ศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆ ของหม่อน ที่มีผลต่อการยับยั้งเชื้อราที่คัดแยกได้จากใบทุเรียน

The Study of the Use of Some *Morus alba* Linn. Extract Against Fungi Isolated From Durian Leaves.

จีรนันท์ กล่อมนรา แก้วรักษา *

Cheeranan Klomnara Kaewruksa *

Received: 22 May 2018, Revised: 15 November 2018, Accepted: 26 November 2018

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบที่สกัดจากส่วนต่างๆ ของหม่อนที่มีผลต่อการยับยั้งเชื้อราที่คัดแยกได้จากใบทุเรียน โดยสามารถคัดแยกเชื้อราจากใบทุเรียน จำนวน 2 ชนิด ได้แก่ เชื้อรา *Phyllosticta* sp. และ *Colletotrichum* sp. การสกัดสารสกัดหยาบจากใบ ผล รากและลำต้นของหม่อน ด้วยตัวทำละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 และเฮกเซน พบว่าร้อยละของสารสกัดต่อน้ำหนักแห้งที่สกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 เท่ากับ 17.45, 21.53, 5.52 และ 5.51 กรัม ตามลำดับ และร้อยละของสารสกัดต่อน้ำหนักแห้งที่สกัดด้วยเฮกเซน เท่ากับ 18.35, 29.29, 4.67 และ 4.67 กรัม ตามลำดับ จากนั้นทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดด้วยวิธี Paper Disc Diffusion ที่ระดับความเข้มข้น 300, 600 และ 900 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าสารสกัดจากผล ราก และลำต้น ของหม่อนที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอความเข้มข้นร้อยละ 95 สามารถยับยั้งเชื้อรา *Phyllosticta* sp. ที่ระดับความเข้มข้น 600 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส เท่ากับ 1.29 ± 1.13, 1.86± 0.49 และ 2.87 ± 0.29 มิลลิเมตร ตามลำดับ มีร้อยละการยับยั้งดีที่สุดเท่ากับร้อยละ 35.07 - 82.09 ส่วนสารสกัดจากรากและลำต้นของหม่อนที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 สามารถยับยั้งเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ที่ระดับความเข้มข้น 600 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส เท่ากับ 2.37± 0.73 และ 1.86± 1.03 มิลลิเมตร ตามลำดับ มีร้อยละการยับยั้งดีที่สุดเท่ากับร้อยละ 10.10 - 24.24 ส่วนสารสกัดที่สกัดจากใบหม่อนไม่มีการยับยั้งเชื้อรา ผลของสารสกัดที่สกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซนของหม่อนไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อราทั้ง 2 ชนิด

คำสำคัญ: หม่อน, สารสกัดหยาบ, *Phyllosticta* sp., *Colletotrichum* sp

---

สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสุราษฎร์ธานี ถนนสุราษฎร์-นาสาร อำเภอเมือง จังหวัดสุราษฎร์ธานี 84100

Biology Department, Faculty of Science and Technology, Suratthani Rajabhat University, Surat-Nasan Road, Muang, Suratthani 84100, Thailand.

* ผู้นิพนธ์ประสานงาน ไปรษณีย์อิเล็กทรอนิกส์ (Corresponding author, e-mail): mk_kaewruksa@hotmail.com

ABSTRACT

This research was conducted to investigate the efficiency of crude extracts from different parts of mulberry that can inhibit the growth of the fungi extracted from durian leaves. Two species of fungi extracted from durian leaves were selected, namely, *Phyllosticta* sp. and *Colletotrichum* sp. Leaves, fruits, roots and stems of mulberry were extracted by 95% ethanol and hexane. The average dry weight of the extract with 95% ethanol were 17.45, 21.53, 5.52 and 5.51 g, respectively, while the average dried weight from hexane-extracted solutions were of 18.35, 29.29, 4.67 and 4.67 g, respectively. The effectiveness of the extracts were determined by using Paper Disc Diffusion at 300, 600 and 900 milligrams per milliliter. It was found that the extracts from Mulberry fruit, root, and stem by 95% ethanol could inhibit *Phyllosticta* sp. at the concentration of 600 mg/ml. The diameter of clear bands were 1.29 ± 1.13, 1.86 ± 0.49 and 2.87 ± 0.29 mm. respectively with the best inhibition percentage of 35.07 - 82.09. Mulberry root and stem extracted with 95 percent ethanol were tested on *Colletotrichum* sp. at a concentration of 600 mg per milliliter, the diameter of the clear band was 2.37 ± 0.73 and 1.86 ± 1.03 mm, respectively. The highest percentage of inhibition was 10.10 - 24.24. The extracts from mulberry leaves did not inhibit the fungus. The solutions extracted with hexane solvent did not inhibit both fungi.

Key words: Mulberry, crude extract, *Phyllosticta* sp., *Colletotrichum* sp.

บทนำ

หม่อนที่มีปลูกในประเทศไทยมีมากมายหลายพันธุ์ เช่น พันธ์นครราชสีมา 60 พันธุ์บุรีรัมย์ 60 และพันธุ์เชียงใหม่ 60 ซึ่งปลูกได้ทั่วไปในประเทศไทย ส่วนของหม่อนที่สำคัญส่วนหนึ่ง คือ ใบ โดยทั่วไปใช้เป็นอาหารของหนอนไหม แต่ในปัจจุบันมีการนำใบหม่อนมาแปรรูป เช่น ชาใบหม่อน ซึ่งนิยมบริโภคเนื่องจากมีรายงานว่าในใบหม่อนมีสารจำพวก Flavonoid, Phytoestrogen, Triterpene, Ceramide และ Mulberroside ซึ่งมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ (Sohn *et al*., 2004) นอกจากนั้นใบหม่อนมีฤทธิ์ในการต้านจุลินทรีย์และยังพบว่าสารสกัดจากเปลือก ราก ผลของหม่อนมีฤทธิ์ในการต้านเชื้อรา *Trichophyton* (Takahashi and Shirata, 1982)

ทุเรียนเป็นผลไม้ไทยชนิดหนึ่งที่ได้รับความนิยมบริโภคสูงทั้งในประเทศและต่างประเทศ ในปี พ.ศ. 2525 ประเทศไทยจัดเป็นประเทศที่ส่งออกทุเรียนและผลิตภัณฑ์แปรรูปจากทุเรียนเป็นอันดับหนึ่งของโลก (รตยาภรณ์ และคณะ, 2554) ปัจจุบันพันธุ์ทุเรียนที่นิยมปลูกทางการค้ามี 4 พันธุ์คือ พันธุ์หมอนทอง ชะนี ก้านยาว และกระดุมทอง (กรมวิชาการเกษตร, มปป) โดยทุเรียนให้ผลผลิตเฉลี่ยประมาณ 1,000 ถึง 1,200 กิโลกรัมต่อไร่ต่อปี เกษตรกรจะมีรายได้ประมาณ 10,000 ถึง 20,000 บาทต่อไร่ (สำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร, มปป) ประเทศไทยมีการผลิตทุเรียนต่อปีรวมประมาณ 800,000 ตันและได้มีการส่งออกทุเรียนสดและทุเรียนแช่แข็ง รวมจำนวน 55,590 ตัน คิดเป็นมูลค่า 979 ล้านบาท ซึ่งมีตลาดส่งออกที่สำคัญ คือ ประเทศฮ่องกง ไต้หวัน จีน สิงคโปร์ และญี่ปุ่น (สำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร, มปป) อย่างไรก็ตามเกษตรกรยังประสบปัญหาเรื่องโรคตั้งแต่ระยะแรกของการเจริญจนกระทั่งให้ผลผลิต เช่น โรครากเน่าโคนเน่า โรคผลเน่า โรคใบจุด โรคใบติดและใบไหม้

โรคจุดสนิม โรคราสีชมพู และโรคราแป้ง เกษตรกรจึงต้องใช้สารเคมีในการป้องกันโรคดังกล่าว ทำให้เกิดการตกค้างของสารเคมีและส่งผลเสียต่อสุขภาพของผู้บริโภค และสิ่งแวดล้อม ผู้วิจัยจึงมีแนวคิดในการใช้สารสกัดจากส่วนต่างๆ ของหม่อนในการป้องกันโรคดังกล่าวเพื่อลดผลกระทบที่ตามมาข้างต้น และเพื่อเป็นการแก้ไขปัญหาข้างต้นจึงควรมีการศึกษาเพื่อลดปริมาณเชื้อราที่เป็นสาเหตุของโรคดังกล่าวในทุเรียน งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์ในการนำสารสกัดจากใบ ผล ลำต้น ราก จากหม่อนมาใช้ในการยับยั้งเชื้อก่อโรคที่แยกจากใบทุเรียน เพื่อเป็นแนวทางในการนำไปใช้ในการกำจัดโรคในทุเรียนต่อไป

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเตรียม ใบ ผล ราก และลำต้นของหม่อน

นำใบ ผล ราก และลำต้นสดมาล้างทำความสะอาด หั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ แล้วอบให้แห้งโดยใช้ตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง นำมาปั่นให้ละเอียดด้วยเครื่องปั่น จากนั้นจึงนำมาเก็บรักษาไว้ในถุงซิปล็อค จนกว่าจะมีการใช้งาน (ปรมาภรณ์ และ พิสุทธิ์, 2556)

2. การสกัดสารจากใบ ผล ราก และลำต้นของหม่อน

2.1 นำผงแห้งที่ได้จากข้อ (1) มาสกัดด้วยตัวทำละลายทั้ง 2 ชนิด คือ เอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ และเฮกเซน ในอัตราส่วนที่ใช้ 1:5 (w/v) โดยใช้เครื่องเขย่าความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน (เบญจมาศ และคณะ, 2559)

2.2 กรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 1 เพื่อแยกเศษของแข็งออก ทำให้เข้มข้นขึ้นโดยการระเหยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ และเฮกเซน ด้วยเครื่องดูดควัน (Hood) เวลา 3 วัน ได้สารสกัดที่มีลักษณะข้น

2.3 ชั่งน้ำหนักและ เก็บสารสกัดที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อนำไปใช้ตลอดการทดลอง (ปรมาภรณ์ และ พิสุทธิ์, 2556)

3. การคัดแยกเชื้อราที่ก่อโรคในใบทุเรียน

3.1 เก็บตัวอย่างใบทุเรียนที่เป็นโรคมาล้างด้วยน้ำสะอาด ผึ่งให้แห้ง

3.2 นำใบทุเรียนที่ก่อโรคมาแช่ด้วยสารละลายครอร็อกซ์ เข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ 3 นาที แล้วล้างออกด้วยน้ำกลั่น

3.3 ตีปั่น (Stomacher) โดยทำการเจือจางให้ได้ระดับความเข้มข้น 10^{-3} ทำการ Pour plate ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ Dichloran Glycerol Agar (DG18) นำไปบ่มเชื้อเป็นเวลา 5-7 วัน ที่อุณหภูมิห้อง คัดเลือกโคโลนีของราก่อโรค

3.4 นำไปเลี้ยงบนอาหาร Potato dextrose agar (PDA) จนได้ราก่อโรคที่บริสุทธิ์

3.5 ตรวจสอบลักษณะของราก่อโรคภายใต้กล้องจุลทรรศน์ การจำแนกชนิดเชื้อราใช้สัณฐานวิทยา (morphology) เป็นหลักในการจำแนกชนิด โดยพิจารณาจากสปอร์ตามหลักการของ Hughes (Hughes, 1953) โดยนำตัวอย่างโคโลนีของเชื้อราตรวจสอบการสร้าง โครงสร้างสืบพันธุ์ของเชื้อรา (fruiting structure) บนอาหารเลี้ยงเชื้อ จากนั้นใช้เข็มย้ายเชื้อ สปอร์ และโครงสร้างสืบพันธุ์ดังกล่าวของเชื้อราไปกระจายในน้ำกลั่นที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้วไปทำสไลด์และตรวจดูโดยใช้กล้อง จุลทรรศน์ (compound microscope) วัดขนาด บันทึกลักษณะ บันทึกภาพ และจำแนกชนิด

4. การเตรียมสารสกัดจากพืชในระดับความเข้มข้นต่างๆ

ในการทดลองใช้ความเข้มข้นของสารที่ระดับความเข้มข้นคือ 300, 600 และ 900 มิลลิกรัมต่อ

มิลลิลิตร โดยทำ Stock solution ตามความเข้มข้นที่ต้องการทดสอบคือ 300, 600 และ 900 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปรับความเข้มข้นร่วมกับเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ และเฮกเซน เพื่อให้ได้ความเข้มข้นที่ต้องการ (พรพนา, 2550)

5. การเตรียม *Phyllosticta* sp. และ *Colletotrichum* sp. เชื้อราที่คัดแยกได้จากใบทุเรียน

5.1 ใช้ปิเปตดูดน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลอง

5.2 ใช้เข็มเขี่ยเชื้อแบบห่วงเขี่ยเชื้อรา (ข้อ 3.4) ใส่ลงในหลอดทดลอง (ข้อ 5.1)

5.3 นำไปเขย่าให้เข้ากัน จากนั้นนำไปทดสอบ

6. การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดพืชต่อการยับยั้งการเจริญของ *Phyllosticta* sp. และ *Colletotrichum* sp.

นำสารสกัดที่มีความเข้มข้น 300, 600 และ 900 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อด้วยวิธี Paper disc diffusion โดยนำกระดาษกรองที่ตัดเป็นแผ่นกลมขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วโดยหยดสารสกัดปริมาตร 20 ไมโครลิตร ส่วนชุดควบคุม (Control) ใช้เอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ และเฮกเซน หยดแทนสารสกัด จากนั้นใช้ปากคีบคีบแผ่นกระดาษแล้ววางลงบนผิวหน้าอาหาร Potato dextrose agar (PDA) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ ในแต่ละตัวทำละลายบ่มเชื้อไว้เป็นเวลา 7 วันที่อุณหภูมิห้อง บันทึกผลโดยวัดระยะทางการเจริญเติบโตของเชื้อราที่ทำการทดสอบในตัวทำละลายแต่ละชนิดที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ (สุธานันทน์, 2550)

7. การตรวจสอบเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ

การตรวจผลการทดลองโดยวัดการเจริญของเส้นใย เชื้อราที่กำลังเจริญอยู่บนผิวหน้าอาหารผสมสารสกัดจากพืชที่ระดับความเข้มข้น 0, 300, 600 และ 900 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยการวัดเส้นผ่าศูนย์กลางของโคโลนีที่เจริญในอาหาร โคโลนีของเชื้อราเปรียบเทียบการเจริญของเชื้อราในชุดควบคุม จนกระทั่งครบ 7 วัน จึงหยุดการบันทึกผล จากนั้นนำค่าที่ได้มาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโต จากสูตรดังต่อไปนี้

เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ = $[(A-B) / A] \times 100$

A = ค่าเฉลี่ยของเส้นผ่าศูนย์กลางของโคโลนีเชื้อราบนจานเลี้ยงเชื้อเปรียบเทียบ

B = ค่าเฉลี่ยของเส้นผ่าศูนย์กลางของโคโลนีเชื้อราที่ยับยั้งด้วยสารสกัด

8. การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลที่ได้จากการทดลองมาวิเคราะห์หาค่าเฉลี่ย และ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน วิเคราะห์ความแตกต่างโดยใช้ One way Anova ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

1. การสกัดสารจากใบ ผล ราก และลำต้นของหม่อน

ในการศึกษาครั้งนี้ได้นำส่วนต่างๆ ของหม่อนหรือมัลเบอร์รี ประกอบด้วย ใบ ผล ราก และลำต้น นำมาสกัดสารด้วยตัวทำละลาย คือ เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 และเฮกเซน ได้สารสกัดหยาบที่มีลักษณะทางกายภาพ คือสารสกัดที่สกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 มีลักษณะเป็นผงและข้นหนืด สีน้ำตาล เขียวและม่วงแดง ส่วนสารสกัดที่สกัดด้วยเฮกเซน มีลักษณะเป็นผง และข้นหนืด สีน้ำตาลและเขียว (ตารางที่ 1) โดยพบว่าเปอร์เซ็นต์ของสารสกัดหยาบอยู่ในช่วงระหว่าง 4.67 - 29.29 โดยผลหม่อนที่สกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซนให้เปอร์เซ็นต์ของสารสกัดมากที่สุด ในขณะที่รากและลำต้นที่สกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซนให้เปอร์เซ็นต์ของสารสกัด

น้อยที่สุด สอดคล้องกับการศึกษาของ สุวรรณี และคณะ (2557) ใช้ว่านน้ำที่บดละเอียดเติมตัวทำละลายเอทานอล ความเข้มข้นร้อยละ 95 ในอัตราส่วน 1:5 พบว่าเหง้าว่านน้ำแห้งที่บดละเอียด 200 กรัม ได้น้ำหนักของสารสกัด 9.95 กรัม คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ผลผลิตที่ได้ (% yield) 4.89 สารสกัดที่ได้ มีลักษณะข้นหนืด สีน้ำตาลแก่

2. การคัดแยกเชื้อราจากใบทุเรียน

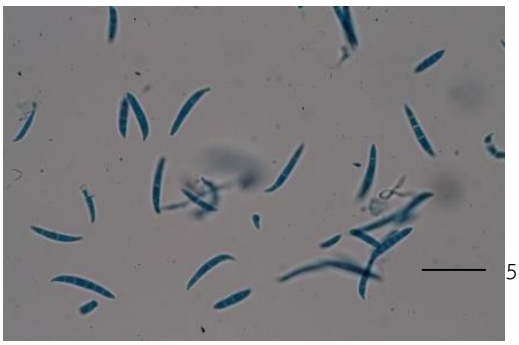
2.1 การนำใบทุเรียนที่เป็นโรคใบจุดโดยใบทุเรียนมีลักษณะคล้ายโดนน้ำร้อนลวก (ภาพที่ 1) มาแยกราก่อโรค เมื่อนำมาเลี้ยงบนอาหาร Dichloran 18% Glycerol Agar (DG18) พบเส้นใยเจริญฟูหนาแน่นบนผิวหน้าอาหาร เส้นใยเป็นสีส้มอมชมพู มีการสร้างสปอร์เห็นเป็นหยดเมือก (ภาพที่ 2) เมื่อตรวจดูลักษณะสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่าสปอร์มีลักษณะรูปร่างเป็นโค้งงอ เป็นท่อนสั้นๆ หัวท้ายมน ใสไม่มีสี จำแนกเป็นเชื้อรา *Colletotrichum* sp. (ภาพที่ 3) สอดคล้องกับศึกษาของ ธารทิพย์ (2559) พบว่าการคัดแยกเชื้อราก่อโรคในพริกบนอาหาร Potato dextrose agar (PDA) มีเส้นใยที่เจริญบนผิวหน้าอาหาร เมื่อตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์ สปอร์มีลักษณะรูปร่างเป็นท่อนสั้น หัวท้ายมน ไม่มีผนังกั้นภายใน ใสไม่มีสี จำแนกเป็นเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* และสอดคล้องกับการศึกษาของพรพิมล (2554) พบว่า *Colletotrichum* sp. ซึ่งเป็นเชื้อราที่จัดอยู่ใน Subdivision Deuteromycotina, Class Coelomycetes, Order Melanconiales, Family Melanconiaceae ลักษณะทั่วไปของเชื้อราชนิดนี้ คือ สร้างเส้นใยฝังอยู่ในผิวพืช เส้นใยไม่มีสีหรือมีสีตั้งแต่น้ำตาลอ่อนจนถึงน้ำตาลแก่ เส้นใยจะแตกกิ่งก้าน มีผนังกั้น (Septate) ส่วนขยายพันธุ์ของเชื้อราเรียกว่า โคนิเดีย (Conidia) มีลักษณะเซลล์เดียว ไม่มีสี ไม่มีผนังกั้น ลักษณะตรงหรือโค้งงอ มีรูปร่างหลายแบบ เกิดบนก้านชูโคนิเดีย (Conidiophore) ซึ่งมีกำเนิดจาก Stromatic cell ของโครงสร้างสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศที่เรียกว่า Acervulus ใต้ชั้น Epidermis ของพืชเมื่อแก่จะดันผิวพืชให้แตกออก เป็นเชื้อสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคใบจุดในทุเรียน ซึ่งลักษณะทั่วไปของโรคใบจุดที่พบ จะเกิดแผลฉ่ำน้ำ สีน้ำตาลเข้ม และมีการสร้างกลุ่มของ Conidia เป็นหยดสีส้มที่ในบริเวณแผลสอดคล้องกับการศึกษาของ วราภรณ์ และคณะ (2557) พบว่าคัดแยกเชื้อรา *Colletotrichum* sp. สาเหตุโรคแอนแทรคของมะม่วง การศึกษาลักษณะการเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato dextrose agar (PDA) พบว่าเชื้อมีการเจริญและกลุ่มที่เจริญฟูคล้ายสำลี โดยมีลักษณะโคนิเดียเป็นเซลล์เดียว

ตารางที่ 1 แสดงลักษณะของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆ ของหม่อนและร้อยละของสารสกัดต่อน้ำหนักแห้ง

ตัวทำละลายที่ใช้สกัด	ส่วนประกอบของหม่อน	ลักษณะของสารสกัด	ร้อยละของสารสกัด
95 % เอทานอล	ใบ	สีเขียวเข้มหนืด	17.45
	ผล	สีม่วงแดงข้นหนืด	21.53
	ราก	สีน้ำตาลแดง ผง	5.52
	ลำต้น	สีน้ำตาล ผง	5.51
เฮกเซน	ใบ	สีเขียวเหลือง ผง	18.35
	ผล	สีเขียวอ่อนหนืด	29.29
	ราก	สีน้ำตาล ผง	4.67
	ลำต้น	สีเขียวเข้มหนืด	4.67

ภาพที่ 1 โรคใบจุด (*Colletotrichum* sp.)

ภาพที่ 2 เชื้อรา *Colletotrichum* sp.

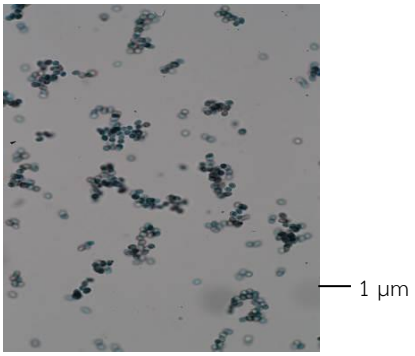


ภาพที่ 3 สปอร์เชื้อรา *Colletotrichum* sp. ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 1000 เท่า

2.2 คัดแยกเชื้อราก่อโรคจากใบทุเรียนที่เป็นโรคใบจุด ใบทุเรียนจะมีเนื้อเยื่อตายบริเวณปลายใบ (ภาพที่ 4) มาแยกราก่อโรค เมื่อนำมาเลี้ยงบนอาหาร Dichloran 18% Glycerol Agar (DG18) พบว่าลักษณะเชื้อราเป็นละอองสีดำเจริญเต็มผิวหน้าอาหาร (ภาพที่ 5) เมื่อตรวจดูลักษณะสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่าสปอร์เป็นจุดกลมๆ เรียงติดกันเป็นกลุ่มก้อน จำแนกเป็นเชื้อรา *Phyllosticta* sp. (ภาพที่ 6) สอดคล้องกับการศึกษาของ Chukeatirote *et al.* (2014) พบว่าเชื้อรา *Phyllosticta* sp. จากการเลี้ยงในซุปมันสำปะหลัง และเพาะเลี้ยงในอุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียล เป็นเวลา 2 สัปดาห์ โดย *Phyllosticta* sp. เป็นเชื้อที่ทำให้เกิดโรคใบจุดในทุเรียนและเชื้อนี้จะเข้าทำลายตั้งแต่ต้นและใบ เริ่มจากจุดช้ำฉ่ำน้ำ สีเหลือง ต่อมาจะค่อยๆ ขยายใหญ่ขึ้นโดยมีลักษณะเป็นแผลจุดวงกลมรีเล็กๆ ขนาดเท่าหัวเข็มหมุด ไปจนครึ่งเซนติเมตร (0.1-0.5 เซนติเมตร) สอดคล้องกับการศึกษาของ Chukeatirote *et al.* (2014) พบว่าเชื้อรา *Phyllosticta* sp. มีการแพร่กระจายอย่างกว้างขวาง เชื้อรานี้มีประโยชน์ในส่วนอื่นๆ เนื่องจากมีสารออกกฤทธิ์ทางชีวภาพ โดยระบุตามลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่แตกต่างกัน เนื้อเยื่อตรงกลางจะแห้งบางเป็นสีขาวนวลหรือน้ำตาลอ่อน ขณะเดียวกันก็จะพบว่ากลางแผลมีเม็ดราสีดำเล็กๆ ซึ่งเป็นสปอร์ของราเกิดขึ้นกระจัดกระจายทั่วแผลด้วย จุดแผลเหล่านี้เมื่อเป็นนานๆ จะค่อย ๆ บางลง จนในที่สุดจะขาดหลุดออกจากเนื้อใบ ทำให้เกิดอาการเป็นรูพรุนขึ้นทั่วไป ในฤดูฝนหรือช่วงที่มีความชื้นสูงรอบจุดแผลจะมีลักษณะฉ่ำน้ำสีเหลืองซีดเป็นวงล้อมอยู่โดยรอบ สำหรับที่ต้นและก้านใบแผลจะมีลักษณะเช่นเดียวกัน แต่จะไม่มีวงล้อมรอบ

ภาพที่ 4 โรคใบจุด (*Phyllosticta* sp.)

ภาพที่ 5 เชื้อรา *Phyllosticta* sp.



ภาพที่ 6 สปอร์เชื้อรา *Phyllosticta* sp. ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 1000 เท่า

3. การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อราของสารสกัด ใบ ผล ราก และลำต้นหม่อน

ในการศึกษาครั้งนี้ได้ศึกษาเกี่ยวกับประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆ ของหม่อนที่มีผลต่อการยับยั้งเชื้อราที่คัดแยกได้จากใบทุกเรียนทั้ง 2 ชนิด ได้แก่ *Phyllosticta* sp. และ *Colletotrichum* sp. ด้วยเทคนิค Paper Disc Diffusion Assay พบว่าสารที่สกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 เท่านั้น ที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อรา โดยสารสกัดหยาบจากลำต้นหม่อนและรากหม่อน มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อราได้ทั้ง 2 ชนิด สารสกัดหยาบจากหม่อนมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อรา *Phyllosticta* sp. คือ ส่วนของลำต้น ราก และผล เส้นผ่านศูนย์กลางวงใส เท่ากับ 2.87 ± 0.29, 1.86 ± 0.49 และ 1.29 ± 1.13 มิลลิเมตร ตามลำดับ แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % เชื้อรา *Colletotrichum* sp. ยับยั้งโดยสารสกัดจาก ลำต้น และราก เส้นผ่านศูนย์กลางวงใสเท่ากับ 1.86 ± 1.03 และ 2.37 ± 0.73 ตามลำดับ แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % (ตารางที่ 2) หม่อนเป็นพืชที่มีสารพฤกษเคมีมากมายหลายชนิด อาทิ เช่น แคโรทีนอยด์ (Carotenoicls) ฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) แอนโทไซยานิน (Anthocyanins) ฟีนอล (Phenol) เคอร์ซีทิน (Quercetin) เป็นต้น ซึ่งสารพฤกษเคมีแต่ละชนิดอาจจะมีบทบาทที่เหมือนกันและต่างกัน เช่น ที่มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อราจะประกอบด้วยคูมาริน (Coumarins) ฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) และฟีนอล (Phenol) เป็นต้น สอดคล้องกับการศึกษาของ นลินี และคณะ (2559) พบว่าคัดแยกเชื้อราก่อโรครากเน่าของทุเรียนนับเป็นปัญหาสำคัญมาก โดยใช้เชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis strain* WD 20 นำไปทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าและ

โคนเน่าในทุเรียนพบว่าเชื้อ *B. subtilis strain* WD 20 ที่เลี้ยงในอาหาร PDB สามารถสร้างสารยับยั้งเชื้อรา *P. palmivora* ได้

ตารางที่ 2 แสดงค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆ ของหม่อนที่สกัดด้วยเอทานอลในการยับยั้งเชื้อราก่อโรคจากใบทุเรียนทั้ง 2 ชนิด

สารสกัดจากส่วนต่างๆ ของหม่อน	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางวงใส ± SD (mm)	
	***Phyllosticta* sp.**	***Colletotrichum* sp.**
ใบ	-	-
ผล	$1.29^{a} \pm 1.13$	-
ราก	$1.86^{b} \pm 0.49$	$2.37^{c} \pm 0.73$
ลำต้น	$2.87^{c} \pm 0.29$	$1.86^{b} \pm 1.03$

หมายเหตุ: เอทานอล (control) ไม่มีการยับยั้งเชื้อรา

- คือ ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อรา

a, b, c แสดงความแตกต่างในแนวตั้งอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

4. ศึกษาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราจากสารสกัดหม่อน

จากการศึกษาพบว่า สารสกัดหม่อนจาก ผล ราก และลำต้น ด้วยตัวทำละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 ยับยั้งเชื้อรา *Phyllostict*a sp. ระดับความเข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีการยับยั้งร้อยละ 20.90 - 73.88 ระดับความเข้มข้น 600 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีการยับยั้ง 35.07 - 82.09 เปอร์เซ็นต์ และระดับความเข้มข้น 900 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีการยับยั้งร้อยละ 28.37 - 59.70 ตามลำดับ (ตารางที่ 3) ดังนั้นสารสกัดหม่อนจากผล ราก และลำต้นที่ระดับความเข้มข้น 600 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งดีที่สุด มีช่วงการยับยั้งระหว่างร้อยละ 35.07 - 82.09 และสารสกัดที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 ที่สามารถยับยั้งเชื้อรา *Colletotrichum* sp. มีเพียงลำต้นและรากหม่อนที่ระดับความเข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีการยับยั้งร้อยละ 2.02 - 14.14 ระดับความเข้มข้น 600 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีการยับยั้งร้อยละ 10.10 - 24.24 และ ระดับความเข้มข้น 900 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีการยับยั้งร้อยละ 22.22 ตามลำดับ (ตารางที่ 4) เพราะฉะนั้นสารสกัดของลำต้น และรากหม่อนที่ระดับความเข้มข้น 600 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีร้อยละการยับยั้งดีที่สุด มีช่วงการยับยั้งอยู่ระหว่างร้อยละ 10.10 - 24.24 สอดคล้องกับการศึกษาของ การศึกษาของ สุวรรณี และคณะ (2557) ศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดว่านน้ำ (*Acorus calamus* L.) ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราก่อโรคผลเน่าจำนวน 21 สายพันธุ์ เป็นสายพันธุ์อ้างอิงจำนวน 6 สายพันธุ์ และสายพันธุ์ที่แยกได้จากผลลิ้นจี่ จำนวน 15 สายพันธุ์ (ไอโซเลท) พบว่า สารสกัดว่านน้ำที่ระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 10,000 ppm ขึ้นไป แสดงร้อยละการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราเฉลี่ยสูงที่สุด (มากกว่า ร้อยละ 80) ในขณะที่สารยับยั้งเชื้อราคาร์เบนดาซิม ที่ความเข้มข้น 1,000 ppm แสดงร้อยละการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราเฉลี่ย 70.26 นอกจากนี้พบว่าผลการทดลองสอดคล้องกับการรายงานของ พรรณนิภา (2521) ที่กล่าวว่า การที่สาร

สกัดจากพืชจะมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรามากหรือน้อยขึ้นอยู่กับชนิดของพืช ชนิดของเชื้อราและความเข้มข้นของสารสกัดจากพืช

ตารางที่ 3 แสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อรา *Phyllosticta* sp. ที่สกัดด้วยเอทานอลจากส่วนต่างๆของหม่อน

หม่อน	เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง		
	300 mg/ml	**600 mg/ml**	**900 mg/ml**
ผล	73.88[c]	82.09[c]	59.70[c]
ราก	26.12[b]	35.07[b]	0.00[a]
ลำต้น	20.90[b]	36.57[b]	28.37[b]

หมายเหตุ: a, b, c แสดงความแตกต่างในแนวตั้งอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

ตารางที่ 4 แสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ที่สกัดด้วยเอทานอลจากส่วนต่างๆ ของหม่อน

หม่อน	เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง		
	300 mg/ml	**600 mg/ml**	**900 mg/ml**
ราก	2.02[a]	10.10[b]	0.00[a]
ลำต้น	14.14[b]	24.24[c]	22.22[c]

หมายเหตุ: a, b, c แสดงความแตกต่างในแนวตั้งอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

สรุป

จากการคัดแยกเชื้อราจากใบทุเรียน คัดแยกเชื้อราได้ 2 ชนิด คือ เชื้อรา *Phyllosticta* sp. มีลักษณะสปอร์เป็นจุดกลมๆ เรียงติดกันเป็นกลุ่มก้อน มีการแพร่กระจายอย่างกว้างขวางเป็นเชื้อที่ทำให้เกิดโรคใบจุดในทุเรียนและเชื้อนี้จะเข้าทำลายตั้งแต่ต้นและใบ เริ่มจากจุดช้ำฉ่ำน้ำ สีเหลือง ต่อมาจะค่อยๆ ขยายใหญ่ขึ้นโดยมีลักษณะเป็นแผลจุดวงกลมรี เล็กๆ ขนาดเท่าหัวเข็มหมุด และเชื้อรา *Colletotrichum* sp. มีลักษณะสปอร์มีลักษณะรูปร่างเป็นโค้งงอ ใส่ไม่มีสี สร้างเส้นใยฝังอยู่ในผิวพืช เส้นใยไม่มีสีหรือมีสีตั้งแต่น้ำตาลอ่อนจนถึงน้ำตาลแก่ เป็นเชื้อสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคใบจุดในทุเรียน ซึ่งลักษณะทั่วไปของโรคใบจุดที่พบจะเกิดแผลฉ่ำน้ำ สีน้ำตาลเข้ม จากการศึกษาสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆ ของหม่อน พบว่าสารสกัดลำต้นหม่อนและรากหม่อนที่สกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 สามารถยับยั้งเชื้อราก่อโรคจากใบทุเรียนได้ทั้ง 2 ชนิด คือ เชื้อรา *Phyllosticta* sp. และ เชื้อรา *Colletotrichum* sp. ซึ่งมีเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใสเท่ากับ 2.87 ± 0.29, 1.86 ± 1.03, 1.86 ± 0.49 และ 2.37 ± 0.73 มิลลิเมตร ตามลำดับ ส่วนผลหม่อนที่สกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 ไม่มีการยับยั้งเชื้อราเช่นเดียวกับสารสกัดใบ ผล ราก และลำต้นของหม่อนที่สกัดที่สกัดด้วยเฮกเซนไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อราก่อโรคในใบทุเรียนได้

จากนั้นทำการศึกษาร้อยละการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราจากจากสารสกัดหม่อนที่สกัดด้วยเอทานอล ความเข้มข้นร้อยละ 95 ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Phyllosticta* sp. ที่ระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 300 - 900 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเส้นใยได้ร้อยละ

59.70 - 82.09 ในขณะที่สารสกัดหยาบจากรากและลำต้นของหม่อนที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 ที่ระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 300 - 900 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีร้อยละการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Phyllosticta* sp. และเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ได้ร้อยละ 26.12 - 35.07, 14.14 - 24.24 และ 20.90 - 36.57 และ 2.02 - 10.10 ตามลำดับ

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ผู้เขียนขอขอบคุณ จิตติพร บุญยมภัทราวดี ฉิมภารี และ อรวรรณ ใจแก้ว นักศึกษามหาวิทยาลัยราชภัฏสุราษฎร์ธานีที่ช่วยเหลือในการทำวิจัยครั้งนี้ และขอบคุณมหาวิทยาลัยราชภัฏสุราษฎร์ธานีที่สนับสนุนเครื่องมือในการทำวิจัย

เอกสารอ้างอิง

กรมวิชาการเกษตร. มปป. **เอกสารวิชาการทุเรียน ศูนย์วิจัยพืชสวนจันทบุรี ในโครงการหนังสืออิเล็กทรอนิกส์ เฉลิม พระเกียรติ พระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัว.** แหล่งที่มา: http://ag-ebook.lib.ku.ac.th/เอกสารวิชาการทุเรียน, 10 มิถุนายน 2561.

ธารทิพย์ รัตนะ. 2559. ประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากสับปะรดและมะละกอในการต่อต้านราก่อโรคแอนแทรกโนสในพริก. **วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี** 3(24): 456-468.

นลินี ศิวากรณ์, พจนา ตระกูลสุขรัตน์ และ ศิริพร วรกุลดำรงชัย. 2559. **รายงานผลการวิจัยการควบคุมโรครากเน่าและโคนเน่าของทุเรียนโดยใช้ชีวภัณฑ์ที่ผลิตได้จากเชื้อ *Bacillus subtilis*.** กลุ่มวิจัยโรคพืชสำนักงานวิจัยโรคพืช, กรมการเกษตร.

เบญจมาศ หนูแป้น, จาตุรนต์ ทิพย์วงศ์, กนกรัตน์ ใสสอาด และ ไซนีย๊ะ สะมาลา. 2559. สารพฤกษเคมีและฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสกัดจากใบราน้ำ. **วารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์** 3ฉบับพิเศษ (III)(2): 26-33.

ปรมาภรณ์ เกิดทรัพย์และ พิสุทธิ์ หนักแน่น. 2556. **รายงานการวิจัยการพัฒนาสารเคลือบผิวต้านจุลินทรีย์ที่เติมสารสกัดใบหม่อน และใบกระเพราเพื่อการประยุกต์ใช้เป็นสารเคลือบผิวเพื่อยืดอายุการเก็บรักษามะม่วง.** มหาลัยศรีนครินทร วิโรฒประสานมิตร.

พรพนา นาคสิงห์. 2550. ผลการยับยั้งเชื้อราของส่วนสกัดเอทานอลจากเปลือกผลทับทิมต่อเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของพริก. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

พรพิมล อธิปัญญาคม. 2554. **โรคใบจุดในโรคผักและการป้องกันกำจัด.** กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการเกษตร, กรมวิชาการเกษตร.

พรรณนิภา ชุมศรี. 2521. **รายงานวิจัยการตรวจสมุนไพรที่มีฤทธิ์ในการทำลายเชื้อจุลินทรีย์.** สภาวิจัยแห่งชาติ.

รตยาภรณ์ ชูภู่, สัจจา บรรจงศิริ และ อัจฉรา โพธิ์ดี. 2554. การจัดการในกระบวนการผลิตต้นพันธุ์ทุเรียนหมอนทองแบบเสียบยอดของเกษตรกรในจังหวัดชุมพร. **วารสารเทคโนโลยีภาคใต้** 4(1): 23-44.

วราภรณ์ สุทธิสา, ภานุวัฒน์ เทพคาราม, วัชรา กาญจนรัช และ พนิดา อริมัตสึ. 2557. ประสิทธิภาพของสารสกัดสมุนไพรไทยในการควบคุมเชื้อรา *Colletorichum*

gloeosporioides สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของมะม่วง. **แก่นเกษตร** 42(ฉบับพิเศษ 1): 665-670.

สุธานันทน์ นาคประนม. 2550. ประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรบางชนิดในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* และ *Sclerotium rolfsii* เชื้อราสาเหตุโรคพืช. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สุวรรณี แทนธานี, จารวี สุขประเสริฐ, สายจิต ดาวสุโข และ โสรญา รอดประเสริฐ. 2557. การศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดว่านน้ำในการยับยั้งเชื้อราก่อโรคผลเน่าที่แยกได้จากผลลิ้นจี่. **วารสารวิทยาศาสตร์ประยุกต์** 3(3): 88-101.

สำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร. มปป. **ทุเรียนความสำคัญทางเศรษฐกิจ.** แหล่งที่มา: http://www.arda.or.th/kasetinfo/south/durian/history/01-03.php, 10 มิถุนายน 2561

Chukeatirote, E., Wikee, S. and Hyde, K.D. 2014. Diversity and antibacterial activity of Phyllosticta species. **Micologia Aplicada International** 27(1): 1-9.

Hughes, S.J. 1953. Conidiophores, conidia and classification. **Journal of Botany** 31: 577-659.

Sohn, H.Y., Son, K.H., Kwon, C.S., Kwon, G.S. and Kang, S.S. 2004. Antimicrobial cytotoxicactivity of 18 prenylated flavonoids isolated from medical plant : *Morus alba* L., *Morusmongolica Schneider*, *Broussnetia papyrifera* (L.) Vent *Sophora flavescens* Ait and *Echinosophorakoreensis Nikai*. **Phytomedicine** 11: 666-672.

Takahashi, K and Shirata, A. 1982. Production of Antifungal Substances in Mulberry. **Japan Agricultural Research Quarterly** 16(2): 119-124