ฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากหนอนตายหยาก (Stemona tuberosa Lour.)

Antimicrobial activity of Crude Extract from *Stemona tuberosa* Lour.

สาโรช เจริญศักดิ์* กาญจนา ชินสำราญ และดวงสุรีย์ แสนสีระ

ภาควิชาวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลกรุงเทพ กรุงเทพฯ

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ได้ศึกษาผลของสารสกัดหยาบจากหนอนตายหยาก (*Stemona* sp.) ที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด คือ เฮกเซน อะซิโตน และเอทานอล ต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* บนอาหาร PDA โดยการทดสอบด้วยวิธี Paper disc diffusion ที่ระดับความเข้มข้น 500 250 125 และ 62.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าส่วนสกัดหยาบที่สกัดจากชั้นเอทานอลและอะซิโตนสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides*. ได้ดีที่สุดคือ ที่ระดับความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ที่ระยะเวลา 10 วัน โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 45.79 เปอร์เซ็นต์ และ 39.90 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

คำสำคัญ : หนอนตายหยาก

Abstract

In this research work, antifungal activity of the extracts from *Stemona* sp. were studied. The roots of this plant were macerated with hexane, acetone and ethanol sequentially. Antifungal activity of plant extracts were measured by paper disc diffusion method. Determination antifungal activity against *Colletotrichum gloeosporioides* of the extracts were measured at concentration of 62.5, 125, 250 and 500 mg/ml., respectively. The ethanol exteact and acetone extract of this plant gave the highest antifungal activity against *Colletotrichum gloeosporioides* at the concentration of 500 mg/ml, for 10 days. The percentage inhibition of the ethanol extract and acetone extract of this plant were 45.79 % and 39.90 % , respectively.

Keywords : *Stemona* sp.

*ผู้นิพนธ์ประสานงาน sa.charo@hothail.com โทร. 02-2879600 ต่อ 2204 และ 08-6997-4859

1. บทนำ

ปัจจุบันพบว่าการใช้สารเคมีทางการเกษตรมีผลกระทบต่อมนุษย์และสัตว์รวมถึงสภาพแวดล้อม การใช้สารสกัดจากพืชจึงมีความปลอดภัยต่อสิ่งมีชีวิตและไม่มีพิษตกค้างในธรรมชาติ พืชสมุนไพรหลายชนิดมีรายงานว่าสามารถออกฤทธิ์ในการต่อต้านเชื้อจุลินทรีย์ได้ โดยถูกนำมาใช้ในการกำจัดศัตรูพืชเพื่อทดแทนสารเคมีสังเคราะห์ในกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต คาร์บาเมต ออร์กาโนคลอรีน เป็นต้น [1] ซึ่งในปีหนึ่งๆ ประเทศไทยมีการนำเข้าสารเคมีทางการเกษตรเป็นปริมาณมากกว่า 20,000 ตัน คิดเป็นมูลค่าหลายหมื่นล้านบาท [2] ประเทศไทยกำลังประสบกับปัญหาการใช้สารพิษทางการเกษตรเนื่องมาจากความรู้เท่าไม่ถึงการณ์ในการใช้ และความรู้เกี่ยวกับผลข้างเคียงของสารพิษของผู้ใช้ และผู้เกี่ยวข้องมีอยู่อย่างจำกัด ดังนั้นปัญหาเกี่ยวกับการใช้สารพิษทางการเกษตรจึงมีอยู่มากมาย โดยเฉพาะปัญหาการเลือกใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืช [3] ดังนั้นการนำสมุนไพรซึ่งเป็นพรรณพืชที่มีอยู่อย่างอุดมสมบูรณ์ในประเทศไทยมาใช้ประโยชน์โดยนำมาใช้ในการควบคุมเชื้อจุลินทรีย์บางชนิดเพื่อทดแทนการใช้สารเคมีสังเคราะห์ นอกจากจะเป็นการลดการนำเข้าสารเคมีจากต่างประเทศอันส่งผลให้เกิดการลดความขาดดุลทางการค้าแล้ว [4] ได้กล่าวถึงข้อดีของการใช้พืชสมุนไพรในการป้องกันกำจัดศัตรูพืชไว้ว่า สารสกัดจากพืชสมุนไพรส่วนมากมีฤทธิ์อ่อน จึงไม่เกิดพิษต่อคนและสัตว์เลี้ยง

สลายตัวได้รวดเร็วทำให้ไม่เกิดพิษตกค้างในสิ่งแวดล้อม ดังนั้นการใช้สารสกัดจากพืชสมุนไพรจึงเป็นอีกแนวทางเลือกหนึ่งในการลดการใช้สารเคมี ลดพิษตกค้างในพืชผักและสิ่งแวดล้อม นอกจากนี้พืชสมุนไพรบางชนิดยังหาได้ง่ายและมีราคาถูก

เชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* เป็นสาเหตุทำให้เกิดโรคแอนแทรคโนสกับพืชได้หลายชนิด ทำให้เกิดความเสียหายต่อผลผลิตทั้งทางปริมาณและคุณภาพ เชื้อราสาเหตุของโรคอยู่ในจีนัส *Colletotrichum* ทำให้เกิดความสูญเสียกับพืชเศรษฐกิจ โดยเชื้อราดังกล่าวมีพืชอาศัยมากถึง 470 สกุล [10] ทั้งพืชตระกูลถั่ว หญ้า พืชผัก ไม้ผล และไม้ประดับ [11] ทำให้ผลผลิตเน่าเสีย อายุการเก็บเกี่ยวสั้น ไม่สามารถขนส่งระยะไกลได้ การระบาดของโรคนี้ในประเทศไทยเกิดขึ้นรวดเร็วและรุนแรง เนื่องจากอยู่ในพื้นที่ที่มีอุณหภูมิและความชื้นสูง [5] ลักษณะเส้นใยของเชื้อรานี้มีผนังกั้นตามขวาง (septate hypha) สืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ (asexual reproduction) โดยสร้าง conidia ใน fruiting body แบบ acervulus อยู่ภายใต้ชั้นผิว (epidermis) ของพืช เมื่อสภาพแวดล้อมเหมาะสม มีความชื้นสัมพัทธ์ระหว่าง 95-97 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิช่วง 20-30 องศาเซลเซียส conidium จะสามารถงอกได้ ซึ่งจะแพร่กระจายโดยอาศัยลม น้ำฝน หรือแมลง [6]

พืชสมุนไพรที่มีผลในการป้องกันกำจัดเชื้อจุลินทรีย์สาเหตุโรคพืชมีหลายชนิด หนอนตายหยาก เป็นพืชที่จัดอยู่ในวงศ์ Stemonaceae เป็นไม้เลื้อยหรือไม้เนื้ออ่อนที่มีรากอยู่ใต้ดินจำนวนมาก มีรูปร่างคล้ายกระสวยหรือทรงกระบอก อยู่รวมกันเป็นกลุ่ม [7] เป็นพืชที่นำส่วนของรากมาใช้ประโยชน์ พบได้ในป่าทั่ว ๆ ไปของประเทศจีน ญี่ปุ่น มาเลเซีย ลาว ไทย ฯลฯ สำหรับประเทศไทยพบหนอนตายหยากได้ทั่วไปทุกภาคและมีชื่อเรียกต่างกันตามท้องถิ่น เช่น พญาร้อยหัว กระเพียดหนู ต้นสามสิบกลีบ โป่งมดง่าม สลอดเชียงคำ ฯลฯ นอกจากนั้นหนอนตายหยากในประเทศไทยยังมีความหลากหลายในชนิด (Species) เช่น *Stemona tuberose* Lour, *Stemona collinsae* Craib, *Stemona keri*, *Stemona berkill*, *Stemona stercochin* เป็นต้น ซึ่งได้มีการนำมาใช้ประโยชน์ทั้งทางด้านการเป็นยารักษาโรค เนื่องจากมีสรรพคุณทางยา และใช้ป้องกันกำจัดศัตรูพืชทั้งจำพวกแมลงศัตรูพืชอย่างได้ผล เช่น หนอนกัดกินใบ ลูกน้ำยุง และเพลี้ยอ่อน แล้วสามารถผลิตในเชิงอุตสาหกรรมทดแทนสารเคมีฆ่าแมลงได้ ตลอดจนมีรายงานว่าสามารถนำมาใช้กำจัดเชื้อจุลินทรียสาเหตุโรคพืชบางชนิดได้ เช่น *Rhizoctonia solani* และ *Erwinia carotovora* [8]

มีรายงานเกี่ยวกับสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่ตรวจพบในรากหนอนตายหยาก อยู่ในกลุ่ม Alkaloids ได้แก่ สติลบินอยด์ (stilbenoids) และโทโคเฟอรอล (tocopherols) [12] Stemofoline และ 16 17 –didehydro-16 (e)- Stemofoline ซึ่งตรวจพบในหนอนตายหยากชนิด Stamona collinsaecraib [13] จากการศึกษาชนิดของอัลคาลอยด์ในรากของหนอนตายหยาก (*S. tuberosa*) จำแนกได้ 7 ชนิด ได้แก่ 2-oxostenine, tuberostemonine, sessilifoliamide H, tuberostemonone, didehydrotuberostemonine, bisdehydrostemoninine และ tuberostemoamide [14]

ในปัจจุบันมีการขยายพันธุ์และเพาะปลูกหนอนตายหยากเพื่อนำมาขายเป็นการค้าโดยนำรากมาสกัดด้วยน้ำหรือแอลกอฮอล์เพื่อใช้ป้องกันกำจัดศัตรูพืชในแปลงเกษตรกร แต่สารสกัดจากหนอนตายหยากที่นำมาใช้อาจมีฤทธิ์แตกต่างกันขึ้นอยู่กับแหล่งกำเนิดสายพันธุ์ ตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด เป็นต้น งานวิจัยนี้มีความมุ่งหมายเพื่อเปรียบเทียบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหยาบจากรากหนอนตายหยากที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด ได้แก่ เฮกเซน (hexane) อะซิโตน (acetone) และเอทานอล (ethanol) ที่มีผลต่อการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* เพื่อเป็นการยืนยันถึงประสิทธิภาพของพืชสมุนไพรชนิดนี้สำหรับเป็นแนวทางในการนำไปประยุกต์ใช้ประโยชน์ต่อไป

2. วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเก็บตัวอย่างพืชหนอนตายหยาก

หนอนตายหยากที่ใช้ในการวิจัยนี้เก็บมาจากพื้นที่ อ.เมือง จ.อุบลราชธานี ในช่วงเดือนสิงหาคม

2. การเตรียมสารสกัด

ทำการสกัดสารจากส่วนรากหนอนตายหยากโดยวิธี sequential extraction โดยนำส่วนรากของหนอนตายหยากที่บดละเอียดมาห่อด้วยผ้าขาวบางที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว มัดให้แน่นแล้วใส่แช่ในขวดโหลที่มีตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ คือ เฮกเซน อะซิโตน

และเอทานอล ในอัตราส่วน 40 กรัม ต่อตัวทำละลาย 600 มิลลิลิตร เป็นระยะเวลา 7 วัน การแช่พืชสมุนไพรจะแช่เรียงลำดับตามความมีขั้วของตัวทำละลายอินทรีย์จากน้อยไปหามาก คือ เฮกเซน อะซิโตน และเอทานอล ตามลำดับ เมื่อแช่ในตัวทำละลายแต่ละชนิดครบกำหนด 7 วัน นำสารที่สกัดได้มากรองผ่านผ้าขาวบางและกระดาษกรองเบอร์ 1 จากนั้นทำการระเหยตัวทำละลายด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ (rotatory vacumm evaporation) เก็บส่วนของสารสกัดที่ได้จากการระเหยตัวทำละลายออก คำนวณปริมาณสารสกัดที่ได้จากตัวทำละลายแต่ละชนิด เก็บสารสกัดที่ได้ไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อใช้สำหรับทดสอบฤทธิ์ต่อไป

3. การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Agar (PDA)

ชั่งอาหารสำเร็จรูป PDA อัตราส่วน 39.0 กรัมต่อลิตร เทลงในขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer flask) เติมน้ำกลั่น คนให้ละลายเข้ากัน แล้วนำไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งอัดความดันที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เวลา 15 นาที ทิ้งไว้ให้เย็นแล้วนำมาเทใส่จานเพาะเลี้ยง

4. การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพเบื้องต้นของสารสกัดหยาบจากรากหนอนตายหยากต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides*

4.1 การเตรียมเชื้อราสาเหตุโรคพืช นำเชื้อราสาเหตุโรคพืชที่ใช้ทดสอบ จำนวน 1 ชนิด ซึ่งแยกบริสุทธิ์แล้วมาเพาะให้เจริญในอาหาร PDA slant แล้วย้ายจากหลอดอาหารลงเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ในจานเลี้ยงเชื้อที่มีอาหาร 15 มิลลิลิตรต่อจานแล้วจึงนำ ไปบ่ม (incubate) ไว้ ที่อุณหภูมิห้อง (30 องศาเซลเซียส) นาน 7 วัน

4.2 การเตรียมการทดสอบการออกฤทธิ์ โดยนำสารสกัดหยาบที่ได้จากการสกัดในตัวทำละลายทั้ง 3 ชนิด แต่ละชนิด มาเตรียมส่วนสกัดหยาบให้มีระดับความเข้มข้นเป็น 1,000 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เพื่อเก็บไว้เป็น stock สำหรับเจือจางที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ โดยใช้อัตราส่วน สารสกัดหยาบ 1 กรัม ต่อตัวทำละลาย 1 มิลลิลิตร จากนั้นจะนำส่วนสกัดหยาบที่ระดับความเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรนี้ มาปรับความเข้มข้นให้เป็น 500, 250, 125 และ 62.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ โดยทำการเจือจางด้วยตัวทำละลายแต่ละชนิด แล้วผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสม (Vortex mixture)

4.3 ย้ายเชื้อราที่ต้องการทดสอบ โดยใช้ cork borrer ตัดเส้นใยที่บริเวณขอบโคโลนีพร้อมทั้งวุ้นอาหารออกเป็นชิ้นกลม แล้วใช้เข็มเขี่ยวุ้นที่มีเชื้อราเจริญนี้ย้ายไปวางบนจุดกึ่งกลางของจานอาหาร PDA โดยคว่ำเอาด้านที่มีเส้นใยเจริญอยู่ให้สัมผัสกับอาหาร แล้วนำไปบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง (30 องศาเซลเซียส) นาน 7 วัน (เชื้อราบนจานเลี้ยงเชื้อในชุดควบคุม เจริญขยายเต็มจานเลี้ยงเชื้อ)

4.4 ทำการทดสอบด้วยวิธี Paper disc diffusion โดยนำส่วนสกัดแต่ละความเข้มข้น ได้แก่ 500, 250, 125 และ 62.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ มาหยดโดยใช้ micropipette ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ลงบนกระดาษกรองขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร ที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว สำหรับส่วนที่ใช้เป็นตัวเปรียบเทียบ (control) จะใช้ตัวทำละลายแทน โดยวางกระดาษกรองที่หยดด้วยส่วนของสารสกัดลงบนผิวอาหารห่างจากจุดกึ่งกลางของจานที่ปลูกเชื้อราไว้เป็นระยะ 2.0 เซนติเมตร โดยวางไว้ 4 จุดในแนวรัศมี

4.5 ทำการบันทึกผลการทดลองที่ระยะเวลา 5, 7 และ 10 วัน วัดการเจริญของเส้นใยเชื้อรา โดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อรา

4.6 นำขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของโคโลนีเชื้อราในแต่ละซ้ำ แต่ละความเข้มข้นของสารสกัด มา คำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโต โดยใช้สูตรคำนวณดังนี้

$$\text{การยับยั้ง (เปอร์เซ็นต์)} = \left(\frac{DC - DT}{DC}\right)$$

เมื่อ DC คือ ค่าเฉลี่ยเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเชื้อราบนจานเลี้ยงเชื้อในชุดควบคุม

DT คือ ค่าเฉลี่ยเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเชื้อราบนจานเลี้ยงเชื้อที่ใส่สารสกัดในแต่ละความเข้มข้นของแต่ละซ้ำ

5. การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์เปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา และวิเคราะห์ความแปรปรวนและคำนวณค่าความแตกต่างเฉลี่ยทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% และ Duncan's New multiple Test (DMRT)

3. ผลการวิจัย

1. สายพันธุ์หนอนตายหยาก

หนอนตายหยากที่นำมาใช้ในการวิจัยนี้ระบุได้เพียงว่าเป็นจีนัส *Stemona* sp. ยังไม่ชี้ชัดว่าเป็นสปีชีส์ใด เนื่องจากยังไม่พบเห็นดอก ซึ่งในการระบุชนิดพันธุ์ต้องอาศัยลักษณะของดอกด้วย

รูปที่ 1 ลักษณะของใบและรากหนอนตายหยาก

2. ผลการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหนอนตายหยากต่อเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides*

การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากรากหนอนตายหยากด้วยตัวทำละลายเฮกเซน อะซิโตน และเอทานอล โดยวิธี Paper disc diffusion พบว่ามีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ดังนี้

2.1 ฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราของสารสกัดหยาบหนอนตายหยากที่สกัดได้จากตัวทำละลายเฮกเซน

จากการทดสอบพบว่าสารสกัดหยาบหนอนตายหยากที่สกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซนที่ระดับความเข้มข้น 500, 250, 125 และ 62.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าที่ระยะเวลาในการทดลอง 10 วัน ที่ระดับความเข้มข้น 250 และ 125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Colletotrichum* sp. ได้ในระดับเดียวกันและสามารถยับยั้งได้ดีที่สุด (รูปที่ 1) โดยมีค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเท่ากับ 10.53 รองลงมาคือ ที่ระดับความเข้มข้น 500 และ 62.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเท่ากับ 8.95 เปอร์เซ็นต์ โดยมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างไม่มีนัยสำคัญ ส่วนสารสกัดหยาบหนอนตายหยากที่สกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซนที่ระดับความเข้มข้น 250, 125 และ 62.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ที่ระยะเวลาในการทดลอง 7 วัน สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ได้ต่ำสุด (รูปที่ 1) โดยมีค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญได้เท่ากัน คือ 3.63 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดที่ระดับความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ที่ระยะเวลาในการทดลองเดียวกัน ซึ่งมีค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อเท่ากับ 6.36 เปอร์เซ็นต์ พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 1)

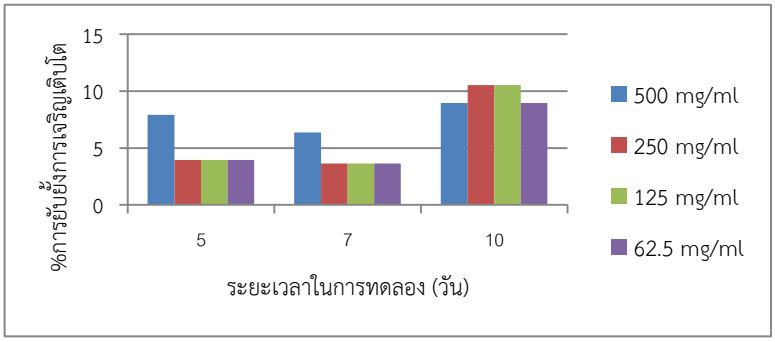
2.2 ฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราของสารสกัดหยาบหนอนตายหยากที่สกัดได้จากตัวทำละลายอะซิโตน

จากการทดสอบพบว่าสารสกัดหยาบหนอนตายหยากที่สกัดด้วยตัวทำละลายอะซิโตนที่ระดับความเข้มข้น 500, 250, 125 และ 62.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าสารสกัดหยาบหนอนตายหยากระดับความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ที่ระยะเวลาในการทดลอง 10 วัน สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* ได้ดีที่สุด รองลงมาคือที่ระดับความเข้มข้น 250 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ที่ระยะเวลาในการทดลองเท่ากัน (รูปที่ 2) ซึ่งมีค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราเท่ากับ 39.90 และ 34.72 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างไม่มีนัยสำคัญ (ตารางที่ 1) สำหรับที่ระยะเวลาในการ

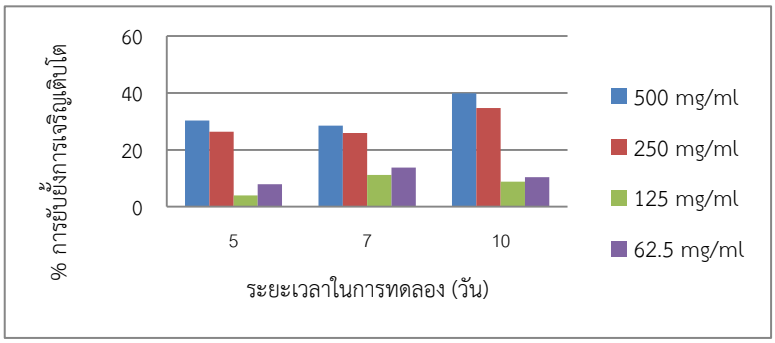
ทดลอง 5 วัน พบว่าสารสกัดที่ระดับความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* ได้ดีที่สุด รองลงมาคือที่ระดับความเข้มข้น 250 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ที่ระยะเวลาในการทดลองเท่ากัน (รูปที่ 2) ซึ่งมีค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราเท่ากับ 30.26 และ 26.32 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างไม่มีนัยสำคัญ (ตารางที่ 1) ส่วนที่ระยะเวลาในการทดลอง 7 วัน พบว่าพบว่าสารสกัดที่ระดับความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* ได้ดีที่สุด รองลงมาคือที่ระดับความเข้มข้น 250 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ที่ระยะเวลาในการทดลองเท่ากัน (รูปที่ 2) ซึ่งมีค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราเท่ากับ 28.45 และ 25.86 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างไม่มีนัยสำคัญ (ตารางที่ 1)

2.3 ฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราของสารสกัดหยาบหนอนตายหยากที่สกัดได้จากตัวทำละลายเอทานอล

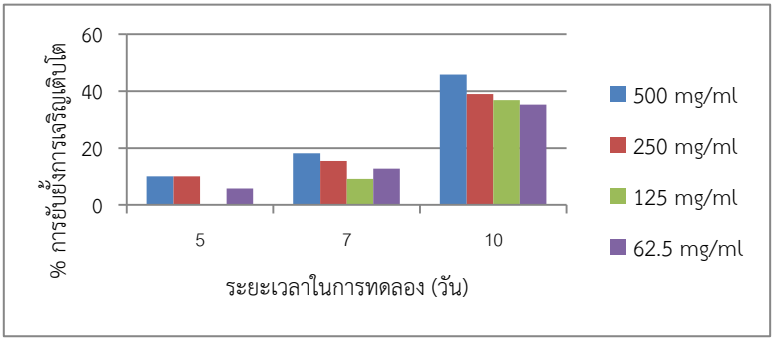
จากการทดสอบพบว่าสารสกัดหยาบหนอนตายหยากที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลที่ระดับความเข้มข้น 500, 250, 125 และ 62.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าสารสกัดหยาบหนอนตายหยากระดับความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ที่ระยะเวลาในการทดลอง 10 วัน สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* ได้ดีที่สุด โดยมีค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราได้ในระดับที่สูง รองลงมาคือที่ระดับความเข้มข้น 250 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ที่ระยะเวลาในการทดลองเท่ากัน (รูปที่ 3) ซึ่งมีค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราเท่ากับ 45.79 และ 38.95 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างไม่มีนัยสำคัญ ส่วนสารสกัดที่ระดับความเข้มข้น 62.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ที่ระยะเวลาในการทดลองเดียวกัน มีค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้น้อยที่สุด คือ 35.26 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งหากเปรียบเทียบกับที่ระดับความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรแล้ว พบว่าผลของการยับยั้งการเจริญของเชื้อมีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 1) สำหรับสารสกัดหยาบหนอนตายหยากระดับความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ที่ระยะเวลาในการทดลอง 7 วัน สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* ได้ดีที่สุด รองลงมาคือที่ระดับความเข้มข้น 250 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ที่ระยะเวลาในการทดลองเท่ากัน (รูปที่ 3) ซึ่งมีค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราเท่ากับ 18.718 และ 15.45 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนสารสกัดหยาบที่ระยะเวลาในการทดลอง 5 วัน ในทุกระดับความเข้มข้น จะมีค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อราอยู่ในระดับต่ำ (ตาราง 1)



รูปที่ 1 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* จากส่วนสกัดหยาบหนอนตายหยากในชั้นเฮกเซน ที่ระดับความเข้มข้น 500 250 125 และ 62.5 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะเวลาการทดลอง 5 วัน 7 วัน และ 10 วัน



รูปที่ 2 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* จากส่วนสกัดหยาบหนอนตายหยากในชั้นอะซิโตน ที่ระดับความเข้มข้น 500 250 125 และ 62.5 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะเวลาการทดลอง 5 วัน 7 วัน และ 10 วัน



รูปที่ 3 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* จากส่วนสกัดหยาบหนอนตายหยากในชั้นเอทานอล ที่ระดับความเข้มข้น 500 250 125 และ 62.5 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะเวลาการทดลอง 5 วัน 7 วัน และ 10 วัน

ตารางที่ 1 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ของส่วนสกัดหยาบหนอนตายหยากในตัวทำละลายเฮกเซน อะซิโตน และเอทานอล ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

ระดับความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	% ยับยั้งการเจริญเติบโต								
	ระยะเวลาในการทดลอง								
	เฮกเซน			อะซิโตน			เอทานอล		
	5 วัน	7 วัน	10 วัน	5 วัน	7 วัน	10 วัน	5 วัน	7 วัน	10 วัน
500	7.90 a	6.36 a	8.95 a	30.26 a	28.45 a	39.90 a	10.00 a	18.18 a	45.79 a
250	3.95 a	3.63 a	10.53 a	26.32 ab	25.86 a	34.72 a	10.00 a	15.45 a	38.95 a
125	3.95 a	3.63 a	10.53 a	3.95 c	11.21 ab	8.80 bc	0.00 a	9.09 a	36.84 a
62.5	3.95 a	3.63 a	8.95 a	7.89 bc	13.79 ab	10.36 b	5.71 a	12.73 a	35.26 a

ค่าเฉลี่ยจากจำนวน 3 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่มีอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ จากการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยโดย DMRT ($p \leq 0.05$)

จากผลการทดลองข้างต้นพบว่าสารสกัดหนอนตายหยากที่ระดับความเข้มข้น 500 และ 250 มิลลิกรัมต่อมิลลิตร ที่สกัดได้จากตัวทำละลายแต่ละชนิด ในแต่ละทุกช่วงระยะเวลาในการทดสอบนั้น จะมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ได้ดีกว่าสารสกัดหนอนตายหยากที่ระดับความเข้มข้นต่ำกว่าที่ระยะเวลาที่ใช้ในการทดสอบที่เท่ากัน จึงได้

เปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารสกัดหนอนตายหยากที่สกัดได้จากตัวทำละลายแต่ละชนิด ได้แก่ เฮกเซน อะซิโตน และเอทานอล ที่แต่ละระดับความเข้มข้น คือ 500 และ 250 มิลลิกรัมต่อมิลลิตร ที่ระยะเวลาในการทดลอง 5 7 และ 10 วัน ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ของส่วนสกัดหยาบหนอนตายหยากที่ระดับความเข้มข้น 500 และ 250 มิลลิกรัมต่อมิลลิตร ในตัวทำละลายชนิดต่างๆ

ระดับความเข้มข้น / ชนิดตัวทำละลาย	% ยับยั้งการเจริญเติบโต					
	5 วัน		7 วัน		10 วัน	
	500	250	500	250	500	250
เฮกเซน	7.90 b	3.95 b	6.36 c	3.63 c	8.95 c	10.53 a
อะซิโตน	30.26 a	26.32 a	28.45 a	25.86 a	39.90 b	34.72 a
เอทานอล	10.00 b	10.00 ab	18.18 ab	15.45 ab	45.79 a	38.95 a

ค่าเฉลี่ยจากจำนวน 3 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่มีอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ จากการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยโดย DMRT ($p \leq 0.05$)

จากผลการทดลองพบว่าสารสกัดหนอนตายหยากที่ระดับความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิตร ที่ระยะเวลาในการทดลอง 10 วัน ซึ่งสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* ได้ดีที่สุด ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดหนอนตายหยากที่สกัดด้วยตัวทำละลายอะซิโตน ซึ่งมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อรารองลงมา โดยมีค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา 45.79 และ 39.90 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

4. สรุปผลและอภิปรายผล

จากการทดลองโดยนำส่วนสารสกัดหยาบจากรากหนอนตายหยากที่สกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซน อะซิโตน และเอทานอล มาทดสอบการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Colletotrichum* sp. โดยวิธี Paper disc diffusion ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ได้แก่ 500, 250, 125 และ 62.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ที่ระยะเวลาการทดลอง 5, 7 และ 10 วัน พบว่าสารสกัดหยาบจากส่วนรากหนอนตายหยากที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล ที่ระดับความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีประสิทธิภาพสูงสุดในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Colletotrichum* sp. โดยมีค่าเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญเติบโตเท่ากับ 45.79 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะเวลาทดลอง 10 วัน ส่วนสารสกัดหยาบจากรากหนอนตายหยากที่มีประสิทธิภาพรองลงมา คือ สารที่สกัดด้วยตัวทำละลายอะซิโตน ที่ระดับความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยมีค่าเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญเติบโตเท่ากับ 39.90 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะเวลาทดลอง 10 วัน ส่วนสารสกัดจากรากหนอนตายหยากที่สกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซน มีประสิทธิภาพต่ำในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ในทุกระดับความเข้มข้น และทุกช่วงระยะเวลาในการทดสอบ จากการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าสารออกฤทธิ์ต่างๆ ที่อยู่ในพืชมีความสามารถในการละลายในตัวทำละลายต่างชนิดกันได้ไม่เท่ากัน จึงทำให้มีผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้แตกต่างกัน การทดลองในครั้งนี้ทำให้พบว่าสารสกัดหนอนตายหยากที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล ที่ระยะเวลาทดลอง 10 วัน ที่ทุกระดับความเข้มข้น มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราได้อย่างมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างไม่มีนัยสำคัญ ส่วนสารสกัดหนอนตายหยากที่สกัดด้วยตัวทำละลายอะซิโตน ที่ระดับความเข้มข้น 250 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดจากตัวทำละลายชนิดเดียวกันที่ระดับความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จะพบว่ามีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเติบโตของเชื้อราได้อย่างมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างไม่มีนัยสำคัญ นอกจากนี้สารสกัดหนอนตายหยากที่สกัดด้วยตัวทำละลายอะซิโตนที่ระดับความเข้มข้น 500 และ 250 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ยังมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้อย่างมีประสิทธิภาพในทุกช่วงระยะเวลาที่ทำการทดลอง จึงนับว่าเป็นตัวทำละลายที่เหมาะสมที่จะนำมาใช้ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum*

gloeosporioides ได้อย่างมีประสิทธิภาพ [9] รายงานว่า พืชแต่ละชนิดจะมีสาระสำคัญที่แตกต่างกันทางด้านชนิดและปริมาณ โดยขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆ เช่น ชนิดพันธุ์ อายุและช่วงการเก็บเกี่ยว สภาพแวดล้อมในการปลูก เป็นต้น

นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดที่สกัดด้วยตัวทำละลายแต่ละชนิดที่มีความเข้มข้นต่างๆ กัน 4 ระดับ คือ 500, 250, 125 และ 62.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ที่มีช่วงระยะเวลาในการทดลองเดียวกัน มีแนวโน้มจะมีเปอร์เซ็นต์ประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราสูงเมื่อระดับความเข้มข้นของสารสกัดที่ใช้ทดสอบสูงขึ้น กล่าวคือ ที่ระดับความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จะมีค่าเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราสูงสุด ส่วนที่ระดับความเข้มข้น 62.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จะมีค่าเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราต่ำสุด ซึ่งระดับความเข้มข้นของสารสกัดพืชสมุนไพรที่ใช้ทดสอบเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา โดยที่ระดับความเข้มข้นที่สูงขึ้นจะมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเพิ่มขึ้นด้วย อย่างไรก็ตามการทดลองนี้เป็นเพียงการศึกษาผลของสารสกัดหยาบจากส่วนรากหนอนตายหยากเท่านั้น ยังสามารถนำข้อมูลดังกล่าวนี้ไปใช้ศึกษาเชิงลึก เช่น ศึกษากลุ่มของสารออกฤทธิ์ รูปแบบและวิธีการที่เหมาะสมในการเพิ่มประสิทธิภาพของสารออกฤทธิ์ เพื่อที่จะนำไปประยุกต์ใช้ประโยชน์ให้มีประสิทธิภาพสูงขึ้นต่อไป

5. กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลกรุงเทพ ที่ได้สนับสนุนทุนวิจัย เพื่อการดำเนินงานวิจัยในครั้งนี้

6. เอกสารอ้างอิง

[1] ไพบูลย์ ปะนะเส. 2551. ผลของสารกำจัดแมลงชีวภาพจากหนอนตายหยาก (*Stemona curtisii* Hook. F.) และสารภี (*Memmea siamensis* Miq. T.) ต่อระดับอะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสและกิจกรรมไลโซไซม์ในปลานิล (*Oreochromis niloticus*). วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

[2] กอบเกียรติ บัณสิทธิ์. 2536. “ประวัติการใช้สารเคมีในการป้องกันกำจัดแมลงในสวนผัก.” วารสารกีฏและสัตววิทยา. 15(1) : 58-62.

[3] ณรรฐพล วัลลีย์ลักษณ์. 2526. แมลงศัตรูผักของประเทศไทย. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

[4] พันธิตร์ มะลิสุวรรณ และผุสดี สายชนะพันธ์. 2546. สมุนไพรกำจัดแมลงและศัตรูพืช. กรุงเทพฯ : ศรีสยามพริ้นท์.

[5] นิพนธ์ วิสารทานนท์. 2542. โรคไม้ผลเขตร้อนและการป้องกันกำจัด. กรุงเทพฯ. 172 หน้า.

[6] วีระณีย์ ศรีพรมสุข, สมเดช กนกเมธากุล, ขวัญใจ กนกเมธากุล และเกษม สร้อยทอง. 2537. การศึกษาลักษณะความต้องการทางสรีรวิทยาของเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & sacc. สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของมะม่วง (*Mangifera indica* L.) และการควบคุมโรคโดยใช้สารสกัดจากจุลินทรีย์. วารสารสำนักวิจัยและส่งเสริมวิชาการเกษตร. 16(2) : 25-30.

[7] นิจศิริ เรืองรังสี. 2547. สมุนไพรไทย. สำนักพัฒนาคุณภาพสินค้าเกษตร.

[8] นันทวัน บุณยประภัศร และอรนุช โชคชัยเจริญพร. 2543. สมุนไพรไม้พื้นบ้าน(4). กรุงเทพมหานคร : คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล และศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ.

[9] วันดี กฤษณพันธ์. 2537. สมุนไพรน่ารู้. กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

[10] Sutton, B.C. 1992. The genus *Glomerella* ans its anamorph *Colletotrichum* spp. *In* : *Colletotrichum* : Biology, Pathology and Control. Bailey, J.A. and Jeger, M.J. (eds). CAB International, Wallingford, UK.

[11] Bailey, J.A. and M.J. Jeger. 1992. *Colletotrichum* : Biology, Pathology and Control. CAB International, Wallingford, UK.

[12] Li, S.L., R.W. Jiang and P.M. Hon. 2007. Quality evaluation of Radix Stemonae through simulateneous quantification of bioacetive alkaloids by hightperformance liquid chromatography coupled with diode array and evaporation light scattering detectors. Biomed Chromatogr. (in press).

[13] Jiwajinda, S., N. Hirai, K. Watanabe, V. Santisopasri, N. Chuengsamarnyart, K. Koshimizu and H. Ohigashi. 2001. Occurrence of the insecticidal 16, 17-didehydro-16(E)-Stemofoline in Stemona callinsae. Phytochemistry 56: 693-695.

[14] Hu, J.P., D.H. Yang, W.H. Lin and S.Q. Cai. 2009. Alkaloids from the roots of *Stemona tuberosa*. Helveta Chemica Acta. 92 : 2125-2133.