่น TLC ที่พ่นด้วย Dragendorff's reagent ปรากฏสีน้ำตาลที่ค่า R_f 0.36

วิจารณ์

ข้อมูลทางการแพทย์กล่าวถึงประสิทธิภาพของพืชสมุนไพรในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ทั้งเชื้อราและแบคทีเรีย จึงได้นำพืชสมุนไพรมาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Ralstonia solanacearum* สายพันธุ์ To-Ud3^{amp} (RS) ในห้องปฏิบัติการ โดยวิธี paper disc diffusion โดยคัดเลือกสารสกัดจากพืช 9 ชนิด ได้แก่ ขวงเจีย (*Zanthoxylum* sp.) พลู่ (*Piper betle*) สะพลู่ (*Piper sarmentosum*) ยูคาลิปตัส (*Eucalyptus camaldulensis*) สะเดา (*Azadirachta indica*) การเวก (*Artabotrys hexapetalus*) มังคุด (*Garcinia mangostana*) กระดังงา (*Peperomia pellucida*) และฝรั่ง (*Psidium guajava*) สารสกัดจากพืชที่มีประสิทธิภาพสูงสุดในการยับยั้งเชื้อ 5 อันดับแรกได้แก่ สารสกัดฝรั่ง ยูคาลิปตัส พลู่ ขวงเจียและการเวก ซึ่งสารสกัดทั้ง 9 ชนิดนี้มีบางชนิดที่สามารถยับยั้งเชื้อ *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* และเชื้อ *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* ได้ เช่น สารสกัดจากพลู่ ยูคาลิปตัส ฝรั่ง สะเดาและมังคุด จากนั้นเมื่อทดสอบประสิทธิภาพสารสกัดจากพืชหลังเก็บรักษาไว้เป็นระยะเวลา 4 เดือนพบว่าสารสกัดทุกชนิดมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อเพิ่มขึ้นซึ่งสอดคล้องกับ อุไรวรรณ (2544) รายงานว่าเมื่อเก็บพืชไว้นาน 4 เดือนประสิทธิภาพการยับยั้งไม่แตกต่างกัน และเมื่อเก็บไว้นาน 5 และ 8 เดือนพืชมีประสิทธิภาพลดลง วันดี (2542) กล่าวว่าความคงทนของสมุนไพร หากเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง สมุนไพรจะมีความคงทนแตกต่างกันตามองค์ประกอบทางเคมี ดังนี้ สมุนไพรที่มีแอลคาลอยด์มีความคงทน 3 ปี สมุนไพรที่มีแอนทราควิโนนมีความคงทน 3-5 ปี สมุนไพรที่มีน้ำมันหอมระเหยมีความคงทน 1.5-2 ปี สมุนไพรที่มีสารขมมีความคงทน 1.5-3 ปี สมุนไพรที่มีฟลาโวนอยด์มีความคงทน 5 ปี เป็นต้น ขณะเก็บรักษายาของประกอบเคมีของสมุนไพรจะเปลี่ยนแปลงไปไม่มากนักน้อย เช่น สูญเสียแทนนิน ไกลโคไซด์ น้ำมันหอมระเหย ทำให้คุณสมบัติทางเภสัชวิทยา ลดลง นอกจากนี้การเปลี่ยนแปลงของสารที่เกิดจากการหมักเกี่ยวข้องกับเอนไซม์และออกซิเจนในอากาศ ทำให้เกิดการย่อยสลายของกรดอะมิโนและกรดไขมัน โครงสร้างของสารออกฤทธิ์ และอาจเกิดในช่วงเวลาที่ไม่แน่นอน และอาจจะเกิดได้ในขณะเก็บรักษาพืชสมุนไพร

การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *R. solanacearum* สายพันธุ์ To-Ud3^{amp} ในอาหารเลี้ยงเชื้อโดยใช้สารสกัดขวงเจีย พลู่ ยูคาลิปตัส ฝรั่งและการเวก ที่ความเข้มข้น 2, 4, 6, 8 และ 10 เปอร์เซ็นต์ในอาหารเลี้ยงเชื้อพบว่าสารสกัดพืชทุกชนิดที่ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ในอาหารเลี้ยงเชื้อสามารถลดปริมาณประชากรเชื้อได้เมื่อเทียบกับกรรมวิธีควบคุม ส่วนสารสกัดการเวกที่ความเข้มข้น 6 เปอร์เซ็นต์ในอาหารเลี้ยงเชื้อ ไม่มีปริมาณประชากรเชื้อเหลืออยู่และเมื่อเพิ่มความเข้มข้นสารสกัด

จากพืชทุกชนิด 10 เปอร์เซ็นต์ในอาหารเลี้ยงเชื้อพบว่าไม่มีปริมาณประชากรเชื้อเหลืออยู่ในทุกกรรมวิธีการทดลอง ทั้งนี้เมื่อวัดค่าความเป็นกรดเป็นด่าง พบว่ามีค่าความเป็นกรดสารสกัดจากพืชทุกความเข้มข้นในอาหารเลี้ยงเชื้อมีค่าเพิ่มขึ้นซึ่งสอดคล้องกับ Nalina and Rahim (2007) ที่รายงานว่าสารสกัดจากพืชที่มีสารพวก fatty acid เป็นองค์ประกอบจะมีฤทธิ์เป็นกรดซึ่งสามารถยับยั้งแบคทีเรียได้โดยเกิดสภาวะค่าความเป็นกรดเพิ่มขึ้นส่งผลให้เชื้อแบคทีเรียปลดปล่อยพลังงานออกมาปริมาณมากเพื่อยับยั้งสภาพความเป็นกรด ซึ่งไปมีผลต่ออัตราการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย (Log phase) ลดลงส่งผลให้ปริมาณประชากรลดลงในกรณีที่มีการเติมสารสกัดพืชที่มีสารพวก fatty acid เป็นส่วนประกอบ ส่วนประสิทธิภาพของสารสกัดพืชในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *R. solanacearum* สายพันธุ์ To-Ud3^{amp} ในดินในสภาพห้องปฏิบัติการ โดยสารสกัดขวงเจีย สารสกัดพลู สารสกัดยูคาลิปตัส สารสกัดฝรั่งและสารสกัดการเวก ปริมาณ 1, 2, 3, 4 และ 5 มิลลิลิตรพบว่าในสัปดาห์ที่ 2 และสัปดาห์ที่ 4 หลังการทดลองสารสกัดขวงเจีย 1 มิลลิลิตรมีปริมาณประชากรเชื้อต่ำสุด ที่ปริมาณสารสกัดพืชที่ปริมาณ 2-5 มิลลิลิตรมีผลในการลดปริมาณเชื้อในดินทุกสัปดาห์การทดลอง ผลจากการทดลองจึงคัดเลือกสารสกัดขวงเจียไปใช้ในการทดลองในเรือนทดลองทางการค้าเนื่องจากใช้ในปริมาณน้อยแต่สามารถยับยั้งปริมาณเชื้อได้ ซึ่งแม้จะไม่สามารถกำจัดประชากรเชื้อให้หมดไปได้แต่ก็สามารถควบคุมให้ปริมาณลดลงทำให้ไม่เพียงพอต่อการก่อโรคได้

การควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศสาเหตุจากเชื้อ *R. solanacearum* สายพันธุ์ To-Ud3^{amp} ในเรือนทดลองโดยการใช้สารสกัดจากพืช 5 ชนิดได้แก่ ขวงเจีย พลู ยูคาลิปตัส ฝรั่งและการเวก สารสกัดจากพืชทุกชนิดสามารถควบคุมโรคได้ โดยสารสกัดขวงเจียมีประสิทธิภาพสูงสุดในการควบคุมโรคมีการรอดตาย 44 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ยังสามารถลดระดับความรุนแรงของโรคได้ทุกสัปดาห์ ซึ่งสอดคล้องกับ ดวงกมล(2548) ที่ใช้สารสกัดจากขวงเจียในการควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อ *R. solanacearum* พบว่าสามารถควบคุมการเกิดโรคเหี่ยวได้ดี มะเขือเทศรอดตาย 70 เปอร์เซ็นต์ สารสกัดฝรั่งยูคาลิปตัสและสารสกัดพลูมีเส้นผ่าศูนย์กลางการยับยั้งสูงกว่าสารสกัดขวงเจียในห้องปฏิบัติการ แต่เมื่อนำไปทดสอบในสภาพเรือนทดลองพบว่ามีประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อต่ำกว่าสารสกัดขวงเจีย ทั้งนี้สารสกัดพืชที่มีประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อสูงในห้องปฏิบัติการไม่ได้มีประสิทธิภาพที่ดีเสมอไปเมื่อนำไปทดสอบการยับยั้งเชื้อในสภาพเรือนทดลอง เนื่องจากสารทุติยภูมิของพืชแต่ละชนิดมีส่วนประกอบของสารออกฤทธิ์ต่อเชื้อจุลินทรีย์ที่แตกต่างกันเช่น สารสกัดพลูมีสารประกอบพวก fatty acid ที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียโดยเพิ่มความเป็นกรด (pH) บนผิวรอบผนังเซลล์และเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรียให้สูงขึ้น (Hayes and Berkovitz, 1979) ส่วนสารสกัดยูคาลิปตัสพบว่ามีสารพวก Volatile oil เป็นองค์ประกอบที่ออกฤทธิ์

ต่อเชื้อแบคทีเรีย (Babayi *et al*, 2004) ที่สามารถระเหยได้ง่ายในธรรมชาติ จึงทำให้ไม่คงทนเมื่อนำไปใช้ในเรือนทดลองทำให้ประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อลดลง ส่วนสารสกัดขวงเจีย (*Zanthoxylum* species) มีสารออกฤทธิ์ต่อแบคทีเรียคือสารพวกกลุ่ม alkaloid ซึ่งอยู่ในรูปอิสระ (free base alkaloid) ไม่ละลายน้ำหรือละลายได้น้อยมาก (Adesina, 2005) จึงทำให้มีความคงทนในธรรมชาติมากกว่าและเมื่อนำสารสกัดขวงเจียไปใช้ในเรือนทดลองทำให้มีประสิทธิภาพคงทนดีกว่าสารสกัดชนิดอื่น ส่วนประชากรของเชื้อ *R. solanacearum* สายพันธุ์ To-Ud3^{amp} ในดินปลูกมะเขือเทศ พบว่าหลังจากปลูกเชื้อสัปดาห์แรกมีปริมาณประชากรเชื้อในดินลดลง โดยสารสกัดขวงเจียมีปริมาณประชากรต่ำสุด ส่วนสัปดาห์ที่ 6 ของการทดลองปริมาณประชากรเชื้อในดินลดลง สารสกัดขวงเจียมีปริมาณประชากรต่ำที่สุด ประสิทธิภาพของสารสกัดขวงเจียมีผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *R. solanacearum* สายพันธุ์ To-Ud3^{amp} ทำให้ปริมาณประชากรเชื้อมีปริมาณน้อยกว่ากรรมวิธีอื่นๆ โดยปริมาณประชากรเชื้อในระดับที่ไม่สามารถก่อให้เกิดโรคหรือเกิดโรคแต่เกิดในระดับความรุนแรงต่ำ

การทดสอบประสิทธิภาพของซิลิกอนในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *R. solanacearum* สายพันธุ์ To-Ud3^{amp} ในเรือนทดลอง ใช้ซิลิกอนในการทดลอง 2 รูปแบบที่ความเข้มข้น 9 mM ได้แก่ ซาลิซิก แอซิด [salisic acid, Si(OH)₄] 9 กรัม/น้ำ 1 ลิตร และ โซเดียมซิลิเคต (sodium silicate, NaSiO₂) 560 ไมโครลิตร/น้ำ 1 ลิตร ซึ่งในห้องปฏิบัติการได้ทดลองประสิทธิภาพของซิลิกอนในการยับยั้งเชื้อ *R. solanacearum* พบว่าในความเข้มข้น 9 mM นั้นซิลิกอนไม่สามารถยับยั้งเชื้อได้ เมื่อทดสอบประสิทธิภาพของซิลิกอนในมะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์ 3 ในเรือนทดลองพบว่าซิลิกอนความเข้มข้นสูงกว่า 9 mM ทำให้ใบของมะเขือเทศแห้ง กรอบและตาย ดังนั้นการทดลองนี้จึงทดสอบใช้ซิลิกอนที่ความเข้มข้น 9mM ซึ่งสามารถควบคุมการเกิดโรคเหี่ยวได้ดี 78 เปอร์เซ็นต์ สอดคล้องกับ Diogo and Wydra (2007) ที่ใช้ธาตุซิลิกอนชักนำมะเขือเทศให้ต้านทานต่อเชื้อ *R. solanacearum* พบว่าซิลิกอนมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของ pectic cell wall ของมะเขือเทศ ช่วยลดการเกิดโรค 38.1 เปอร์เซ็นต์ ในพันธุ์ Kingkong (พันธุ์ค่อนข้างต้านทาน)และ 100เปอร์เซ็นต์ ในพันธุ์สาวาย 7998 (พันธุ์ต้านทาน)นอกจากนี้ยังพบว่าซิลิกอนไม่มีผลต่อปริมาณประชากรของเชื้อ ในการทดลองนี้พบว่าปริมาณประชากรเชื้อในกรรมวิธีที่ใช้ซิลิกอนทั้ง 2 รูปแบบไม่แตกต่างจากกรรมวิธีควบคุมที่ใส่เชื้อเพียงอย่างเดียวซึ่งสอดคล้องกับวาสนา(2548) รายงานว่าการใช้ซิลิกอนร่วมกับการใช้เชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* spp. ในการควบคุมโรคเน่าระดับดินและโรครากเน่าของมะเขือเทศจากเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* พบว่าช่วยลดการเกิดโรคได้ดีแต่ไม่มีผลต่อการการเพิ่มหรือลดลงของปริมาณเชื้อรา ทั้งที่ปริมาณประชากรไม่แตกต่างกันแต่การเกิดโรคแตกต่างกัน

อาจเป็นไปได้ว่าซิลิกอนส่งผลให้มะเขือเทศเกิดความต้านทานต่อการเข้าทำลายของเชื้อ โดยมีชั้นคิวติเคิลที่แข็งแรงขึ้น ซิลิกอนมีการศึกษาและนำมาใช้ในการส่งเสริมความต้านทานในพืชใบเลี้ยงเดี่ยวหลายชนิด เช่น ในข้าว อ้อย โดยในข้าวมีการสะสมธาตุซิลิกอนไว้โดยเก็บไว้ในผนังชั้นเซลล์ผิวหรือจะสะสมที่เนื้อเยื่อท่อลำเลียง ช่องว่างระหว่างเซลล์และชั้นผิว (Hodson and Sangster, 1998) โดย Takahashi (1996) พบว่าธาตุซิลิกอนที่สะสมที่ชั้น epidermis ช่วยในการป้องกันการรุกรานของเชื้อราในอ้อยได้ด้วย ส่วนในใบเลี้ยงคู่มีการศึกษาไว้บ้าง เช่น ในแตงกวาโดย Fawe *et al.*, (1998) กล่าวว่าซิลิกอนช่วยชักนำให้เกิดความต้านทานต่อราน้ำค้างที่เข้าทำลายแตงกวาได้ทางใบ ซึ่งกระบวนการต้านทานต่อการเข้าทำลายของเชื้อรานี้พบว่าเป็นกระบวนการที่มีน้ำหนักรโมเลกุลต่ำ และหนึ่งในกระบวนการนั้นก็คือกระบวนการ phytoalexin โดยกระบวนการนี้จะปลดปล่อยสาร flavonol aglycone rhamnetin (3,5,3',4'-tetrahydroxy-7-O-methoxyflavone) ออกมาจากกระบวนการ การทดลองนี้ใช้ซิลิกอน 2 รูปแบบได้แก่ ซาลิซิก แอซิด [salisic acid, $\text{Si}(\text{OH})_4$] และ โซเดียมซิลิเกต (sodium silicate, NaSiO_2) ซึ่งการนำไปใช้แตกต่างกันโดยซาลิซิก แอซิดใช้ราดโคนต้น ส่วนโซเดียมซิลิเกตใช้พ่นทางใบพบว่าโซเดียมซิลิเกตที่ใช้พ่นทางใบให้ผลดีกว่าการใช้ซาลิซิก แอซิดราดโคนต้น อาจเกิดจากซิลิกอนในรูปของซาลิซิก แอซิดที่นำมาใช้เป็นแบบผงละลายน้ำค่อนข้างยากจึงเกิดตะกอนเวลานำไปใช้ทำให้พืชได้รับซิลิกอนในปริมาณไม่สม่ำเสมอ ส่วนโซเดียม ซิลิเกตเป็นแบบเหลวสามารถละลายในน้ำได้ทันทีทำให้เวลานีดพ่นสามารถกระจายได้อย่างสม่ำเสมอในทรงพุ่มของมะเขือเทศ

เมื่อทดสอบใช้สารสกัดขวงเจียและซิลิกอนในการควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศในเรือนทดลองปลูกพืชทางการค้า ณ สถาบันเทคโนโลยีแห่งเอเชีย (AIT) จ.ปทุมธานี พบว่าซิลิกอนทั้ง 2 รูปแบบสามารถควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศได้ 78 เปอร์เซ็นต์ ส่วนสารสกัดขวงเจียแบบผงที่ใช้ในการทดลองมีมะเขือเทศรอดตายเพียง 33 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งดวงกมล (2548) ใช้สารสกัดขวงเจียในรูปที่สกัดด้วยแอลกอฮอล์สามารถควบคุมการเกิดโรคเหี่ยวได้ดีโดยมีมะเขือเทศรอดตาย 70 เปอร์เซ็นต์ การใช้สารสกัดขวงเจียร่วมกับซิลิกอนมีประสิทธิภาพการควบคุมโรคได้ผลต่ำกว่าการใช้ในรูปแบบเดี่ยวซึ่งสอดคล้องกับดวงกมล (2548) รายงานว่าใช้สารสกัดจากขวงเจียเพียงอย่างเดียวสามารถควบคุมการเกิดโรคเหี่ยวของมะเขือเทศได้ดีกว่าการใช้ร่วมกับผงเชื้อปฏิปักษ์ *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ CH6 การทดลองสารสกัดขวงเจียร่วมกับซิลิกอนทำให้ประสิทธิภาพของซิลิกอนลดลงนั้นอาจเกิดจากซิลิกอนในรูปซาลิซิก แอซิด ($\text{Si}(\text{OH})_4$) ที่มีประจุ H^+ ถูกยึดจับด้วย alkaloid ของขวงเจียทำให้ไม่สามารถละลายน้ำ (insoluble) และไม่สามารถเข้าสู่ต้นพืช

การตรวจสอบสารสำคัญทางพฤกษเคมีเบื้องต้นของสารสกัดในพืช เพื่อเป็นข้อมูลเบื้องต้นว่ามีสารเคมีกลุ่มใดบ้างที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา ทำให้สามารถวางแผนการสกัดแยกตามคุณสมบัติทางเคมีของสารกลุ่มนั้น การตรวจสอบทางเคมีเบื้องต้นของกลุ่มสารต่างๆในพืชควรเป็นวิธีที่ง่ายเร็วและค่อนข้างจำเพาะกับกลุ่มสารที่ต้องการซึ่งในการทดลองนี้ใช้วิธีการตรวจสอบด้วยปฏิกิริยาสีหรือการตกตะกอนเป็นวิธีการตรวจสอบเบื้องต้น ซึ่งจัดเป็นวิธีที่ง่าย รวดเร็วมีความไว (sensitive) สูง แต่ไม่จำเพาะกับกลุ่มสารเคมีที่ต้องการ อาจเกิดผลบวกอำพราง (false-positive reaction) เนื่องจากสารประกอบอื่นที่ให้ผลเช่นเดียวกับสารตัวอย่างหรืออาจเกิดผลลบอำพราง (false-negative reaction) เนื่องจากสารประกอบอื่นที่ไม่ให้ผลเช่นเดียวกับสารตัวอย่าง สารสำคัญแต่ละชนิดจะไวต่อน้ำยาตรวจสอบไม่เท่ากันจึงต้องระมัดระวังเรื่องน้ำยาตรวจสอบที่ใช้ หากใส่น้ำยามากหรือน้อยเกินไปอาจจะไม่ได้ผลต้องอาศัยข้อมูลจากการทดลองอื่นร่วมด้วย จากการทดลองพบว่าสารสกัดขวงเจียที่ทดสอบด้วย Dragendorff's reagent พบว่ามีสารกลุ่ม alkaloid แต่ไม่สามารถระบุชนิดหรือกลุ่มได้ซึ่งให้ผลสอดคล้องกับผลการทดลอง Hu *et al.*, (2007) รายงานว่าพบสารกลุ่ม benzophenanthridine alkaloids และอนุพันธ์ใน *Zanthoxylum nitidum* (Roxb.) D.C. และ Adesina (2005) ที่รายงานว่า *Zanthoxylum* species เมื่อแยกสกัดสารออกมาแล้วพบว่ามีส่วนประกอบของ alkaloids, aliphatic and aromatic amides, lignans, coumarins, sterols และ carbohydrate residues ซึ่งนอกจากนี้ยังพบว่าสารกลุ่ม alkaloids ของ *Zanthoxylum* มีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรีย การทดสอบบนแผ่น TLC พบว่าไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้ออาจเนื่องมาจากวิธีการที่ใช้ทดสอบ bioassay อาจจะยังไม่เหมาะสมในการทดสอบ

สรุปและข้อเสนอแนะ

สรุป

สารสกัดจากพืช 9 ชนิด ได้แก่ พลู่ (*Piper betle*) ยูคาลิปตัส (*Eucalyptus camaldulensis*) การเวก (*Artabotrys hexapetalus*) ชะพลู (*Piper sarmentosum*) มังคุด (*Garcinia mangostana*) กระสัง (*Peperomia pellucida*) ขวงเจีย (*Zanthoxylum* sp.) ฝรั่ง (*Psidium guajava*) และสะเดา (*Azadirachta indica*) ที่มีประสิทธิภาพสูงสุดในการยับยั้งเชื้อ *Ralstonia solanacearum* สายพันธุ์ To-Ud3^{amp} (RS)5 อันดับแรกได้แก่ สารสกัดฝรั่ง ยูคาลิปตัส พลู่ ขวงเจียและการเวก นอกจากนี้มีสารสกัดบางชนิดที่สามารถยับยั้งเชื้อ *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* และเชื้อ *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* ได้ เช่น สารสกัดจากพลู่ ยูคาลิปตัส ฝรั่ง สะเดาและมังคุด เมื่อทดสอบการยับยั้งเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อ หลังเก็บรักษาไว้เป็นระยะเวลา 4 เดือนที่อุณหภูมิห้องมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ RS เพิ่มขึ้นทุกเดือน โดยมีเปอร์เซ็นต์ของประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อเพิ่มขึ้นตามลำดับ ดังนี้ สารสกัดพลู่ การเวก ฝรั่ง ขวงเจียและยูคาลิปตัส

ประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืชในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *R. solanacearum* สายพันธุ์ To-Ud3^{amp} สารสกัดพืชทุกชนิดที่ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ในอาหารเลี้ยงเชื้อสามารถลดปริมาณประชากรเชื้อ ส่วนค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของสารสกัดจากพืชในอาหารเลี้ยงเชื้อพบว่าที่ค่าความเป็นกรดเพิ่มขึ้นจะพ้องกันกับปริมาณประชากรเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อ การยับยั้งการเจริญของเชื้อในดินในห้องปฏิบัติการสัปดาห์ที่ 2 และสัปดาห์ที่ 4 หลังการทดลอง ปริมาณ 1 มิลลิลิตรสารสกัดขวงเจียมีปริมาณประชากรเชื้อต่ำสุด สารสกัดพืชปริมาณ 2-5 มิลลิลิตรสามารถลดปริมาณเชื้อในดินได้ทุกสัปดาห์ของการทดลอง ประสิทธิภาพของสารสกัดพืชและซิลิโคนในการควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศสาเหตุจากเชื้อ *R. solanacearum* สายพันธุ์ To-Ud3^{amp} ในเรือนทดลองพบว่าซิลิโคนทั้ง 2 รูปแบบคือ ซาลิซิล แอซิด และโซเดียม ซิลิเคตมีประสิทธิภาพสูงสุดในการควบคุมโรคและผลผลิตมะเขือเทศเพิ่มขึ้น ส่วนการนำซิลิโคนมาใช้ร่วมกับสารสกัดขวงเจียพบว่าประสิทธิภาพในการควบคุมโรคลดลงกว่าการใช้ในรูปแบบเดี่ยว

ตรวจสอบสารสำคัญทางพฤกษเคมีเบื้องต้นของสารสกัดขวงเจียพบสารกลุ่ม alkaloid เป็นส่วนประกอบ เมื่อแยกสารสกัดหยาบด้วยเทคนิค Thin layer chromatography (TLC) ด้วยระบบ CHCl₃: MeOH อัตรา 17:3 เมื่อพ่นด้วย Dragendorff's reagent ปรากฏสีน้ำตาล ที่ค่า R_f 0.36

ข้อเสนอแนะ

ประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืชในห้องปฏิบัติการอาจให้ผลการยับยั้งเชื้อประสิทธิภาพดี แต่เมื่อนำไปใช้ในเรือนทดลองหรือในแปลงอาจให้ผลไม่ดีเท่าสภาพห้องปฏิบัติการ ทั้งนี้เนื่องจากในเรือนทดลองสภาพอากาศและแสงแดด และความชื้นอาจทำให้สภาพของสารเสื่อมสภาพหรือเปลี่ยนแปลงไปอยู่ในรูปอื่นได้ นอกจากนี้การนำสารสกัดจากพืชไปใช้ในสภาพจริงควรมีการทดลองปริมาณความเข้มข้นและอัตราการใช้ที่เหมาะสมในการนำไปใช้ ทั้งนี้เนื่องจากสารสกัดบางชนิดในความเข้มข้นที่ต่ำก็สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ ดังนั้นหากมีการใช้ความเข้มข้นหรืออัตราที่สูงเกินไปอาจทำให้สิ้นเปลือง หรือบางครั้งส่งผลกระทบต่อพืชปลูกและดินได้ นอกจากนี้การใช้สารสกัดจากพืชร่วมกับสารชนิดอื่นควรมีการศึกษาก่อนนำไปใช้ เนื่องจากการใช้ร่วมกันอาจทำให้ประสิทธิภาพเพิ่มขึ้นหรือในทางตรงข้ามอาจทำให้ประสิทธิภาพของสารนั้นๆลดลงกว่าการใช้ในรูปแบบเดี่ยว

การใช้ธาตุซิลิกอนในการเพิ่มความต้านทานการเข้าทำลายของโรคเหี่ยวของมะเขือเทศหากใช้ในเรือนทดลองในระบบน้ำหยดไม่ควรเลือกใช้ในรูปแบบของซิลิซิค แอซิดเนื่องจากตัวสารอยู่ในรูปผงละลายน้ำ แต่จะละลายน้ำไม่ดีส่วนใหญ่แล้วจะตกตะกอนทำให้สารละลายที่ได้มีความเข้มข้นไม่สม่ำเสมอ ควรเลือกใช้ในรูปแบบของซิลิเคียม ซิลิเคตเนื่องจากสารอยู่ในรูปของเหลว สามารถละลายน้ำได้ดีทั้งที่ทำได้ง่ายและสะดวกต่อการนำไปใช้

การตรวจสอบสารสำคัญทางพฤกษเคมีของขวงเจีย พบสารกลุ่ม alkaloid แต่ไม่สามารถระบุชนิดของกลุ่มสารได้ เนื่องจากวิธีการทดลองยังไม่เหมาะสมกับใช้ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย ดังนั้นควรศึกษาหาวิธีที่เหมาะสมกับการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียและควรมีการศึกษาในเชิงลึกต่อไป เพื่อสามารถสังเคราะห์สารที่ออกฤทธิ์ต่อเชื้อแบคทีเรียได้โดยตรง

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

ชลิดา เล็กสมบุญ, นิพนธ์ ทวีชัย และ วิชัย โหมสิทธิ์ตน. 2541. ผลของสารสกัดจากพืชสมุนไพรต่อการเจริญของแบคทีเรียสาเหตุโรคพืช ใน รายงานการประชุมทางวิชาการครั้งที่ 36 (สาขาพืช). มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 717 น.

ชวาลา บุณศิริ. 2531. โรคของพืชสวน. คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพฯ. 215 น.

ณัฐธิยา หาญณรงค์. 2550. การศึกษาสารทุติยภูมิจากเห็บที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อรา *Sphaceloma ampelinum* de Berry สาเหตุโรคสแคบขององุ่น. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ดวงกมล ยิ้มแย้ม. 2548. การจัดการโรคเหี่ยวของมะเขือเทศโดยวิธีผสมผสานภายใต้สภาวะโรงเรือน. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

นิพนธ์ ทวีชัย. 2544. หลักการโรคพืช ใน เอกสารประกอบการฝึกอบรมเชิงปฏิบัติการเรื่อง การใช้สารสกัดจากพืชในการยับยั้งเชื้อก่อโรค. สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, นครปฐม.

บุญส่ง คงลาทิพย์. 2526. การสกัดและการวิเคราะห์ทางปริมาณคุณภาพของน้ำมันหอมระเหยจากต้นมะแว้ง ใน โครงการวิจัยด้านชีวเกษตร. สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, นครปฐม.

ปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์. 2541. โรคเหี่ยวจากแบคทีเรียของปทุมมา (*Curcuma alismatifolia* Gagnep.) และการป้องกันกำจัด. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

พัชรินทร์ คงเปลี่ยน. 2540. การควบคุมโรคเหี่ยวจากเชื้อแบคทีเรียของมะเขือเทศโดยการจัดการดิน. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

พรทิพย์ วงศ์แก้ว, ศุภลักษณ์ สอกะวัดและวรรณทนา สันศิริ. 2540. การศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชสมุนไพรบางชนิดในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราสาเหตุโรคพืชที่สำคัญ. รายงานผลการวิจัยโดยได้รับผลการวิจัยโดยได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยสารวิชาการจากมหาวิทยาลัยขอนแก่น 67 น.

วงศ์ บุญสืบสกุล, วนิดา จิตะฐานและณัฐนิมา โหมยิตเจริญกุล. 2539. การศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืชธรรมชาติต่อการควบคุมโรคเหี่ยวของมันฝรั่งที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียในสภาพเรือนปลูกพืชทดลอง. รายงานผลงานวิจัย พ.ศ. 2539. กลุ่มงานแบคทีเรียวิทยา กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ. 151 น.

วงศ์ บุญสืบสกุล, สุเนตรา ภาวิจิตร และสุทธิพงษ์ ญาณวารี. 2540. การศึกษาสารธรรมชาติจากพืชบางชนิดและพืชอื่นๆ ต่อการควบคุมโรคเหี่ยวของมันฝรั่งที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย. รายงานผลงานวิจัย พ.ศ. 2540. กลุ่มงานแบคทีเรียวิทยา กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ. 162 น.

วาสนา ฤทธิ์ไธสง, วรรณวิทย์ อินทนู, จิระเดช แจ่มสว่าง และชวลิต สงประยูร. 2548. การควบคุมโรคเน่าระดับดินและโรครากเน่าของมะเขือเทศสาเหตุจากเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* ด้วยการใส่เชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* spp. ร่วมกับธาตุแคลเซียมและซิลิกอน. วารสารกำแพงแสน 3:1(8-17).

วันดี กฤษณพันธุ์. 2536. เภสัชวินิจฉัย: ยาและผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติ เล่ม 1 . ภาควิชาเภสัชวินิจฉัย คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล, กรุงเทพฯ. 171 น.

วิชา ซาลีพรหม. 2530. การทดสอบพันธุ์ของมะเขือเทศที่มีความต้านทานต่อโรคเหี่ยวที่เกิดจากแบคทีเรีย. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

วีณา จิระจรรย์กุล. 2542. ยาจากสมุนไพร. จุลสารข้อมูลสมุนไพร 16(1): 1-6.

สร้อยญา วัชรโรทัย. 2549. เอกสารประกอบการสอนรายวิชา พฤษเคมี 401561 . ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

สุชัยญา ฉายาขวลิต. 2527. การศึกษาโรคเหี่ยวของมะเขือเทศที่เกิดจากแบคทีเรีย. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สุภกิจ กิจบุญโญ. 2536. การประเมินความเสียหาย การเปลี่ยนแปลงประชากรและการป้องกันกำจัดเชื้อ *Pseudomonas solanacearum* E.F.Smith. ในแปลงทดสอบโรคเหี่ยวจากแบคทีเรียของมะเขือเทศ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ศศิธร จันทรโอทาน. 2525. การศึกษาสาเหตุโรคเหี่ยวหรือแฉ่งเน่าของพืชที่เกิดจากแบคทีเรีย. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ศักดิ์ สุนทรสิงห์. 2530. โรคของผักและการป้องกันกำจัด. ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

ศุภลักษณ์ สอกะวัต. 2536. โรคผักตระกูลพริกและมะเขือเทศ. ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น, ขอนแก่น.

อุไรจนา กสิกรรมไพบูลย์. 2534. ความสามารถของเชื้อแบคทีเรียบริเวณรากและดินปลูกมะเขือเทศในการควบคุมทางชีวภาพต่อเชื้อแบคทีเรียโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ *Pseudomonas solanacearum* E.F.Smith. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

อุไรวรรณ ดวงสิน. 2544. การศึกษาประสิทธิภาพสารสกัดจากพืชในการควบคุมโรคเหี่ยวจากแบคทีเรียของมะเขือเทศ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

Adesina, K. S. 2005. The Nigerian Zanthoxylum; Chemical and biological. **Africa Journal Traditional. Complementary and Alternative Medicines**. 2(3): 282 – 301.

Babayi, H., I. Kolo, J. I. Okogun and U. J. J. Ijah. 2004. The antimicrobial activities of methanolic extracts of *Eucalyptus camaldulensis* and *Terminalia catappa* against some pathogenic microorganisms. **BIOKEMISTRI**. 16(2):106-111.

- Chhetri, H.P., N.S. Yogi, J. Sherchan, K.C. Anupa, S. Mansoor and P. Thapa. 2008. Phytochemical and antimicrobial evaluations of some medicinal plants of Nepal. Kathmandu University. **Journal of Science, Engineering and Technology**. 1(4): 49-54.
- Dannon, E. and K. Wydra. 2004. Interaction between silicon amendment, bacterial wilt development and phenotype of *Ralstonia solanacearum* in tomato genotypes. **Physiological and Molecular Plant Pathology**. 64: 233-243.
- Datnoff, L.E., W. K. Seebold and J. F. V. Correa. 2001. The use of silicon for integrated disease management: reducing fungicide applications and enhancing host plant resistance. In: Datnoff L. E., Snyder G.H., Korndorfer G.H., editors. **Silicon in Agriculture**. The Netherlands: Elsevier Science. 171-183.
- Devi, L.R., M.R. Menon and R.S. Aiyer. 1981. Survival of *Pseudomonas solanacearum* in soil. **Plant and Soil**. 62(2): 167-182.
- Diogo, R.V.C. and K. Wydra. 2007. Silicon-induced basal resistance in tomato against *Ralstonia solanacearum* in relation to modification of pectic cell wall polysaccharide structure. **Physiol Mol Plant Pathol**. <http://dx.doi.org/10.1016/j.pmpp.2007.07.008>.
- Dixon, G. R. 1981. **Vegetable Crop Disease**. The Scientific and Medical Division, Hong Kong. 404.
- Enfinger, M. J., S. M. McCarter and C. A. Jaworski. 1979. Evaluation of chemical and application methods for control of bacterial wilt of tomato transplants. **Phytopathology**. 69: 637-640.
- Epstein, E. 1994. The anomaly of silicon in plant biology. **Proceedings of the National Academy of Sciences**. 91: 11-17.

- Fawe, A., M. Abou-Zaid, J.G. Menzies and R. R. Belanger. 1998. Silicon-Mediated Accumulation of Flavonoid Phytoalexins in Cucumber. **Phytopathology**. 88:396-401.
- Fawe, A., J.G. Menzies, M. Cherif and R.R. Belanger. 2001. Silicon and disease resistance in dicotyledons. In: Datnoff LE, Snyder GH, Korndorfer GH, editors. Silicon in Agriculture. The Netherlands: **Elsevier Science**. 159–169.
- Gamleil, A. and J.J. Stapleton. 1993. Effect of chicken compost or ammonium phosphate and solarization on pathogen control, rhizospheric microorganism and lettuce growth. **Plant Disease**. 77: 886-891.
- Granada, G.A. and L. Sequeira. 1983. A new selective medium for *Pseudomonas solanacearum*. **Plant Disease**. 67: 1084-1088.
- Hayes, M.L., B.K.B. Berkovitz. 1979. The reduction of fissure caries in Wistar rats by a soluble salt of nonanoic acid. **Arch Oral Biol**. 24: 663-666.
- Hayward, A. C. 1964. Characteristics of *Pseudomonas solanacearum*. **Journal of Applied Bacteriology**. 27: 265-277.
- He, L. Y. L. Sequeira and A. Kelman. 1983. Characteristics of strains of *Pseudomonas solanacearum* from China. **Plant Disease**. 67: 1357-1361.
- Henderson, W.R. and S.F. Jenkin. 1972. **Venus and Saturn**. N.c. Agri. Exp. Sta. Bull. 444.
- Hodson, M.J. and A.G. Sangster. 1998. Observations on the distribution of mineral elements in the leaf of wheat (*Triticum aestivum* L.) with particular reference to silicon. **Annals of Botany**. 62:463-471.

- Horstand, W. J. and H. Marschner. 1978. Effect of silicon and manganese tolerance of bean plants (*Phaseolus vulgaris* L.). **Plant Soil**. 50: 287-303.
- Hu, J., W. D. Zhang, Y. H. Shen, C. Zhang, L. Xu, L.H. Run, B. Wang and K.X. Xu. 2007. Alkaloids from *Zanthoxylum nitidum* (Roxb.)DC. **Biochemical Systematics and Ecology**. 35:114-117..
- Johnston, A. 1960. **A supplement to a host list of plant diseases in Malaya**. C.M.I. Mycol aper No.70.
- Jones, J. P., A. J. Overman and C. M. Geraldson. 1966. Effect of fumigants and plastic film on the control of several soil-born pathogens of tomato. **Phytopathology**. 56:929-932.
- Kelman, A. 1954. The relationship of pathogenicity in *Pseudomonas solanacearum* to colony appearance on a tetrazolium medium. **Phytopathology**. 44: 693-695.
- Kelman, A. and L.H. Person. 1961. Strain of *Pseudomonas solanacearum* differing in pathogenicity to tobacco and peanut. **Phytopathology**. 51:158-161.
- Ma, J., X. Jin, L. Yang and Z. Liu. 2004. Diarylheptanoids from the rhizomes of *Zingiber officinale*. **Phytochemistry**. 65(8):1137-1143.
- Maroquez, L., J. Agüero, I. Hernandez, G. Garrido, I. Martinez, R. Dieguez, S. Prieto, Y. Rivas, J. Molina-Torres, M. Curini and R. Delgado. 2005. Anti-inflammatory Evaluation and Phytochemical Characterization of some Plants of the *Zanthoxylum* genus. **Acta Farm. Bonaerense**. 24(3): 325-330.
- McCarter, S.M. 1976. Persistence of *Pseudomonas solanacearum* in artificially infested soil. **Phytopathology**. 66: 998-1000.

- Mew, T.W. and W.C. Ho. 1976. Varietal resistance to bacterial wilt tomato. **Plant Disease Reporter**. 60(3):264-268.
- Morel, F.A., C.A. Arujo, S.F. da U. Hoelzal, C.S.M. Solange, R. Zachia and N. R. Bastos. 2002. Antibacterial cyclopeptide alkaloids from the bark of *Condalia buxifolia*. **Phytochemistry**. 61(5): 561-566.
- Molina, T. J., C. A. Garcia and C. E. Ramirez. 1999. Antimicrobial Properties of Alkamides Present in Flavouring Plants Traditionally Used in Mesoamerica: Affinin and Capsaicin. **Journal of Ethnopharmacology**. 64:241-248.
- Nalina, T. and Z.H.A. Rahim. 2007. The Crude Aqueous Extract of *Piper betle* L. and its Antibacterial Effect Towar *Streptococcus mutans*. **American Journal of Biotechnology and Biochemistry**. 3(1):10-15.
- Pegg, K.G., M.L. Moffett and R.C. Colblbran. 1974. Disease of ginger in Queensland. **Queensland Agriculture. Journal**. 100:611-618.
- Quinon, V. L. and M. Aragaki. 1963. Bacterial wilt of bird of paradise caused by *Pseudomonas solanacearum*. **Phytopathology**. 53:1115-1116.
- Quinon, V. L., M. Aragaki and M. Ishii. 1964. Pathogenicity and serological relationships of *Pseudomonas solanacearum* in Hawii. **Phytopathology**. 54: 1096–1099.
- Richmond, K.E. and M.R Sussman. 2003. Got Silicon? The non-essential, beneficial plant nutrient. **Current Opinions in Plant Biology**. 6: 268-272.
- Rodrigues, F. A., F. X. R Vale, G. H. Korndörfer, A. S. Prabhu, L. E. Datnoff, A. M. A. Oliveira and L. Zambolin. 2003. Influence of silicon on sheath blight of rice in Brazil. **Crop Protection**. 22:23-29.

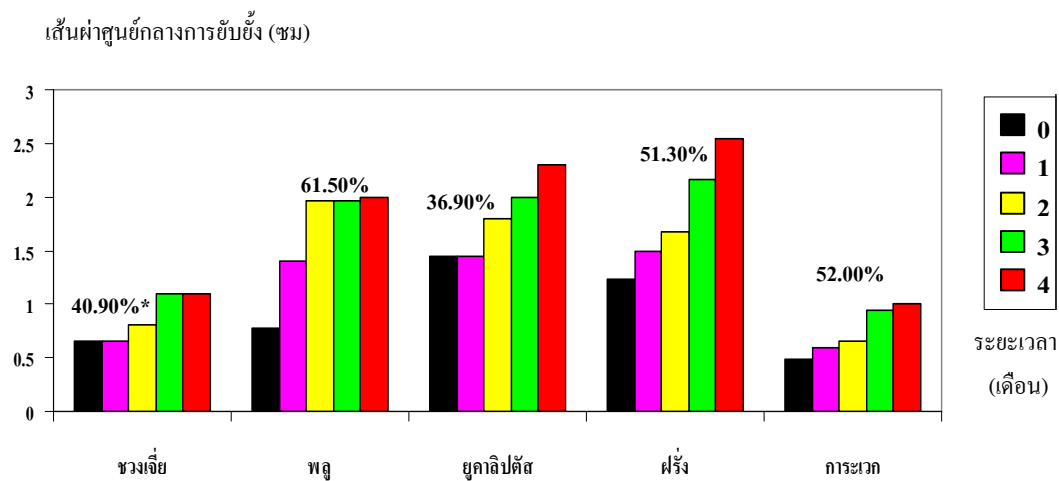
- Schuster, M. L. and D. P. Coyne. 1974 . Survival mechanism of phytopathogenic bacteria. Ann. Rev. **Phytopathology**. 12:199-246.
- Schaad, N.W., J.B. Jones, and W. Chun. 2001. **Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacterid**. Third Edition. APS PRESS.
- Smith, E.F. 1944. Control of bacterial wilt of tobacco as influenced by crop rotation and chemical treatment of the soil. **Cited** by A. Kelman. The bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum*. **N. Carolina Agr. Expt. Sta. Tech. Bull.** 99: 5-194.
- Stanford, E. E. and F. A. Wolf. 1917. Studies on *Bacterium solanacearum*. **Phytopathology**. 7:155-165.
- Swanson, J. K., J. Yao, J. Tans-Kersten and C. Allen. 2005. Behavior of *Ralstonia solanacearum* race 3 biovar 2 during latent and active infection of geranium. **Phytopathology**. 95:136-143.
- Takahashi, E. 1996. Uptake mode and physiological functions of silica. *In Science of the Rice Plant: Physiology (Food Agriculture)*. Policy Research Center, Tokyo Japan, 2: 420-433.
- Thaveechai, N. 1989. Laboratory Course on Bacterial Wilt of Tomato. **AVNET Germplasm Improvement Subnetwork Workshop. 18-28 Oct. 1989**, Kasetsart University, Thailand.
- Thompson, A. and A. Johnston. 1953. **A Host of Plant Disease in Malaya**. C.M.I. Mycol Paper No. 52.

Winstead, N.N. and A. Kelman. 1952. Inoculation techniques for evaluating resistance to *Pseudomonas solanacearum*. **Phytopathology**. 42: 628-634.

Yabuuchi, E., Y. Kosako, I. Yano, H. Hotta and Y. Nishiuchi. 1995. Transfer of two *Burkholderia* and an *Alcaligenes* species to *Ralstonia* gen. nov.: proposal of *Ralstonia pickettii* (Ralston, Palleroni and Doudoroff 1973) comb. nov., *Ralstonia solanacearum* (Smith 1896) comb. nov. and *Ralstonia eutropha* (Davis 1969) comb. nov. **Microbiol. Immuno**. 39(11): 897-904.

ภาคผนวก

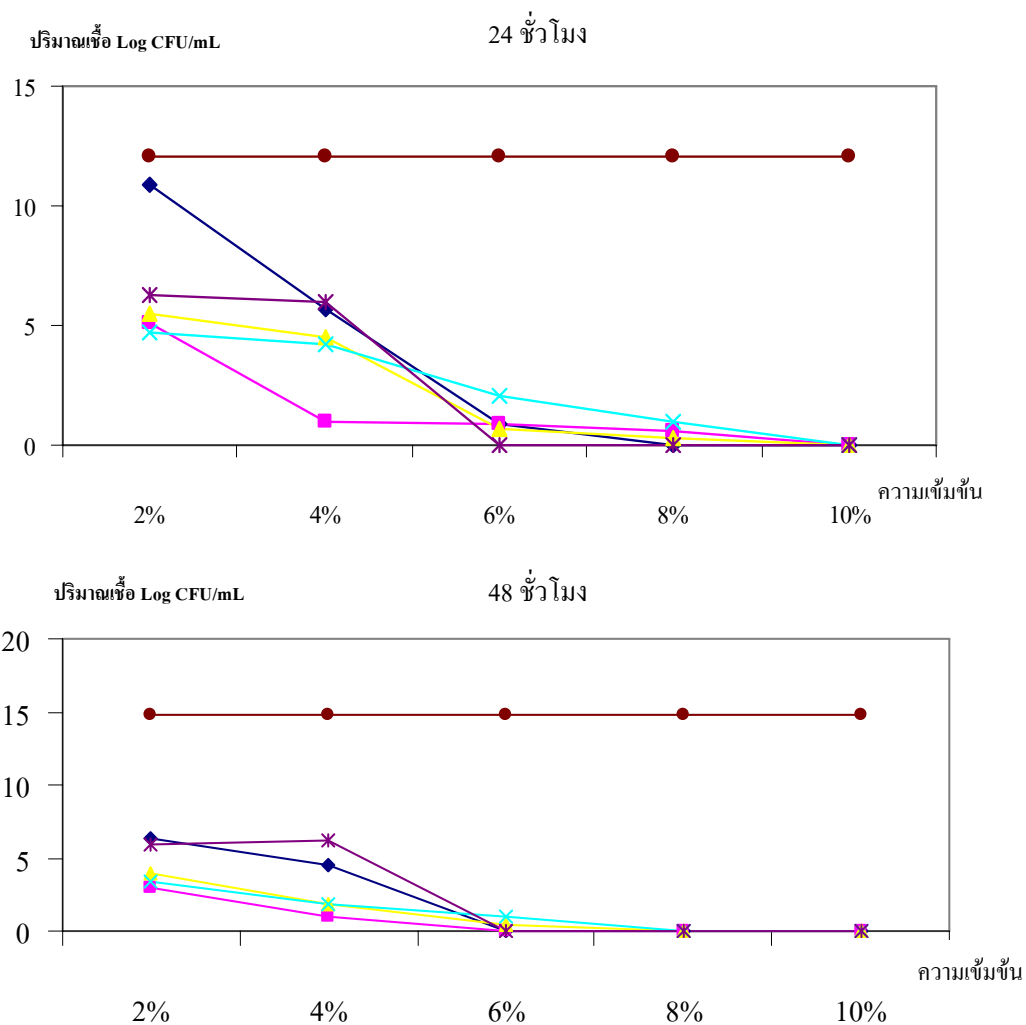
ภาคผนวกภาค ก



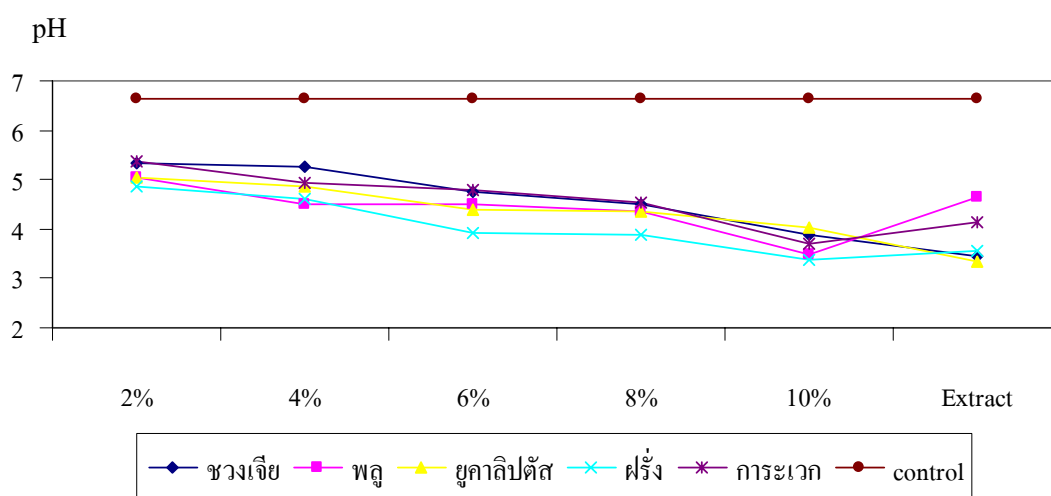
ภาพผนวกที่ 1 เปอร์เซนต์การเพิ่มขึ้นของประสิทธิภาพสารสกัดจากพืชที่เก็บรักษาระยะเวลา 4 เดือนในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *R. solanacearum* สาเหตุโรคเหี่ยวของมะเขือเทศในห้องปฏิบัติการ

* หมายเหตุ เปอร์เซนต์การเพิ่มขึ้นของประสิทธิภาพของสารสกัดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ

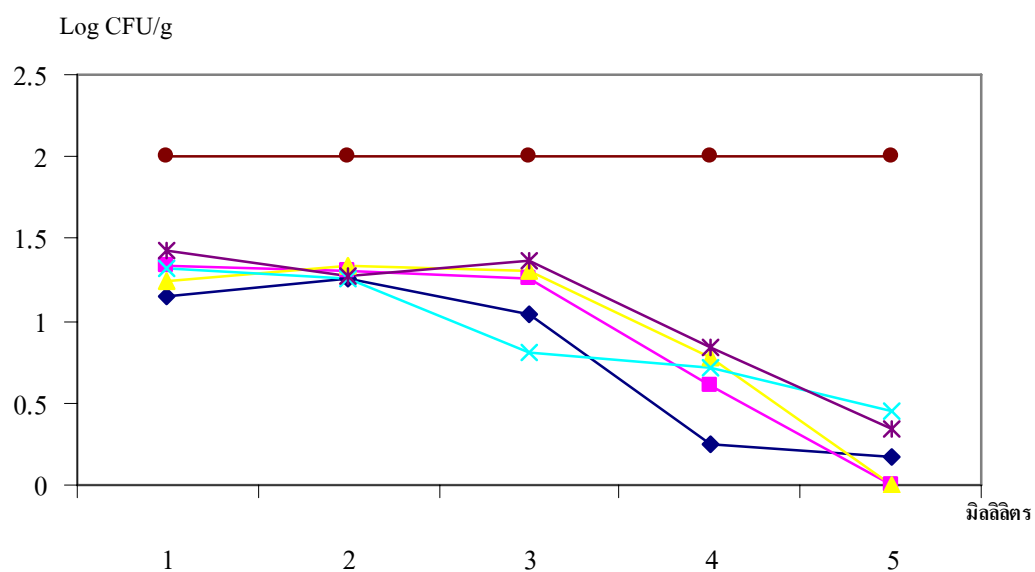
$$\text{หาได้จากสูตร} \quad \frac{\text{เดือนสุดท้าย} - \text{เดือนเริ่มต้น}}{\text{เดือนสุดท้าย}} \times 100$$



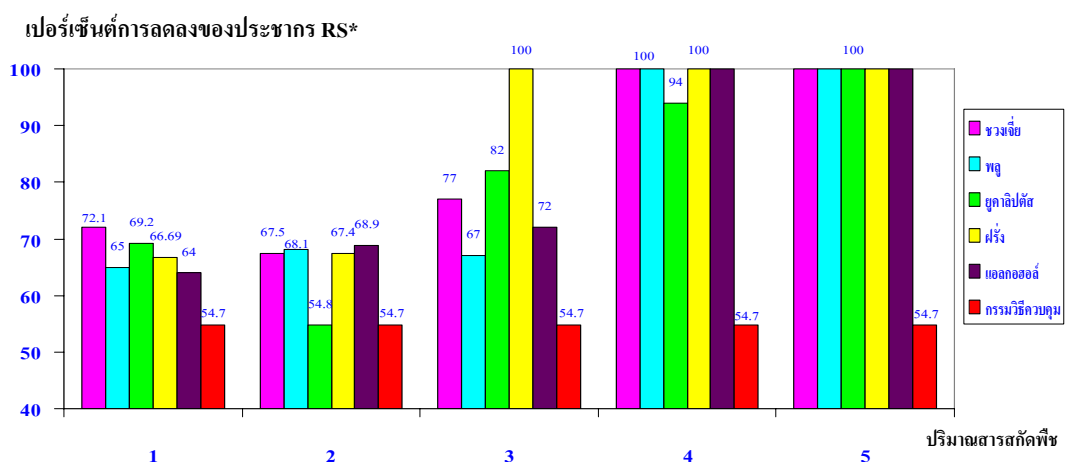
ภาพผนวกที่ 2 ประสิทธิภาพของสารสกัดจากขวงเจีย, พลู, ยูคาลิปตัส, ฝรั่ง และการเวก ที่ความเข้มข้น 2-10% ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Ralstonia solanacearum* สายพันธุ์ To-Ud3^{amp} ในอาหารเลี้ยงเชื้อ TTC ที่เวลา 24 และ 48 ชั่วโมง



ภาพผนวกที่ 3 ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของสารสกัดจากพืช 5 ชนิดที่ความเข้มข้น 2-10% หลังการทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Ralstonia solanacearum* สายพันธุ์ To-Ud3^{amp} ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เวลา 48 ชั่วโมง



ภาพผนวกที่ 4 ประสิทธิภาพของสารสกัดจากขวงเจีย, พลู, ยูคาลิปตัส, ฝรั่ง, และการเวก
 ที่ปริมาณ 1, 2, 3, 4 และ 5 มิลลิลิตรในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ
Ralstonia solanacearum สายพันธุ์ To-Ud3^{amp} ในดินในห้องทดลองเฉลี่ย 8
 สัปดาห์



ภาพผนวกที่ 5 เปอร์เซนต์การลดลงของประชากรเชื้อ *Ralstonia solanacearum*

สายพันธุ์ To-Ud3^{amp} (RS) ในคืนที่ 8 สัปดาห์ (Log CFU/g) หลังจากทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืช 5 ชนิดที่ปริมาณ 1, 2, 3, 4 และ 5 มิลลิกรัมในห้องปฏิบัติการ

*หมายเหตุ: เปอร์เซนต์การลดลงของประชากรเชื้อ RS ที่ 8 สัปดาห์หาได้จากสูตร

$$\frac{\text{ประชากรเชื้อเริ่มต้น} - \text{ประชากรเชื้อสัปดาห์ที่ 8}}{\text{ประชากรเชื้อเริ่มต้น}} \times 100$$

ภาคผนวกภาค ข

อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. Nutrient agar (NA) (Schaad *et al.*, 2001)

Beef extract	3.0	กรัม
Bacto peptone	5.0	กรัม
Agar	15.0	กรัม
น้ำกลั่น	1000	มิลลิลิตร

2. Nutrient broth(Schaad *et al.*, 2001)

Beef extract	3.0	กรัม
Bacto peptone	5.0	กรัม
น้ำกลั่น	1000	มิลลิลิตร

3. Tetrazolium chloride medium (TTC) (Kelman, 1954)

ส่วนที่ 1 (basal medium)

Peptone	10.0	กรัม
Glucose	5.0	กรัม
Casein hydrolysate	1.0	กรัม
Agar	15.0	กรัม
น้ำกลั่น	1000	มิลลิลิตร

ละลายส่วนผสมในน้ำ แบ่งใส่ขวด ๆละ 200 มล. นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 1.1 กิโลกรัมต่อตารางเซนติเมตรเป็นเวลา 15 นาที

ส่วนที่ 2 (aqueous solution tetrazolium)

2,3,5 – triphenyl tetrazolium chloride	1	กรัม
น้ำกลั่น	100	มิลลิลิตร
ผสมให้เข้ากัน นำไปผ่านการฆ่าเชื้อโดยการกรอง (filtration)		

หลอมอาหารจากส่วนที่ 1 ปริมาตร 200 มิลลิลิตร แล้วเติม ส่วนที่ 2 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ก่อนเทลงจานเลี้ยงเชื้อ

5. SM-1 (Granada, 1983)

ส่วนที่ 1 (basal medium) ใช้อาหาร TZC

ส่วนที่ 2 (aqueous solution) ของสารต่างๆ คือ

Crystal violet**	50	ไมโครกรัม/มิลลิลิตร
Thimerosal*	5	ไมโครกรัม/มิลลิลิตร
Polymycin □ sulfate*	100	ไมโครกรัม/มิลลิลิตร
Tyrothricin*	20	ไมโครกรัม/มิลลิลิตร
Chloromycetin*	5	ไมโครกรัม/มิลลิลิตร
Cycloheximide*	50	ไมโครกรัม/มิลลิลิตร หรือ
Chlotothalonil*	80	ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

ทำการฆ่าเชื้อโดยละลายในเอทิลแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ 1 มิลลิลิตร นาน 30 นาที แล้วเจือจางด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

** ฆ่าเชื้อโดยการกรอง หรือนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส นาน 7 นาที

สำหรับอาหาร mSM-1 ที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้ใช้อาหาร TZC เป็น basal medium เติม crystal violet 50 ppm และ Polymyxin B sulfate 50 ppm ผสมให้เข้ากันก่อนเทอาหารลงจานเลี้ยงเชื้อ (ปิยรัตน์, 2541)

6. Biovar medium สำหรับ *Ralstonia solanacearum* (Hayward, 1964)

Base

$\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$	1.0	กรัม
KCL	0.2	กรัม
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.2	กรัม
Peptone	1.0	กรัม
Bromothymol blue 1%(w/v)	0.3	มิลลิลิตรกรัม
วุ้น	1.5	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

ปรับ pH ให้เท่ากับ 7.1 อาหารจะมีสีน้ำตาลอมเขียว แบ่งใส่หลอดทดสอบหลอดละ ปริมาณหลอดละ 4.5 มิลลิลิตร นึ่งฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที

Carbohydrate solutions

เตรียม 10% ของน้ำตาล 6 ชนิดคือ maltose, lactose, cellobiose, mannitol, sorbitol และ ducitol น้ำตาล ducitol นึ่งฆ่าเชื้อที่ 115 องศาเซลเซียส 15 นาที ส่วนน้ำตาลชนิดอื่นๆ ทำการฆ่าเชื้อโดยการกรองผ่าน membrane (filtration)

อุ่นอาหาร base ในหลอดทดลองที่ 45 องศาเซลเซียส แล้วเติม 0.5 มิลลิลิตรของน้ำตาลแต่ละชนิดในแต่ละหลอด ก่อนนำมาทำการปลูกเชื้อ

ตรวจการเปลี่ยนสีของอาหาร หลังการปลูกเชื้อ 14 วัน ถ้าเชื้อสามารถใช้น้ำตาลได้จะเปลี่ยนสีของอาหารเป็นสีเหลือง

ประวัติการศึกษา และการทำงาน

ชื่อ –นามสกุล	นางสาวจิตรยา จารุจิตร
วัน เดือน ปี ที่เกิด	วันที่ 4 ธันวาคม 2527
สถานที่เกิด	ศรีสะเกษ
ประวัติการศึกษา	วท.บ.(การจัดการศัตรูพืช) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (พ.ศ.2549)
ตำแหน่งหน้าที่การงานปัจจุบัน	
สถานที่ทำงานปัจจุบัน	
ผลงานดีเด่นและรางวัลทางวิชาการ	
ทุนการศึกษาที่ได้รับ	