รายงานผลงานเรื่องเต็มการทดลองที่สิ้นสุด

---

1. แผนงานวิจัย: การวิจัยและพัฒนาชีวภัณฑ์เพื่อการผลิตพืชปลอดภัย

2. โครงการวิจัย: ศึกษาปริมาณและคุณสมบัติทางชีวภาพของสารสคอพอเลตินจากพืชและการประยุกต์ใช้ควบคุมการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคในพืช

3. ชื่อการทดลอง (ภาษาไทย): ศึกษาคุณสมบัติการเป็นสารป้องกันการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์บางชนิด (antimicrobial property)

(ภาษาอังกฤษ): ระบุชื่อการทดลองตามแบบ ว1-ก ที่ผ่านการอนุมัติ

4. คณะผู้ดำเนินงาน

หัวหน้าการทดลอง	นางสาวเขมมิการ์ โขมพัตร	**สังกัด**สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 8
ผู้ร่วมงาน	นางสาวอภิญญา สุราวุธ	**สังกัด**สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 8
	นางสาวนพวรรณ นิลสุวรรณ	**สังกัด** ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรสงขลา
	นางสาวปริยากร ฤทธิสุนทร	**สังกัด**สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 8
	นางสาวธารทิพย ภาสบุตร	**สังกัด**สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
	นางสาวทิพวรรณ กันหาญาติ	**สังกัด**สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
	นางสาวมะโนรัตน์ สุดสงวน	**สังกัด**สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
	นางสาวกาญจนา ศรีไม้	**สังกัด**สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

กรมวิชาการเกษตร

5. บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์ของสารสคอพอเลตินที่สกัดจากผลยอบ้านต่อการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคพืชบางชนิด โดยทำการทดสอบกับเชื้อราจำนวน 9 ชนิด ได้แก่ *Fusarium* sp.(2 ชนิด), *Alternaria* sp. (1 ชนิด), *Curvularia* sp. (2 ชนิด), *Sclerotium* sp. (1 ชนิด), *Colletotrichum* sp. (1 ชนิด), *Pestalotiopsis* sp. (1 ชนิด) และ *Tricoderma* sp. (1 ชนิด) และเชื้อแบคทีเรียจำนวน 10 ชนิด ได้แก่ *Ralstonia solanacearum* (1 ชนิด), *Pectobacterium* sp. (5 ชนิด), *Bacillus thuringiensis* (1 ชนิด), *Staphylococcus aureous* (1 ชนิด), *Salmonella* spp. (1 ชนิด) และ *Escherichia coli* (1 ชนิด) พบว่า

สารสคอพอเลตินที่ระดับความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ให้ผลยับยั้งการเจริญของเชื้อราก่อโรคจำนวน 7 ชนิดเชื้อ โดยมีค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่สคอพอเลตินที่ระดับความเข้มข้นเดียวกันให้ผลยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้น้อยมาก ผลการทดลองชี้ให้เห็นว่าสคอพอเลตินให้ผลยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ดีกว่าแบคทีเรีย จึงมีแนวโน้มเป็นสารทางเลือกใหม่จากธรรมชาติสำหรับนำไปใช้ควบคุมโรคพืชที่เกิดจากเชื้อราโดยจำเป็นจะต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมในส่วนการนำไปประยุกต์ใช้จริงต่อไป

6. คำนำ

ในกระบวนการผลิตทางการเกษตร ปัญหาโรคพืช ทั้งที่เกิดจากแบคทีเรีย เชื้อรา หรือแม้กระทั่งไวรัสนับเป็นปัจจัยสำคัญที่ก่อความเสียหายให้แก่เกษตรกรผู้ผลิตอยู่เสมอ สำหรับในพื้นที่ภาคใต้ ปัญหาโรคพืชที่พบบ่อยครั้ง เช่น การเกิดโรคใบร่วงในยางพาราจากเชื้อไฟทอปธอร่า (*Phytophthora* spp.) โรคเหี่ยวในกล้วยหินจากเชื้อแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* โรคเหี่ยวในต้นสับปะรดจากเชื้อ *Closterovirus* เป็นต้น ซึ่งปัญหาจากโรคพืชดังกล่าวล้วนสร้างความเสียหายต่อคุณภาพของผลผลิตทั้งในเชิงปริมาณและคุณภาพ สำหรับในปัจจุบันเมื่อพบว่ามีการระบาดของโรคเกิดขึ้น ทางเลือกของเกษตรกรในการแก้ปัญหายังคงมุ่งไปยังการเลือกใช้สารเคมีสังเคราะห์ซึ่งต้องใช้ด้วยความระมัดระวัง เพื่อไม่ให้เกิดผลกระทบต่อความปลอดภัยเกษตรกรผู้ใช้สารเคมีนั้นๆโดยตรง รวมไปถึงการตกค้างของสารเคมีในผลผลิต ซึ่งนำไปสู่ความไม่ปลอดภัยต่อผู้บริโภค อีกทั้งยังถูกหยิบยกมาเป็นประเด็นด้านอาหารปลอดภัยเพื่อใช้พิจารณาในการตกลงซื้อขายสินค้า

ปัจจุบันหน่วยงานภาครัฐได้เข้ามามีส่วนในการควบคุมดูแลคุณภาพสินค้าเกษตรโดยสนับสนุนให้เกษตรกรผลิตตามระบบเกษตรดีที่เหมาะสม (Good Agricultural Practice: GAP) และได้เร่งส่งเสริมนโยบายเพิ่มการทำเกษตรอินทรีย์เพื่อให้ได้ผลผลิตที่มีความปลอดภัยปราศจากสารเคมีปนเปื้อน โดยได้กำหนดเป็นแผนยุทธศาสตร์เกษตรอินทรีย์แห่งชาติ มีเป้าหมายที่จะเพิ่มพื้นที่เกษตรอินทรีย์ เพิ่มสัดส่วนตลาดในประเทศ ตลาดส่งออกเป็น 40:60 และยกระดับกลุ่มเกษตรอินทรีย์วิถีพื้นบ้านเพิ่มขึ้น ดังนั้นเพื่อรองรับแนวทางการผลิตพืชดังกล่าวข้างต้นภายใต้สภาวะที่การเกิดโรคพืชยังคงพบอยู่เสมอจึงจำเป็นต้องมีการศึกษาและวิจัยเพื่อให้ได้สารชีวภัณฑ์ (biocontrol) สำหรับเป็นทางเลือกให้แก่เกษตรกรนำไปปรับใช้แก้ปัญหาโรคพืชแทนการใช้สารเคมีทั้งนี้ปัจจุบันสารชีวภัณฑ์สำหรับใช้ป้องกันโรคพืชได้มีการผลิตเชิงการค้าโดยภาคเอกชน แต่ยังคงมีตัวเลือกไม่มากนักและส่วนใหญ่จะเป็นการใช้เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ เช่น เชื้อราไตรโคเดอร์มา (*Trichoderma harzianum*) เชื้อแบคทีเรียบาซิลลัส ซับทีลิส (*Bacillus subtilis*) เชื้อรากลิโอคลาเดียม ไวเรน (*Gliocladium virens*) เชื้อ

กรมวิชาการเกษตร

แบคทีเรียสเตรปโตมัยซีส (*Streptomyces* sp.) ซึ่งจำเป็นต้องใช้ความรู้ทางด้านจุลชีววิทยาในการผลิตผลิตภัณฑ์เพื่อให้เกษตรกรสามารถนำไปใช้แก้ปัญหาในแปลงต่อไปได้

สคอพอเลติน เป็นสารทุติยภูมิที่มีมวลโมเลกุลต่ำ จุดเดือดสูง มีธาตุคาร์บอน ไฮโดรเจน และออกซิเจนเป็นองค์ประกอบ ภายใต้สภาวะที่ถูกกระตุ้นทั้งจากตัวกระตุ้นแบบชีวภาพและทางกายภาพ พืชสามารถสร้างสารชนิดนี้เพิ่มขึ้นมาได้อีกในปริมาณมาก โดยอาจพบได้ในบริเวณชิ้นส่วนต่างๆ เช่น ลำต้น ราก ใบ และผล อย่างไรก็ตามสารนี้ถูกสร้างขึ้นในพืชเพียงบางชนิด โดยจุดเด่นของสารชนิดนี้คือการมีคุณสมบัติยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ (antimicrobial) รวมทั้งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) ปัจจุบันจึงได้มีการนำไปใช้ประโยชน์อย่างแพร่หลายโดยเฉพาะในทางการแพทย์ อย่างไรก็ตามการศึกษาและนำสคอพอเลตินมาใช้ประโยชน์ในเชิงการเกษตรเพื่อป้องกันหรือลดระดับความรุนแรงจากการถูกเชื้อรุกราน สำหรับประเทศไทยยังคงมีข้อมูลน้อย

นอกจากการศึกษาเพื่อพัฒนาด้านการอารักขาพืชแล้ว การศึกษาสารสำคัญในพืชที่สามารถหาได้ง่าย และราคาต่ำยังนับเป็นการเพิ่มมูลค่าให้กับพืชชนิดนั้นๆได้ โดยเฉพาะในพืชบางชนิดที่มักประสบปัญหาผลผลิตล้นตลาด เช่น ลองกอง หากมีแนวทางช่วยเหลือเกษตรกรโดยการนำผลผลิตดังกล่าวมาสกัดสารสำคัญที่สามารถพัฒนาไปใช้ต่อยอดในอีกหลากหลายสาขาทั้งในงานด้านการเกษตร ตลอดจนงานด้านอุตสาหกรรมและการแพทย์ จะก่อให้เกิดประโยชน์ในเชิงเศรษฐกิจอีกมากมาย นอกจากนี้การศึกษาแนวทางในการนำสคอพอเลตินที่สกัดได้จากพืชมาใช้ประโยชน์ทางการเกษตร โดยมุ่งเป้าหมายให้เกษตรกรสามารถนำความรู้มาปรับใช้ในแปลงเกษตรด้วยตนเองโดยใช้วิธีการสกัดที่ไม่ซับซ้อนมากนัก ไม่ต้องใช้เทคโนโลยีระดับสูงที่เกษตรกรเข้าถึงได้ยาก และอาศัยวัตถุดิบที่หาได้ง่าย ต้นทุนการผลิตไม่สูงจำเป็นต้องดำเนินการอย่างเร่งด่วนเพื่อรองรับแนวทางการส่งเสริมการเกษตรของทางภาครัฐที่มุ่งไปยังประเด็นการสร้างความปลอดภัยแก่ผู้บริโภคจากปัญหาสารเคมีตกค้าง การรณรงค์ลดการใช้สารเคมีแก้ปัญหาโรคพืช รวมทั้งลดความเสียหายของผลผลิต จึงจำเป็นต้องสร้างทางเลือกในการแก้ปัญหาโรคพืชให้แก่เกษตรกรผู้ผลิตด้วยควบคู่กัน

6.1 วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาคุณสมบัติทางชีวภาพของสารสคอพอเลตินในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์บางชนิด

6.2 เป้าหมายของงานวิจัย

โครงการวิจัยนี้มุ่งเน้นไปที่การศึกษาฤทธิ์ของสารสคอพอเลตินที่สกัดได้จากพืชท้องถิ่นภาคใต้ตอนล่างต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ซึ่งเกี่ยวข้องกับงานด้านการเกษตรเพื่อให้ได้มาซึ่งข้อมูลแนวโน้มความเป็นไปได้ในการนำสารสำคัญจากพืชมาปรับใช้เป็นสารทางเลือกใหม่ๆที่หาได้ง่ายสำหรับควบคุมโรคพืชหรือเชื้อจุลินทรีย์

กรมวิชาการเกษตร

อื่นๆ ทั้งยังนำไปสู่การสร้างองค์ความรู้ใหม่ๆในทางวิชาการเกษตรอันเป็นการนำพืชท้องถิ่นที่หาได้ง่ายและมีศักพยภาพในตัวเองสู่การเพิ่มมูลค่าทางใดทางหนึ่งเพื่อก่อให้เกิดรายได้และการพึ่งพาตนเองของเกษตรกรไทย

6.3 การตรวจเอกสาร

จากปัญหาการเกิดโรคพืชในกระบวนการผลิตทางการเกษตร ส่งผลให้มีการใช้สารเคมีเพื่อแก้ปัญหาดังกล่าว และส่งผลกระทบต่อเนื่องมายังสุขภาพของทั้งผู้ผลิตและผู้บริโภค แนวทางในการแก้ไขปัญหาโดยภาครัฐจึงมุ่งควบคุมกระบวนการผลิตทั้งการควบคุมผ่านระบบการเกษตรดีที่เหมาะสม (GAP) และ การผลิตพืชอินทรีย์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งการผลิตพืชอินทรีย์ได้ถูกกำหนดให้เป็นยุทธศาสตร์ระดับประเทศ คณะรัฐมนตรีมีมติเห็นชอบยุทธศาสตร์การพัฒนาเกษตรอินทรีย์แห่งชาติ พ.ศ. 2560-2564 ซึ่งเป็นแผนฉบับที่ 2 หลังจากที่แผน 1 สิ้นสุดไปตั้งแต่ปี 2554 โดยในแผนใหม่นี้ ตั้งวิสัยทัศน์ให้ "ประเทศไทยเป็นผู้นำในระดับภูมิภาคด้านการผลิต การบริโภค การค้าสินค้าและการบริการเกษตรอินทรีย์ ที่มีความยั่งยืนและเป็นที่ยอมรับในระดับสากล"โดยมีเป้าหมายที่จะเพิ่มพื้นที่เกษตรอินทรีย์ให้เป็น 600,000 ไร่ในปี 2564 และมีเกษตรกรที่ทำเกษตรอินทรีย์ไม่น้อยกว่า 30,000 ราย รวมทั้งเพิ่มสัดส่วนตลาดในประเทศ-ตลาดส่งออกเป็น 40:60 และยกระดับกลุ่มเกษตรอินทรีย์วิถีพื้นบ้านเพิ่มขึ้น (http://www.greennet.or.th/news/1907 ; accessed 6/23/17) อย่างไรก็ตามจากการศึกษาปัญหาและอุปสรรคในการปรับเปลี่ยนเป็นการผลิตพืชผักอินทรีย์ โดยณัชชาและดุสิต, 2556 ได้รายงานว่าเกษตรกรส่วนใหญ่ขาดความรู้เกี่ยวกับการห้ามใช้ปุ๋ยเคมีและใช้สารเคมีใดๆในระบบการผลิตพืชทั้งเกษตรกรยังเลือกที่จะใช้สารเคมีในการควบคุมศัตรูพืช ดังนั้นการแก้ปัญหาดังกล่าวข้างต้นต้องถ่ายทอดองค์ความรู้เกี่ยวกับการใช้ปุ๋ยอินทรีย์หลักการจัดการระบบนิเวศการใช้สารชีวภัณฑ์และจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ทดแทนการใช้สารเคมีสังเคราะห์

6.3.1 สารชีวภัณฑ์เพื่อการแก้ปัญหาโรคพืชในปัจจุบัน

ปัจจุบันได้มีการศึกษาเกี่ยวกับสารชีวภัณฑ์เพื่อนำมาใช้แก้ปัญหาโรคพืชเพื่อทดแทนการใช้สารเคมีโดยนักวิจัยจากหลายหน่วยงาน ซึ่งส่วนใหญ่จะเป็นการนำเชื้อจุลินทรีย์ที่มีคุณสมบัติในการเติบโตเพิ่มจำนวนได้เร็วกว่าเชื้อก่อโรคพืช หรือมีคุณสมบัติในการชักนำให้พืชสามารถสร้างภูมิคุ้มกันในตัวเอง หรือส่งเสริมให้พืชเจริญเติบโตและมีความแข็งแรงทำให้สามารถทนต่อการถูกเชื้อก่อโรคเข้าทำลาย เช่น การพัฒนาการผลิตชีวภัณฑ์ของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus velezensis* เพื่อเป็นทางเลือกเพิ่มเติมซึ่งจากการวิจัยของมานะ และคณะ (2553) พบว่าสูตรชีวภัณฑ์ *B. velezensis* รูปแบบของเหลวแขวนตะกอนเข้มข้นสามารถลดเปอร์เซ็นต์การเข้าทำลายที่รากพืชของเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าที่ปรากฏในระบบปลูกและยังพบว่าการฉีดพ่นชีวภัณฑ์มีผลต่อการเพิ่มน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของพืชด้วยเช่นกันอย่างไรก็ตามในกระบวนการผลิตชีวภัณฑ์ดังกล่าวผู้วิจัยได้ระบุถึงปัญหาในแง่ต้นทุนของการผลิตชีวภัณฑ์ดังกล่าวโดยมีราคาที่ค่อนข้างสูงซึ่งอาจจะเป็นอุปสรรคต่อการนำไปใช้โดยเกษตรกรผู้ปลูกพืช หรือ การใช้ *B. subtilis* ซึ่งสามารถผลิตสารปฏิชีวนะได้ถึง 65-70 ชนิดโดยสารที่ผลิตขึ้นสามารถยับยั้ง

เชื้อสาเหตุโรคพืชได้ได้แก่ iturin A, surfactin, bacilysin, fengymycin, bacliomycin, albolutin, bacillin และ fungistatin รวมทั้งยังสามารถผลิตเอนไซม์ chitinase และ β-1,3 glucanase ซึ่งมีผลต่อการชักนำภูมิต้านทานพืชได้หรือการใช้ *Pseudomonas* spp. ซึ่งสามารถผลิตสารปฏิชีวนะที่ยับยั้งเชื้อโรคพืชได้ดีคือ pyoluteorin, 2,4-diacetylphluoroglucinol (DAPG), siderophore, pyrrolnitrin, phenazine-1-carboxylic acid (PCA), antharanilic acid, phenazine-1-carboxamide (PCN) และ viscosinamide (พันศักดิ์ และคณะ 2558) นอกจากนี้ชีวภัณฑ์อีกชนิดหนึ่งที่มีการใช้อย่างแพร่หลายได้แก่เชื้อไตรโคเดอร์ม่า ได้ถูกนำมาทดสอบโดย จินันทนา และสุมาฬี ในปี 2558 โดยนำ ชีวภัณฑ์ชนิดผง (wettable powder) ของเชื้อรา *Trichoderma virens* และ *T. harzianum* มาทดสอบประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดโรคของข้าว ซึ่งพบว่าการพ่นด้วยชีวภัณฑ์เชื้อราให้ผลดีเทียบเท่าหรือดีกว่าการพ่นด้วยสารเคมีกำจัดรา mancozeb นอกจากนี้ในเชิงการค้าพบว่าผลิตภัณฑ์ที่มีจำหน่ายเพื่อการป้องกันกำจัดโรคพืชมักเป็นสารในกลุ่มเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในกลุ่มเชื้อรา *Trichoderma* spp., เชื้อจุลินทรีย์ *B. subtilis*, เชื้อรา *Gliocladium virens*, เชื้อแบคทีเรีย *Streptomyces* sp. (http://www.kasetkawna.com/product; accessed 6.23.17) หรือ สารสกัดจากพืช เช่น ข่า ว่านน้ำ ใบบัวบก และว่านหางจระเข้(http://www.nanagarden.com ; access 6.23.17)

6.3.2 สารไฟโตอเล็กซิน (Phytoalexin)

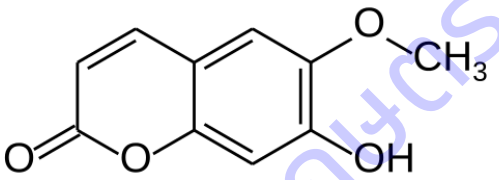
ไฟโตอเล็กซิน เป็นสารปฏิชีวนะที่พืชสร้างขึ้น มีความเป็นพิษต่อเชื้อโรค จึงสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ มีมวลโมเลกุลต่ำ ผลิตโดยพืชเพื่อตอบสนองต่อการกระตุ้นจากเชื้อโรคหรืออิลิซิเตอร์ต่างๆทั้ง biotic และ abiotic สารไฟโตอเล็กซินเป็นสารที่มีคุณสมบัติเฉพาะ ขึ้นอยู่กับชนิดของพืช แต่ไม่เจาะจงกับเชื้อโรคชนิดใดชนิดหนึ่ง โดยถูกกล่าวถึงครั้งแรกเมื่อปี 1940 โดย Müller and Börger ซึ่งต่อมาได้มีการศึกษาและพบว่าไฟโตอเล็กซินยังมีคุณสมบัติยับยั้งแบคทีเรีย รา รวมทั้งไวรัส จึงนับเป็นสารพิษจากพืชที่มีการแสดงความเป็นพิษครอบคลุมในวงกว้างทั้งในกลุ่มโปรคาริโอทและยูคาริโอทอย่างไรก็ตามมีการรายงานว่าไฟโตอเล็กซินมีความเป็นพิษน้อยกว่าสารเคมีกำจัดเชื้อรา การศึกษาเกี่ยวกับสารชนิดนี้ในช่วงต้นหลังจากการค้นพบมุ่งไปยังพืชในวงศ์ Leguminaceae หรือ Fabaceae และวงศ์ Solanaceae ซึ่งในยุคต่อมาได้มีการศึกษาเพิ่มในอีกหลายวงศ์ เช่น Vitaceae, Malvaceae, Euphorbiaceae, Moraceae, Orchidaceae, และ Ginkgoaceae (Jeandet *et al.,* 2013) สารในกลุ่มนี้มีคุณสมบัติเฉพาะขึ้นอยู่กับชนิดของพืช อัตราการเกิดไฟโตอเล็กซินขึ้นอยู่กับพันธุกรรมของพืช และเกิดในเซลล์พืชที่มีชีวิตเท่านั้น การสังเคราะห์ไฟโตอเล็กซินในพืชทุกชนิดอาศัยวิถีของ shikimate, acetate-malonateและ acetate-mevalonate ซึ่งเป็นวิถีเมแทบอลิซึมแบบทุติยภูมิ (Kuc, 1995) ไฟโตอเล็กซินมีหลายชนิด บางชนิดอาจมีผลให้พืชเกิดปฏิกิริยา hypersensitive และบางชนิดมีผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อสาเหตุ

กรมวิชาการเกษตร

โรคพืช สารเหล่านี้ปกติจะมีปริมาณเพียงเล็กน้อยในเซลล์พืช แต่เมื่อพืชเกิดสภาวะเครียดจะมีการผลิตสารชนิดนี้เพิ่มมากขึ้น (จิระภา, 2551)

6.3.3 สคอพอเลติน (Scopoletin)

สคอพอเลติน เป็นสารทุติยภูมิที่พืชสร้างขึ้นมาเพื่อตอบสนองต่อการกระตุ้นทั้งตัวกระตุ้นชีวภาพ เช่น เชื้อจุลินทรีย์ หรือ ตัวกระตุ้นทางกายภาพ เช่น การเกิดบาดแผล หรือการได้รับรังสีบางชนิด สคอพอเลตินมีขนาดโมเลกุล 192.17 กรัมต่อโมล และจุดหลอมเหลวที่ 204 องศาเซลเซียส โดยมีโครงสร้างดังรูปที่ 1



รูปที่1 โครงสร้างของสคอพอเลติน

กรมวิชาการเกษตร

สคอพอเลตินจัดอยู่ในกลุ่มไฟโตอเล็กซินที่มีการรายงานการพบในพืชหลายชนิด เช่น พืชในตระกูลผักบุ้ง *(Convolvulus microphyllus)* (Zafar *et al*., 2005), พืชตระกูลยาสูบ *(Nicotiana benthamiana)* (Vialart *et al*., 2012), ยางพารา (*Hevea brasiliensis)* (Churngchow and Rattarasarn, 2001), มันฝรั่ง (*Solanum tuberosum*)(Andreae and Andreae, 1949), ผักคราดหัวแหวน *(Spilanthes acmella* Murr.) (Abyari *et al.,* 2016), ยอ *(Morinda citrifolia* Linnaeus) (West and Deng, 2010), มันสำปะหลัง (*Manihot esculenta*) (BA *et al*., 2017) และทานตะวัน (*Helianthus annuus*) (Saftić-Panković *et al.,* 2006) โดย Gutierrez *et al.,* (1995) ได้นำใบของทานตะวันมาศึกษากระบวนการสะสมของสคอพอเลติน พบว่าสามารถเหนี่ยวนำกิจกรรมของเอนไซม์เปอร์ออกซิเดสที่ออกซิไดซ์สคอพอเลตินให้เป็นสารประกอบที่มีสีและไม่ละลายน้ำหลังการกระตุ้นใบด้วย $CuCl_2$ หรือน้ำตาลซูโครส โดยเห็นการเรืองแสงเกิดขึ้นภายใต้แสง UV ในขณะที่กระตุ้นด้วย salicylic acid, dichloroisonicotinic acid หรือ glutathione ไม่เกิดการเรืองแสง การสร้างสารประกอบนี้ในพืชจะขึ้นอยู่กับชนิดของสารที่มากระตุ้นและอายุของเนื้อเยื่อพืช ในยางพารามีการศึกษาปริมาณของสคอพอเลตินเพื่อใช้ในการบ่งบอกระดับความต้านทานโรคของพันธุ์ยางชนิดต่างๆได้ โดยพันธุ์ยางที่อ่อนแอจะผลิตสคอพอเลตินได้น้อยกว่าพันธุ์ต้านทาน (Churngchow and Rattarasarn, 2001) นอกจากนี้จากการศึกษาของ

Khompatara, 2017 พบว่าในสภาวะปกติใบยางพาราชำถุงพันธุ์ RRIM600 สามารถตรวจพบสคอพอเลตินได้ที่ระดับ 0.2-0.4 มิลลิกรัม จากใบยางสด 1 กิโลกรัม

6.3.4 คุณสมบัติของสารสคอพอเลติน

Tegoset *al.* (2002) ได้รายงานว่าสคอพอเลตินมีคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย โดยยับยั้งกลุ่มแบคทีเรียแกรมบวกได้ดีกว่าแกรมลบต่อมา Rigane *et al*. (2013) ได้รายงานถึงคุณสมบัติในการยับยั้งแบคทีเรียโดยใช้สารสกัดด้วยเมธานอลจากใบและดอกของต้น *Calendula officinalis* ซึ่งมีสารสคอพอเลตินเป็นส่วนประกอบ สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ 3 ชนิดและเชื้อราอีก 2 ชนิด โดยได้ชี้ว่าผลที่ได้สามารถนำไปใช้ในเชิงอุตสาหกรรมเพื่อการผลิตสาร bioactive จากพืชได้ และในปีเดียวกันนี้ Acharya *et al.* (2013) ได้รายงานถึงคุณสมบัติของสคอพอเลตินในการยังยั้งการเจริญของเชื้อ *Salmonella* Typhi ได้นอกจากคุณสมบัติด้านการเป็นสาร antimicrobial แล้ว สคอพอเลตินยังได้รับการรายงานถึงคุณสมบัติในการกำจัดอนุมูลอิสระ โดยสคอพอเลตินที่สกัดจาก *Sinomonium acutum* สามารถกำจัดอนุมูลsuperoxide anion ในปฏิกิริยา xanthine/xanthine oxidase (Shaw *et al.,* 2003) นอกจากนี้ Malik *et al.* (2011) ได้รายงานว่าสคอพอเลตินสามารถนำมาใช้กำจัดอนุมูลอิสระชนิด 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), อนุมูลไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และอนุมูลซุปเปอร์ออกไซด์ได้ โดยผู้วิจัยชี้ว่าสคอพอเลตินควบคุมอนุมูลอิสระได้โดยผ่านทางกระบวนการที่หลากหลาย เช่น การขนส่งกรดไขมันสายยาวในไมโตคอนเดรีย ทั้งนี้สารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) มีความสำคัญคือเป็นสารที่สามารถป้องกันหรือชะลอการเกิดกระบวนการออกซิเดชั่นเช่นกระบวนการเกิดสนิมของเหล็ก การเกิดสีน้ำตาลในผลไม้ (เช่นในแอปเปิ้ล) หรือการทำให้น้ำมันพืชเหม็นหืน หรือกระบวนการออกซิเดชั่นที่เกิดในร่างกายมนุษย์หรือสัตว์ เช่น การย่อยสลายโปรตีนและไขมันจากอาหารที่กินเข้าไป มลพิษทางอากาศ การหายใจควันบุหรี่ รังสียูวี ปัจจัยเหล่านี้ล้วนทำให้เกิดอนุมูลอิสระขึ้น ซึ่งสร้างความเสียหายได้ทั้งในพืชและในร่างกายมนุษย์ จึงได้มีการศึกษาหาสารที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระจากแหล่งต่างๆ สำหรับนำไปประยุกต์ใช้ทั้งทางด้านการเกษตร ด้านเภสัชกรรม รวมไปถึงด้านการแพทย์

6.3.5 การประยุกต์ใช้สารสคอพอเลติน

ด้านการเกษตร

เนื่องจากสารชนิดนี้มีคุณสมบัติต่อต้านเชื้อรา แบคทีเรีย จึงได้มีการนำมาปรับใช้ทางด้านการเกษตร เช่น การลดการเกิดโรคราเขียวจากเชื้อ *Penicillium digitatum* บนผลส้ม (Sanzani *et al*., 2014), การยับยั้งการเจริญของไมซีเลียมของเชื้อ *Alternaria alternate* ซึ่งก่อให้เกิดโรคจุดสีน้ำตาลในใบยาสูบ (Sun *et al*., 2014), การยับยั้งการสังเคราะห์สารพิษอะฟลาทอกซินโดยเชื้อ *Aspergillus flavus* ในมันฝรั่ง (Gnonlonfin *et al.,*

กรมวิชาการเกษตร

2011) การยับยั้งการสร้างสปอร์และการเจริญของไมซิเลียมของเชื้อราชนิดต่างๆเพื่อการเก็บรักษาข้าวโพด เช่น *Penicillium* sp., *Aspergillus, Fusarium* (Ba *et al*., 2017) นอกจากนี้ Sun *et al*., 2014 ได้ทดสอบผลของสารสคอพอเลตินต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Alternaria alternate*ทั้งแบบการยับยั้งโดยตรง (direct inhibition) และแบบการยับยั้งผ่านการกระตุ้นความต้านทานในพืช (induced resistance) โดยในการทดสอบแบบ direct inhibition บนอาหาร PDA ที่มีสารสคอพอเลตินผสมอยู่ที่ความเข้มข้นต่างๆ พบว่าสคอพอเลตินที่ระดับความเข้มข้น 48 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถลดการเจริญของเชื้อ *Alternaria* เหลือ 68 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นไปที่ 480 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถลดการเจริญของเชื้อดังกล่าวเหลือเพียง 14 เปอร์เซ็นต์เมื่อเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่ได้พ่นสารสคอพอเลติน และในการทดสอบการนำไปใช้กระตุ้นความต้านทานในพืช ได้ชักนำให้มีการสร้างความต้านทานในใบยาสูบเป็นเวลา 7 ชั่วโมง โดยทำการแช่ก้านใบยาสูบในสารละลายสคอพอเลตินความเข้มข้น 100 ไมโครโมลาร์ และ 500 ไมโครโมลาร์ เทียบกับชุดควบคุมซึ่งเป็นน้ำกลั่น จากนั้นทำการปลูกเชื้อ *Alternaria* แล้วตรวจดูการเกิดแผลหลังจากปลูกเชื้อไปแล้ว 5 วัน พบว่าขนาดของรอยแผลในชุดทดสอบที่ได้รับการกระตุ้นด้วยสคอพอเลตินทั้งสองระดับความเข้มข้นสามารถลดขนาดของรอยแผลที่เกิดจากเชื้อ *Alternaria* ได้อย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเทียบกับชุดควบคุม ซึ่งผลการทดลองนี้ชี้ให้เห็นว่าการใช้สคอพอเลตินภายนอกสามารถเพิ่มความต้านทานต่อเชื้อ *Alternaria* ในใบยาสูบได้ซึ่งกระบวนการต้านทานภายในพืช (Plant defense) นั้นเป็นกระบวนการหนึ่งที่พืชใช้ปรับตัวเองเพื่อต่อต้านการบุกรุกของเชื้อโรค โดยมีวิธีการต่างๆกัน เช่น การทำให้เซลล์ที่กำลังติดเชื้อและเซลล์ที่อยู่ข้างเคียงตาย เรียกว่าการเกิด hypersensitive cell death โดยกระบวนการนี้จะสังเกตเห็นรอยไหม้สีน้ำตาล (necrosis), การสร้างสารปฏิชีวนะเพื่อยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อโรค ที่เรียกว่าไฟโตอเล็กซิน, การสร้างโปรตีนขึ้นมาทำลายเชื้อโรค ที่เรียกว่า pathogenesis related-proteins (PR-proteins) เช่น เอนไซม์เบต้า-1,3-กลูคาเนสหรือเอนไซม์ไคติเนสเพื่อย่อยผนังเซลล์ของผู้รุกราน, การกักบริเวณเชื้อไม่ให้ลุกลามไปยังเซลล์ข้างเคียงโดยกระบวนการสร้างลิกนินหรือซูเบอรินพอกบริเวณผนังเซลล์พืช และการสร้างผนังเซลล์พืชให้แข็งแรงขึ้น เช่น การสร้างแคลโลส แนวทางการประยุกต์ใช้ความรู้ทางชีวเคมีเพื่อป้องกันโรคพืชจึงนำไปสู่การค้นหาสารกระตุ้นความต้านทานภายในพืช หรืออิลิซิเตอร์ (elicitor) ซึ่งอาจเป็นได้ทั้งตัวกระตุ้นชีวภาพ เช่น เชื้อรา จีนัส *Trichoderma*, *Penicillium simpliclassimum*, Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR), สารสกัดจากสาหร่าย หรือตัวกระตุ้นเคมี เช่น Acibenzolar-S-methyl (ASM), β-Aminobutyric acid (BABA), Phosphite, Probenazole, Salicylic acid (SA) หรือตัวกระตุ้นทางกายภาพ เช่น การใช้อุณหภูมิสูงหรือต่ำ การใช้รังสีแกมม่า หรือการกระตุ้นด้วยแสงยูวี

นอกเหนือจากการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์โดยตรงแล้วสารสคอพอเลตินยังมีอีกคุณสมบัติหนึ่งคือการเป็นสารต้านการเกิดอนุมูลอิสระ โดยจะทำหน้าที่กำจัดอนุมูลอิสระที่ถูกสร้างจากกระบวนการตอบสนองอย่าง

กรมวิชาการเกษตร

รวดเร็ว (Hypersensitive response, HR) เมื่อพืชถูกรุกราน ซึ่งโดยทั่วไปเมื่อถูกบุกรุก พืชจะตอบสนองโดยการสร้างสารเคมีขึ้นมาต้านผู้บุกรุก เช่น การสร้างไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ซูเปอร์ออกไซด์ ไนตริกออกไซด์ ฯลฯ ซึ่งเป็นสารอนุมูลอิสระ อย่างไรก็ตาม ผลของกิจกรรมที่เกิดขึ้นจะก่อให้เกิดการสะสมของอนุมูลอิสระซึ่งเป็นสารที่มีพิษต่อเซลล์พืชและส่งผลให้เซลล์พืชในบริเวณนั้นเกิดการถูกทำลายไปด้วย ดังนั้นสารต้านอนุมูลอิสระที่พืชสร้างขึ้นจึงทำหน้าที่ในการช่วยลดพิษภายในตัวพืชไม่ให้เซลล์พืชถูกทำลาย (จีระภา, 2551)

6.3.6 ด้านอื่นๆ

สารสคอพอเลตินมีการนำมาใช้ประโยชน์ในด้านการแพทย์เนื่องจากมีคุณสมบัติในการต้านเชื้อก่อโรคในคน เช่น *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* และ *Salmonella* Typhi (Acharya *et al*., 2013) นอกจากนี้การใช้ประโยชน์จากสารชนิดนี้พบว่ามีการรายงานอย่างกว้างขวาง เช่น การสกัดและนำสารชนิดนี้ไปรักษาโรคความดันโลหิตสูง ควบคุมระดับคอเลสเตอรอล และ LDL รักษาโรคหัวใจและหลอดเลือด และรักษาอาการผิดปกติของระบบประสาท (Mogana *et al*., 2013, Das *et al.,* 2014) การใช้เป็นสารต้านการเกิดเนื้องอก ต้านการเกิดไทรอยด์ (DAS, 2014) การต้านอนุมูลอิสระ การต้านเชื้อจุลินทรีย์ การต้านการอักเสบของไขสันหลัง การป้องกันโรคตับ (Taguchi *et al.*2001) การต้านเชื้อรา การต้านฮีสตามีน การต้านไวรัส และการลดความดันโลหิตสูงโดยการขยายหลอดเลือด (Tanton, 2008) ซึ่งรายงานการศึกษาและประยุกต์ใช้สารชนิดนี้บ่งชี้ให้เห็นถึงความสำคัญและคุณค่าในการนำไปใช้ประโยชน์ด้านอื่นๆได้หลากหลายโดยสารสคอพอเลตินนี้มีแหล่งกำเนิดจากพืช ดังนั้นคุณประโยชน์ของการศึกษาปริมาณสารชนิดนี้ในพืชที่มีแนวโน้มจะนำมาใช้เป็นวัตถุดิบสำหรับการสกัดสารสคอพอเลตินก็จะก่อให้เกิดการเพิ่มทางเลือกในการสร้างรายได้ให้แก่เกษตรกรอีกทางหนึ่งด้วย

7. วิธีดำเนินการ:

- อุปกรณ์

1. สารสคอพอเลตินบริสุทธิ์จากผลยอ
2. เชื้อจุลินทรีย์สำหรับทดสอบ เช่น *Collectotrichum* spp., *Alternaria* sp., *Sclerotium* sp. ฯลฯ
3. อุปกรณ์สำหรับเพาะเลี้ยงเชื้อ
4. สารเคมีสำหรับทดสอบและอาหารเลี้ยงเชื้อ

- วิธีการ

เตรียมแยกเชื้อจุลินทรีย์ในกลุ่มราและแบคทีเรีย เช่น เชื้อ *Pestalotiopsis* sp. จากยางพารา เชื้อ *Collectotrichum* spp. จากยางพารา เชื้อ *Sclerotium* sp. จากพริก (โดยแยกเชื้อจากพืชที่เป็นโรคหรือแยกจากผลิตภัณฑ์พืชที่มีเชื้อเจริญอยู่) สำหรับเชื้อก่อโรคชนิดอื่นๆนำมาจากเชื้อสายพันธุ์บริสุทธิ์ที่เพาะเลี้ยง ณ สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

1. นำสารสคอพอเลตินบริสุทธิ์ที่สกัดที่ได้จากผลยอมาผสมในอาหาร Potato dextrose agar (PDA) ให้มีความเข้มข้นของสาร สคอพอเลตินอยู่ในช่วง 0, 10, 100 และ 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยใช้ปริมาตร

กรมวิชาการเกษตร

อาหาร 10 มิลลิลิตรต่อเพลท จากนั้นนำเชื้อจุลินทรีย์สำหรับทดสอบขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร มาวางตรงกลางเพลทและบ่ม ทำการทดสอบแต่ละความเข้มข้นอย่างละ 3 ซ้ำ โดยใช้สารเคมีป้องกันกำจัดโรคพืชในทางการเกษตร เป็น positive control และ ใช้อาหาร PDA ที่ไม่มีสารสคอพอเลตินผสมอยู่เป็น negative control บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง นาน 5 วัน นำมาวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของไมซีเลียม (ดัดแปลงจาก Ba *et al*., 2017) สำหรับเชื้อแบคทีเรียทำการทดสอบโดยวิธี cellulosic disc method ซึ่งดัดแปลงมาจาก Rigane *et al.,* 2013 โดยใช้สารมาตรฐาน Streptomycin เป็น positive control

<u>การบันทึกข้อมูล</u>:

- วัดเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อบนเพลทอาหารด้วยสารสคอพอเลตินบริสุทธิ์ในแต่ละระดับความเข้มข้นเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ใช้ในการยับยั้งเชื้อแต่ละชนิดจำนวน 3 ซ้ำในแต่ละชุดทดสอบ

- พิจารณาความแตกต่างของแต่ละชุดทดสอบโดยใช้โปรแกรม SPSS ด้วยการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียว one-way analysis of variance (ANOVA) ด้วยวิธี Duncan ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (p<0.05)

<u>ระยะเวลาในการดำเนินการ</u>: เริ่มต้นตุลาคม 2562สิ้นสุด กันยายน 2563 รวม 1 ปี

<u>สถานที่ดำเนินการทดลอง</u>: ห้องปฏิบัติการวิเคราะห์จุลินทรีย์และสารพิษจากจุลินทรีย์ และห้องปฏิบัติการวิเคราะห์สารพิษตกค้างทางการเกษตร กลุ่มพัฒนาฯ สวพ.8

กรมวิชาการเกษตร

8. ผลการทดลองและวิจารณ์

พบว่าสคอพอเลตินบริสุทธิ์ที่สกัดมาจากผลยอบ้านให้ค่าการยับยั้งการเจริญของเชื้อราโรคพืชที่ระดับ 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรจำนวน 8 ชนิดเชื้อ ยกเว้นเชื้อ *Pestalotiosis* จากยางพาราซึ่งผลการทดลองพบว่าเชื้อชนิดนี้มีความต้านทานต่อสารเคมีทางการเกษตรที่ใช้ในการทดสอบนี้ด้วย อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาจากผลการยับยั้งการเจริญในตารางที่ 1 จะเห็นได้ว่าระดับความเข้มข้นของสคอพอเลตินที่ใช้ทดสอบสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราตั้งแต่ 50% ขึ้นไป จำนวน 7 ชนิดเชื้อ โดยพบว่ามีจำนวน 5 ชนิดเชื้อที่สคอพอเลตินความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรสามารถยับยั้งได้ดีกว่าการใช้สารเคมีเกษตรแมนโคเซป

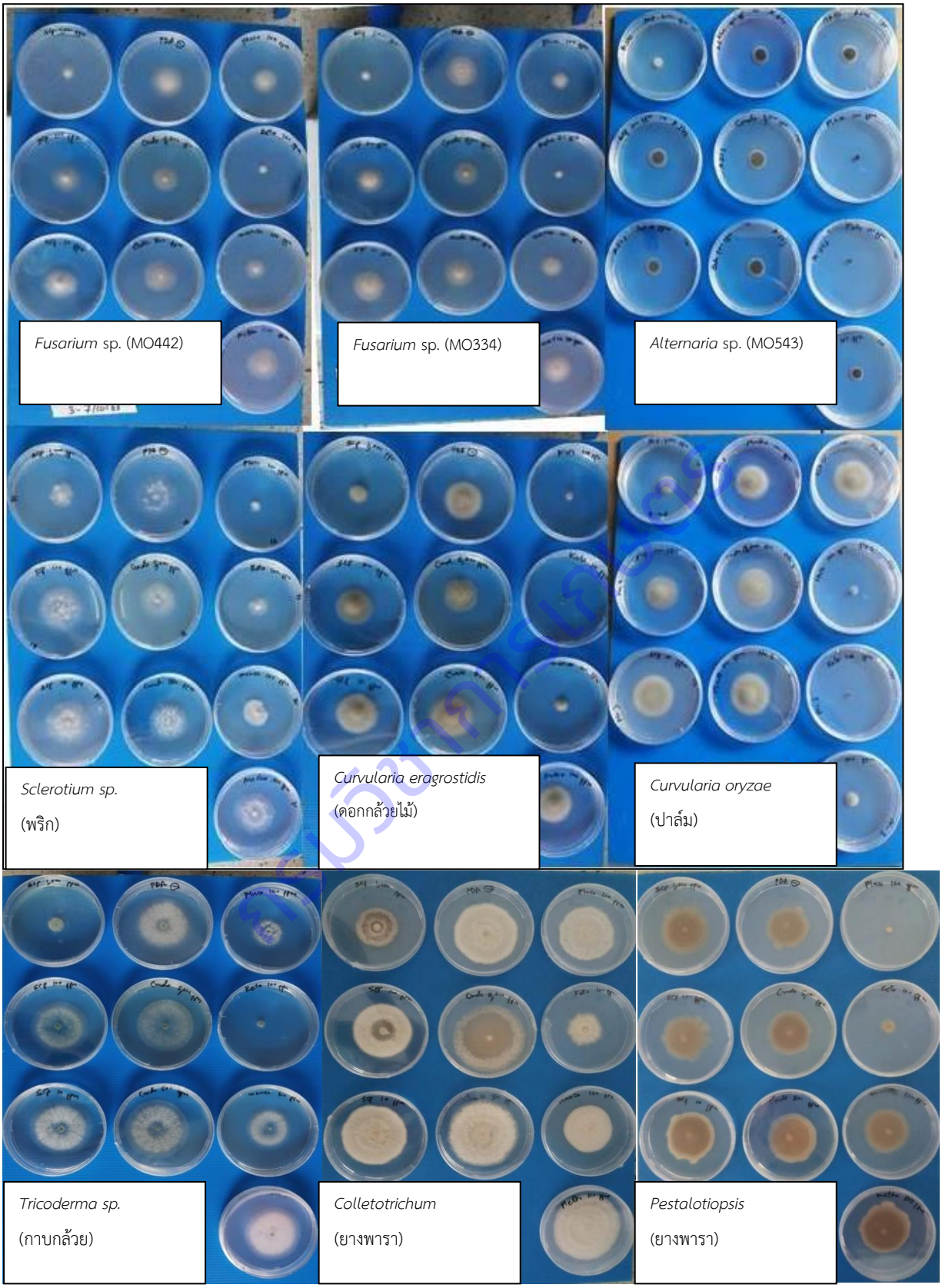
ตารางที่ 1 ค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ผสมสารทดสอบชนิดต่างๆ

ลำดับที่	ชื่อเชื้อ-แหล่งที่มา	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อทดสอบ			
		PDA	สคอพอเลติน1,000 ppm.	แมนโคเซป 100 ppm.	เมทาแลกซิล100 ppm.
1	*Fusarium* sp. (MO 442 : สอพ.)	0.00	59.43	37.98	2.58
2	*Fusarium* sp. (MO 334 :สอพ.)	0.00	68.35	36.71	5.06
3	*Alternaria* sp. (MO 543 : สอพ.)	0.00	57.73	23.71	3.09
4	*Curvularia oryzae* (ปาล์มน้ำมัน : สอพ.)	0.00	59.09	44.21	5.79
5	*Curvularia eragrostidis* (ดอกกล้วยไม้ : สอพ.)	0.00	53.25	61.04	ไม่ยับยั้ง
6	*Sclerotium* sp. (พริก : สวพ.8)	0.00	50.72	53.80	5.54
7	*Colletotrichum* sp. (ยางพารา : สวพ.8)	0.00	37.04	21.69	0.00
8	*Pestalotiopsis* sp. (ยางพารา : สวพ.8)	0.00	ไม่ยับยั้ง	10.96	ไม่ยับยั้ง
9	*Tricoderma* sp. (กาบกล้วย : สอพ.)	0.00	58.42	22.28	3.51

หมายเหตุ : สอพ. = สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

สวพ.8 = สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 8 กรมวิชาการเกษตร

กรมวิชาการเกษตร



รูปที่ 2 การทดสอบฤทธิ์การต้านการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคพืชบนอาหารทดสอบ

สำหรับการทดสอบฤทธิ์ของสคอพอเลตินในการต้านการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย ได้ดำเนินการทดสอบกับแบคทีเรีย จำนวน 10 ชนิด ได้แก่ *Ralstonia solanacearum* (1 ชนิด), *Pectobacterium* (5 ชนิด), *Bacillus thuringiensis* (1 ชนิด), *Staphylococcus aureous, Salmonella* spp. และ *Escherichia coli* โดยใช้สารปฏิชีวนะ streptomycin ที่ระดับความเข้มข้น 30 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นสารเปรียบเทียบ (positive control) พบว่าสารสคอพอเลตินที่ระดับความเข้มข้น 5,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีผลยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้เล็กน้อยเมื่อเทียบกับยาปฏิชีวนะ Streptomycin และไม่มีผลยับยั้งเชื้อ *Escherichia coli* (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณที่เชื้อแบคทีเรียถูกยับยั้งด้วยสารทดสอบความเข้มข้นต่างๆ

ลำดับที่	ชื่อเชื้อ-แหล่งที่มา	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณที่เชื้อถูกยับยั้ง (ม.ม.)					
		DMSO	100 ugscp/ml	500 ugscp/ml	1,000 ugScp/ml	5000 ugscp/ml	30 ug/ml Streptomycin
1	*Ralstonia solanacearum* พริก (เชียงใหม่) code 1954 (สอพ.)	9.00 ± 1.00	8.00 ±2.00	9.00 ± 1.00	12.33 ± 0.58	17.00 ± 1.73	32.00 ± 3.00
2	*Pectobacterium* หอมหัวใหญ่ (กาญจนบุรี) code 3036 (สอพ.)	8.00 ± 1.73	6.00 ± 0.00	7.33 ±1.15	10.33 ± 2.08	16.00 ± 2.00	23.33 ± 2.08
3	*Pectobacterium* ขนุน (ระยอง) code 1147 (สอพ.)	7.67 ± 1.53	7.33 ±0.58	8.67 ±1.53	10.33 ± 0.58	15.33 ±0.58	39.67 ± 2.89
4	*Pectobacterium* หน่อไม้ฝรั่ง (เพชรบูรณ์) code 681 (สอพ.)	6.33 ± 0.58	7.67 ± 0.58	9.00 ± 1.00	11.00 ± 1.00	14.33 ± 2.31	29.00 ± 1.00
5	*Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* จำปาดะ (สงขลา) code 1096-1 (สอพ.)	7.33 ± 1.15	7.33 ± 0.58	8.00 ± 1.73	8.67 ± 1.15	11.00 ± 1.73	39.67± 2.08
6	*Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* จำปาดะ (สงขลา) code 1028-1 (สอพ.)	8.67 ± 1.15	9.00 ± 1.00	9.00 ± 1.00	11.00 ± 1.00	13.67 ± 1.15	38.33 ±1.53
7	*Bacillus thuringiensis* (ศวพ.สงขลา)	6.67 ± 0.58	6.00 ± 0.58	6.67 ± 0.58	7.33 ±1.00	8.00 ±2.52	33.00 ± 0.58
8	*Staphylococcus aureous* (สวพ.8)	6.67 ± 0.58	6.33 ± 0.58	6.33 ± 0.58	9.00 ± 1.00	11.67 ±2.52	18.67 ±0.58
9	*Salmonella* spp. (สวพ.8)	8.00 ± 2.00	6.00 ± 0.00	8.00 ± 2.00	8.67 ± 3.06	10.67 ± 4.16	15.00 ± 2.65
10	*Escherichia coli* (สวพ.8)	6.00 ± 0.00	6.00 ±0.00	6.00 ± 0.00	6.00 ± 0.00	6.00 ± 0.00	24.67 ± 2.31

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ; n = 3

กรมวิชาการเกษตร

9. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ: สรุปเนื้อหา สาระสำคัญของผลงาน และข้อเสนอแนะในงานวิจัยเรื่องนั้นๆ ในอนาคต

จากการทดสอบฤทธิ์ของสารสคอพอเลตินที่สกัดมาจากผลยอบ้านต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา จำนวน 9 ชนิด และเชื้อแบคทีเรียจำนวน 10 ชนิด พบว่าสคอพอเลตินมีแนวโน้มในการประยุกต์ใช้ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ดีกว่าเชื้อแบคทีเรีย โดยที่ระดับความเข้มข้นของสคอพอเลติน 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้มากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์จำนวน 7 ชนิดเชื้อ และอาจลดปริมาณความเข้มข้นในการใช้เพื่อลดการสิ้นเปลืองการใช้สารลงได้ โดยผู้วิจัยที่สนใจนำสารสคอพอเลตินบริสุทธิ์ที่สกัดได้จากยอบ้านซึ่งเป็นพืชท้องถิ่นที่หาได้ง่ายสามารถนำไปศึกษาต่อยอดได้ในส่วนของการหาค่าความเข้มข้นที่เหมาะสมในการนำไปใช้ควบคุมเชื้อราโรคพืชทั้งในระดับห้องปฏิบัติการและระดับแปลงต่อไป นอกจาก เนื่องจากผลการทดสอบฤทธิ์พบว่าต้องใช้สารสคอพอเลตินในปริมาณมาก ทั้งยังให้ผลการยับยั้งแบคทีเรียทั้ง 10 ชนิดที่ทดสอบได้น้อยหรือไม่ยับยั้งเลย จึงไม่คุ้มค่าต่อการนำไปประยุกต์ใช้จริงกับการควบคุมแบคทีเรียทางการเกษตร

10. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. มีการนำความรู้ที่ได้ไปใช้ในการผลิตสารสกัดจากพืชที่มีศักยภาพและหาได้ง่ายเพื่อใช้ในการป้องกันโรคพืชที่เกิดขึ้นในแปลงได้ด้วยตนเองนอกจากนี้ผลสำเร็จของงานจะช่วยยกระดับมูลค่าของพืชบางชนิดให้สูงขึ้นได้โดยจะก่อให้เกิดทางเลือกใหม่ของรายได้จากการนำพืชที่มีศักยภาพไปจำหน่ายสำหรับเป็นวัตถุดิบในงานวิ จัยต่อยอด **กลุ่มเป้าหมาย** คือเกษตรกรหรือกลุ่มเกษตรกร

2. นำองค์ความรู้เรื่องคุณสมบัติของสารสคอพอเลตินและแหล่งที่มาของสารชนิดนี้ไปต่อยอดในงานวิจัยที่เกี่ยวข้องทั้งเพื่อการลดการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์บางชนิดการใช้เป็นตัวต้านอนุมูลอิสระหรือปรับใช้ในสาขางานวิจัยที่เกี่ยวข้องอื่นๆเช่นงานทางด้านการแพทย์หรืองานสหวิทยาการอันเป็นการบูรณาการงานวิจัยร่วมกันระหว่างหน่วยงานต่อไปในอนาคต **กลุ่มเป้าหมาย** คือ นักวิจัยและนักวิชาการด้านโรคพืชกรมวิชาการเกษตรกรมส่งเสริมการเกษตร สถาบันการศึกษาหน่วยงานวิจัยด้านการแพทย์

3. นำองค์ความรู้และแหล่งที่มาของวัตถุดิบไปใช้ในการประยุกต์สร้างสารชีวภัณฑ์ในทางการค้าสำหรับใช้ทดแทนการใช้สารเคมีรวมทั้งใช้ในการสร้างผลิตภัณฑ์อื่นๆตามศักยภาพหรือคุณสมบัติของสารสคอพอเลติน **กลุ่มเป้าหมาย** คือ หน่วยงานภาคอุตสาหกรรม

11. คำขอบคุณ (ถ้ามี): อาจมีหรือไม่มีก็ได้ เป็นการแสดงความขอบคุณแก่ผู้ช่วยเหลือให้งานวิจัยลุล่วงไปด้วยดี แต่มิได้เป็นผู้ร่วมปฏิบัติงานด้วย

กรมวิชาการเกษตร

12. เอกสารอ้างอิง

จินันทนา จอมดวง และ สุมาฬี พรหมรุกชาติ. 2558. **การใช้ชีวภัณฑ์ทดแทนสารเคมีป้องกันกำจัดโรคเพื่อเพิ่มผลผลิตและลดต้นทุนในการผลิตข้าวที่ใช้เป็นวัตถุดิบอาหารเสริมสุขภาพ.**รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์. สถาบันเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา.

จีระภา ชัยวงศ์. 2551. **เอนไซม์เปอร์ออกซิเดสที่เกี่ยวข้องกับการสร้างลิกนินและการสลายสคอพอลิตินในใบและเซลล์แขวนลอยยางพาราที่ถูกกระตุ้นโดยเชื้อรา.** วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาชีวเคมี มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

ณัชชา ลูกรักษ์ และ ดุสิต อธินุวัฒน์. 2556. **ปัญหาและอุปสรรคในการปรับเปลี่ยนเพื่อการผลิตพืชผักอินทรีย์ของเกษตรกรจังหวัดราชบุรีที่ผ่านการอบรมโครงการพัฒนาระบบเกษตรอินทรีย์.**Thai Journal of Science and Technology.*ปีที่ 2. ฉบับที่ 2.*

มานะ กาญจนมณีเสถียร, อัจฉรา เพ็งหนู, ฤดีกร วิวัฒนปฐพี และ วานิด รอดเนียม. 2556. **การคัดเลือกแบคทีเรียปฏิปักษ์และการพัฒนาผลิตภัณฑ์แบคทีเรียปฏิปักษ์เพื่อควบคุมโรคพืชที่ปลูกในระบบไฮโดรโพนิกส์.** รายงานการวิจัย. มหาวิทยาลัยศิลปากร.

พันศักดิ์ จิตสว่าง, วิลาวรรณ์ เชื้อบุญ, ดุสิต อธินุวัฒน์, 2015. **เทคโนโลยีการจัดการโรคพืชในระบบการผลิตข้าวอินทรีย์**. Thai Journal of Science and Technology 4, 272–285.

ยุทธศักดิ์ เจียมไชยศรี, อภิรัชต์ สมฤทธิ์, ธารทิพย ภาสบุตร, 2555. **การศึกษาประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัดโรคพืชในการป้องกันกำจัดเชื้อรา *Alternaria* สาเหตุโรคพืช.** รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2555 สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร.

วิชัย ก่อประดิษฐ์สกุล, ชัยณรงค์ รัตนกรีฑากุล, รุ่งนภา ก่อประดิษฐ์สกุล และ ธารทิพย ภาสบุตร. 2542. **การพัฒนาสารออกฤทธิ์จากว่านน้ำเพื่อใช้ควบคุมโรคผลเน่าของมะม่วงเพื่อการส่งออก**.รายงานผลการวิจัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

Abyari, M., Nasr, N., Soorni, J., Sadhu, D. 2016.**Enhanced Accumulation of Scopoletin in Cell Suspension Culture of *Spilanthes acmella* Murr. Using Precursor Feeding**. Brazilian Archives of Biology and Technology. 59.

Acharya, D., Bogati, B., Risal, P. 2013. **Scopoletin reduces intracellular survival of *Salmonella typhi* within U937 human macrophage cell line in vitro**. Sky Journal of Microbiology Research. Vol. 1(6), pp. 47 – 51.

กรมวิชาการเกษตร

Andreae, S.R., Andreae, W.A. 1949. **The metabolism of scopoletin by healthy and virus infected potato tubers.**Canadian Journal of Research. 27, 15–22.

Anthon, GE. and Barrett, DM. 2001.**Colorimetric Method for the Determination of Lipoxygenase Activity.**Journal of agricultural and food chemistry. 49, 32–37.

Ba, R., Alfa, T., Gbaguidi, F., Novidzro, K.M., Dotse, K., Koudouvo, K., Houngue, U., DonouHounsode, M.T., Koumaglo, K.H., Ameyapoh, Y., others. 2017. **Maize Fungal Growth Control with Scopoletin of Cassava Roots Produced in Benin**. International Journal of Microbiology. 2017.

Beyer, W.F., Fridovich, I. 1987.**Assaying for superoxide dismutase activity: some large consequences of minor changes in conditions**. Analytical biochemistry. 161, 559–566.

Bradford, M.M. 1976. **A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding**.Analytical biochemistry. 72, 248–254.

Brennan, T., Frenkel, C. 1977.**Involvement of hydrogen peroxide in the regulation of senescence in pear.** Plant Physiology 59, 411–416.

Churngchow, N., Rattarasarn, M. 2001. **Biosynthesis of scopoletin in *Heveabrasiliensis* leaves inoculated with *Phytophthorapalmivora***. Journal of plant physiology. 158, 875–882.

DAS, M. 2014. **Evaluation of the Laxative Effects of Methanolic Extract of *Spilanthes acmella***. East West University.

Ederli, L., Madeo, L., Calderini, O., Gehring, C., Moretti, C., Buonaurio, R., Paolocci, F., Pasqualini, S. 2011. **The Arabidopsis thaliana cysteine-rich receptor-like kinase CRK20 modulates host responses to *Pseudomonas syringae*pv. tomato DC3000 infection**. Journal of plant physiology. 168, 1784–1794.

Gnonlonfin, G. j. b., Adjovi, Y., Gbaguidi, F., Gbenou, J., Katerere, D., Brimer, L., Sanni, A. 2011. **Scopoletin in Cassava Products as an Inhibitor of Aflatoxin Production**. Journal of

Food Safety. 31, 553–558. doi:10.1111/j.1745-4565.2011.00334.x

Güell, I., Cabrefiga, J., Badosa, E., Ferre, R., Telleda, M., Bardaji, E., Planas, M., Feliu, L. 2011. **Improvement of the Efficacy of Linear Undecapeptides against Plant-Pathogenic Bacteria by Incorporation of D-Amino Acids.** Applied and Environmental Microbiology. 2667-2675.

Gutierrez M-C, Parry AD, Tena M, Jorrin J, Edwards R. 1995. **Abiotic elicitation of coumarin phytoalexins in sunflower**. Phytochemistry. 38: 1185±1191.

Hutadilok-Towatana, N., Chaiyamutti, P., Panthong, K., Mahabusarakam, W., Rukachaisirikul, V. 2006. **Antioxidative and free radical scavenging activities of some plants used in Thai folk medicine.**Pharmaceutical biology. 44, 221–228.

Jeandet, P., Hébrard, C., Deville, M.-A., Cordelier, S., Dorey, S., Aziz, A., Crouzet, J. 2014.**Deciphering the role of phytoalexins in plant-microorganism interactions and human health.**Molecules. 19, 18033–18056.

Khompatara, K., 2017. Systemic Acquired Resistance in *Hevea brasiliensis* Induced by the Seaweed Extract from *Sargassumpolycystum*. Thesis submitted in partial fulfillment of the requirements for the Degree of Doctor of Philosophy in Biochemistry. Prince of Songkla University, Songkhla, Thailand.

Kuc, J. 1995. **Phytoalexins, stress metabolism, and disease resistance in plants**. Annual review of phytopathology. 33, 275–297.

Malik, A., Kushnoor, A., Saini, V., Singhal, S., Kumar, S. and Yadav, Y.C. 2011. **In vitro antioxidant properties of Scopoletin**. J. Chem. Pharm. Res., 2011, 3(3), 659-665.

Mogana, R., Teng-Jin, K., Wiart, C. 2013.**Anti-Inflammatory, Anticholinesterase, and Antioxidant Potential of Scopoletin Isolated from *Canariumpatentinervium*Miq. (BurseraceaeKunth)**. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine.2013, e734824. doi:10.1155/2013/734824.

ศูนย์วิทยทรัพยากร

Muller, K.O., and Borger, H. 1940. **Experimentelleuntersuchungenuber die Phytophthora-resistenzerkartoffel**. Arb. Biol. Reichsasnstalt. Landw.Forstw. Berlin 23, 189-231.

Rigane, G., Ben Younes, S., Ghazghazi, H., Ben Salem, R., others. 2013a. **Investigation into the biological activities and chemical composition of *Calendula officinalis* L. growing in Tunisia**.International Food Research Journal. 20, 3001–3007.

Saftić-Panković, D., Veljović-Jovanović, S., Pucarević, M., Radovanović, N., Mijić, A. 2006.**Phenolic compounds and peroxidase in sunflower near-isogenic lines after downy mildew infection**.Helia. 29, 33–42.

Santos, T., Villanueva, J.R., Nombela, C. 1977.**Production and catabolite repression of *Penicillium italicum* beta-glucanases**.Journal of bacteriology 129, 52–58.

Sanzani, S.M., Schena, L., Ippolito, A. 2014. **Effectiveness of phenolic compounds against citrus green mould**. Molecules. 19, 12500–12508.

Shannon, L.M., Kay, E., Lew, J.Y. 1966. **Peroxidase isozymes from horseradish roots I. Isolation and physical properties.**Journal of Biological Chemistry. 241, 2166–2172.

Shaw, C.Y., Chen, C.H., Shu, C.C., Chen, C.C. and Tsai, Y.C. 2003.**Antioxidant properties of scopoletin isolated from *Sinomonium acutum*.** Phytother Res. 17(7), 823-5.

Sun, H., Wang, L., Zhang, B., Ma, J., Hettenhausen, C., Cao, G., Sun, G., Wu, J., Wu, J. 2014. **Scopoletin is a phytoalexin against *Alternaria alternata* in wild tobacco dependent on jasmonate signalling**. Journal of experimental botany. 65, 4305–4315.

Suryati, Efdia, M., Astuti, S.H. and Aziz, H. 2016.**Isolation of scopoletin fromsubang-subang plants (*Spilanthes paniculata* Wall. ex Dc.)**. Der Pharma Chemica. 8(9), 99-104.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Taguchi, G., Yoshizawa, K., Kodaira, R., Hayashida, N., Okazaki, M. 2001**. Plant hormone regulation on scopoletin metabolism from culture medium into tobacco cells**. Plant science. 160, 905-911.

Tanton DW. **A Drug-Free Approach to Healthcare** - 2009 Revised Edition: Soaring Heights Publishing; 2008. 356 p.

Tegos, G., Stermitz, F.R., Lomovskaya, O., Lewis, K. 2002. **Multidrug pump inhibitors uncover remarkable activity of plant antimicrobials.** Antimicrobial agents and chemotherapy. 46, 3133–3141.

Torres, A.M., Mau-Lastovicka, T., Rezaaiyan, R. 1987. **Total phenolics and high-performance liquid chromatography of phenolic acids of avocado.** Journal of Agricultural and Food Chemistry. 35, 921–925.

Vialart, G., Hehn, A., Olry, A., Ito, K., Krieger, C., Larbat, R., Paris, C., Shimizu, B., Sugimoto, Y., Mizutani, M., others. 2012. **A 2-oxoglutarate-dependent dioxygenase from *Ruta graveolens* L. exhibits p-coumaroyl CoA 2′-hydroxylase activity (C2′ H): a missing step in the synthesis of umbelliferone in plants**. The Plant Journal. 70, 460–470.

West, B.J., Deng, S. 2010. **Thin layer chromatography methods for rapid identity testing of *Morindacitrifolia* L.(Noni) fruit and leaf**. Adv. J. Food Sci. Technol. 2, 298–302.

Zafar, R., Ahmad, S., Mujeeb, M. 2005. **Estimation Of Scopoletin In Leaf And Leaf Callus Of *Convolvulus Microphyllus* Sieb**. Indian journal of pharmaceutical sciences 67, 562.

Zuker, A.P., Buck, B., McGrory, J.B. 1968. **Structure of O_{16}**. Physical Review Letters.21, 39

13. ภาคผนวก :เป็นส่วนที่ให้รายละเอียดเพิ่มเติม ซึ่งไม่จำเป็นต้องแสดงไว้ในเนื้อหาของรายงาน เช่น สูตร วิธีคำนวณ ตารางการบันทึกข้อมูลภาพ แสดงเครื่องมือที่ใช้ในงานวิจัย แบบสำรวจข้อมูล เป็นต้น ส่วนนี้จะมีหรือไม่มีก็ไม่ทำให้เนื้อหาของรายงานขาดความสมบูรณ์

หมายเหตุ

*** ให้แนบไฟล์รูปภาพประกอบด้วย เพื่อนำไปจัดทำรูปเล่มต่อไป**

กรมวิชาการเกษตร