สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

รายงานวิจัย

เรื่อง

การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราสาเหตุโรคพืชด้วยสารสกัดจากพืชมีพิษ

Inhibition Growth of Phytopathogenic Fungi by Some Toxic Plant Extracts

b10382616
I10455218
RCH
SB
732.6
ก7865
เลขหมู่
เลขทะเบียน 20392
วัน, เดือน, ปี - 3 มิ.ย. 2537

โดย

รศ.ดร. เกษม สร้อยทอง

ภาควิชาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพ

รหัส/ทะเบียนโครงการวิจัย 04030104-0013 ประจำปีงบประมาณ 2536

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัย จากงบประมาณโครงการวิจัยประจำปีงบประมาณ 2536 ซึ่งจัดเป็นรายงานวิจัยประเภท งานวิจัยประยุกต์ทางด้านเกษตรศาสตร์ เป็นผลสนับสนุนให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปตามวัตถุประสงค์ จึงขอขอบคุณ สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ มา ณ. โอกาสนี้

ขอขอบคุณ ดร. สมเดช กนกเมธากุล และ ดร. ชวัญใจ กนกเมธากุล ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่ให้คำแนะนำและคำปรึกษาต่างๆ เป็นอย่างดี และขอขอบคุณผู้ช่วยผู้วิจัยทุกท่าน ที่ช่วยสนับสนุนให้งานวิจัยนี้สำเร็จตามเป้าหมายทุกประการ

รศ.ดร. เกษม สร้อยทอง

2536

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราสาเหตุโรคพืชด้วยสารสกัดจากพืชมีพิษ

Inhibition Growth of Phytopathogenic Fungi by Some Toxic Plant Extracts

เกษม สร้อยทอง

ภาควิชาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพ 10520

บทคัดย่อ

จากการทดสอบประสิทธิภาพของพืชหลายชนิดในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราสาเหตุโรคพืช พบว่าโป๊ยกั๊กมีศักยภาพสูงสุดในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราสาเหตุที่ติดต่อทางเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดหวาน ซุปเปอร์สวีท ได้แก่ Aspergillus flavus Link, A. niger van Tieghem และ A. oryzae Sakaguchi and Yamada ปรากฏว่าผงโป๊ยกั๊กผสมอาหาร PDA สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา A. niger ได้ดีที่สุด มีค่า ED_{50} เท่ากับ 14,000 ppm. รองลงมาคือ A. oryzae และ A. flavus ซึ่งมีค่า ED_{50} เท่ากับ 36,000 และ 39,000 ppm.ตามลำดับ และผลการใช้สารสกัดจากโป๊ยกั๊กด้วยแอลกอฮอล์ 95% และน้ำร้อน พบว่าสามารถยับยั้งการสร้างสปอร์ของเชื้อราที่ใช้ในการทดสอบได้ดีในทุกระดับความเข้มข้น มีค่า ED_{50} ต่ำกว่า 10,000 ppm. อย่างไรก็ตามสารสกัดโป๊ยกั๊กด้วยแอลกอฮอล์ 95% มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการสร้างสปอร์ของเชื้อราที่ใช้ในการทดสอบได้ดีกว่าสารสกัดโป๊ยกั๊กด้วยน้ำร้อน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Inhibition Growth of Phytopathogenic Fungi by Some Toxic Plant Extracts

Kasem Soytong

Department of Plant Pest Management, Faculty of Agricultural Technology, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Bangkok 10520

ABSTRACT

The inhibitory effects of toxic plants to phytopathogenic fungi were done and screened on PDA incorporated with ground plants. Resutls showed that the star anise (Illicium verum Hook f.) had the highest efficiency to inhibit the growth of seed borne fungi of Zea mays L. var. Super sweet corn i.e. Aspergillus flavus Link, A. niger van Tieghem and A. oryzae Sakaguchi and Yamada. It was shown that the star anise had the highest potential to control A. niger (ED_{50} = 14,000 ppm.) and followed by A. oryzae (ED_{50} = 36,000 ppm.) and A. flavus (ED_{50} = 39,000 ppm.). Moreover, the star anise extracts with 95% ethyl alcohol or hot water could be inhibited the spore production of each tested fungi at all concentrations which shown the value of ED_{50} less than 10,000 ppm. However, star anise extract with 95% ethyl alcohol had more inhibitory effects of spore production than the extract with hot water.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบาญ

	หน้า
สารบาญตาราง	(2)
สารบาญภาพ	(3)
คำนำ	1
การตรวจเอกสาร	2
อุปกรณ์และวิธีการ	4
ผลการวิจัย	8
วิจารณ์	24
สรุป	26
เอกสารอ้างอิง	27

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบาญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ค่า ED_{50} ของโปรตีนที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อราชนิดต่าง ๆ บนอาหาร PDA	17
2	การเจริญเติบโตของเชื้อราชนิดต่าง ๆ บนอาหารผสมผงโปรตีน	18
3	ค่า ED_{50} ของโปรตีนที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อราชนิดต่าง ๆ	21
4	การยับยั้งการเจริญเติบโตของสปอร์เชื้อราชนิดต่าง ๆ ด้วยสารสกัดโปรตีน	22
5	แสดงค่าเฉลี่ยการยับยั้งการสร้างสปอร์บนเมล็ดพันธุ์ที่คลุกเมล็ดด้วยสารสกัดจากโปรตีน	23

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบาญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	แสดงตัวอย่างโป๊ยกั๊กที่ใช้ในการทดลอง	12
2	ลักษณะเชื้อรา Aspergillus oryzae และการเจริญบนอาหาร PDA ผสมผงโป๊ยกั๊กที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ เมื่ออายุ 8 วัน a = การเจริญของเชื้อราบนอาหาร PDA ผสมผงโป๊ยกั๊กที่ระดับความเข้มข้น 0 (กลาง), 10,000 (ซ้าย-บน), 20,000 (ขวา-บน), 30,000 (ซ้าย-ล่าง) และ 40,000 ppm. (ขวา-ล่าง), b,e = thallus และ phialospores c = phialospores d,f = conidial heads	13
3	ลักษณะเชื้อรา Aspergillus flavus และการเจริญบนอาหาร PDA ผสมผงโป๊ยกั๊กที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ เมื่ออายุ 8 วัน a = การเจริญของเชื้อราบนอาหาร PDA ผสมผงโป๊ยกั๊กที่ระดับความเข้มข้น 0 (กลาง), 10,000 (ซ้าย-บน), 20,000, ขวา-บน), 30,000 (ซ้าย-ล่าง) และ 40,000 ppm. (ขวา-ล่าง), b = thalli c,d = conidial heads และ e = phialospores	14
4	ลักษณะเชื้อรา Aspergillus niger และการเจริญบนอาหาร PDA ผสมผงโป๊ยกั๊กที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ เมื่ออายุ 8 วัน a = การเจริญของเชื้อราบนอาหาร PDA ผสมผงโป๊ยกั๊กที่ระดับความเข้มข้น 0 (กลาง), 10,000 (ซ้าย-บน), 20,000 (ขวา-บน), 30,000 (ซ้าย-ล่าง) และ 40,000 ppm. (ขวา-ล่าง), b,c,d = thalli e = phialospores	15
5	กราฟเปรียบเทียบค่า ED_{50} ของโป๊ยกั๊กที่มีต่อเชื้อ Aspergillus oryzae A. flavus และ A. niger บนอาหาร PDA	16
6	กราฟเปรียบเทียบค่า ED_{50} ของสารสกัดโป๊ยกั๊กด้วยน้ำ ที่มีต่อการเจริญของสปอร์ของเชื้อ Aspergillus oryzae, A. flavus และ A. niger	19

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบาญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
7	กราฟเปรียบเทียบค่า ED_{50} ของสารสกัดโป๊ยกั๊กด้วย1แอลกอฮอล์ 95% ที่มีต่อการเจริญของสปอร์ของเชื้อ Aspergillus oryzae, A. flavus และ A. niger	20

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนำ

ปัจจุบันนี้พืชสมุนไพรมีบทบาทและความสำคัญเพิ่มมากขึ้น ซึ่งการวิจัยนำไปใช้ประโยชน์เป็นไปอย่างกว้างขวาง เช่น ในสหรัฐอเมริกา ญี่ปุ่น อินเดีย ออสเตรเลีย ยุโรป และประเทศไทย เป็นต้น (ธานี, 2519; Connell, 1969) การจำหน่ายสมุนไพรในประเทศไทยในปีหนึ่งๆ คิดเป็นมูลค่าได้ไม่ต่ำกว่า 800 ล้านบาท ในการนำพืชสมุนไพรไปใช้เป็นยารักษาโรค (วิเชียรและพยอม, 2520) สำหรับการหาพืชมีพิษที่มีประสิทธิภาพในการฆ่าจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุทำให้เกิดโรคกับมนุษย์และสัตว์ มีผลทำให้พืชมีความสำคัญในด้านการเป็นแหล่งเพื่อใช้ในการเตรียมยา พืชบางชนิดกลายเป็นพืชเศรษฐกิจไป เช่น ระย่อม รงค์ทอง มะขามแขก พริกไท และกระวาน เป็นต้น บริษัทผู้ผลิตยาในประเทศสหรัฐอเมริกาและยุโรป ได้สั่งพืชดังกล่าวเหล่านี้ เพื่อนำไปสกัดเป็นตัวยา สำหรับนำไปใช้รักษาโรคต่างๆ ทำให้เกิดอุตสาหกรรมการผลิตยาฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ (Hill, 1974) ในปัจจุบันการวิจัยเกี่ยวกับพืช มีวัตถุประสงค์เพื่อนำไปใช้เป็นยารักษาโรคและนำไปถนอมอาหารเป็นส่วนใหญ่ (เทพ, 2507) จากรายงานวิจัยทางด้านโรคพืช จะเห็นได้ว่ามีพืชหลายชนิดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราสาเหตุทำให้เกิดโรคได้ เช่น Rhizopus, Alternaria, Phoma, Fusarium, Curvularia, Drechslera และ Colletotrichum (Skekhawat และ Prasada, 1973) นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าสารสกัดจากพืชพวก Cleome isocandra L. จะมีสารพวก phenolic compound สามารถยับยั้งการเจริญของราสนิม (rust) ได้ (Kumar และ Nene, 1976) และยังมีพืชอื่น ๆ อีกหลายชนิดที่สามารถจะนำไปใช้ประโยชน์ในการป้องกันกำจัดเชื้อราสาเหตุทำให้เกิดโรคพืชได้ แนวทางการวิจัยดังกล่าวนี้จะสามารถลดปัญหาสิ่งแวดล้อมเป็นพิษ อันเนื่องมาจากผลกระทบของการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราที่ตกค้างอยู่ในดิน น้ำ อากาศและผลผลิตทางการเกษตรได้ ฉะนั้นวัตถุประสงค์ของโครงการวิจัยนี้ จึงมุ่งที่จะคัดเลือกสายพันธุ์บางชนิดในประเทศไทย ที่มีประสิทธิภาพในการใช้ควบคุมเชื้อราสาเหตุทำให้เกิดโรคพืช และเพื่อศึกษาการใช้สารสกัดจากพืชมีพิษ มาใช้ในการป้องกันเชื้อสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคพืชที่สำคัญบางชนิด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การตรวจเอกสาร

การศึกษาและวิจัยเกี่ยวกับพืชสมุนไพร โดยทั่วไปมีจุดมุ่งหมายเพื่อนำไปใช้เป็นยารักษาโรคและถนอมอาหารเป็นส่วนใหญ่ ส่วนการศึกษาถึงประสิทธิภาพของพืชสมุนไพรในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคพืชยังมีน้อยมาก (เกษม, 2532)

Rao (1972) ได้ทำการทดสอบคุณสมบัติการยับยั้งเชื้อราที่ทำให้เกิดโรคกับมนุษย์ โดยใช้น้ำมันหอมระเหยจากพืช Ocimum canum L. และ Lantana indica L. ปรากฏว่าสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา Trichophyton mentagrophytes (Robin) Blanch, Candida albicans (Robin) Berkn. และ Epidermatophyton floccossum (Harz.) Langer

Tansey และ Appleton (1975) รายงานว่าจากการทดสอบคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราโดยใช้น้ำคั้นจากกระเทียมสด พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราได้เป็นจำนวนมาก ได้แก่ Allomyces arbuscula Butler, Alternaria alternata (Fr.) Keissler, Aspergillus nidulans (Eidam) Wint., A. niger Tiegh., Cladosporum resinae de Vries, Fusarium solani (Mart.) Apple and Wollenw. เป็นต้น

Hitokoto (1980) รายงานว่า กานพลูและโป๊ยกั๊กสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา Aspergillus spp. ได้หลายชนิด

อย่างไรก็ตามประสิทธิภาพของพืชสมุนไพรในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์แต่ละชนิด ขึ้นอยู่กับระดับความเข้มข้นของสารสกัดที่ใช้ด้วย (Morris, 1979) และในพืชชนิดเดียวกันนั้น จะมีผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้ต่างชนิดกัน (Fabian et al., 1939)

พืชสมุนไพรหลายชนิด ได้แก่ เจตมูลเพลิงแดง ขมิ้นอ้อย เหงือกปลาหมอ ทองพันชั่ง เป็นต้น มีฤทธิ์ในการทำลายเชื้อจุลินทรีย์บางชนิดได้ การที่สมุนไพรจะมีฤทธิ์ในการทำลายเชื้อจุลินทรีย์ได้มากหรือน้อย ขึ้นอยู่กับชนิดของพืชสมุนไพร และชนิดของจุลินทรีย์ สารสกัดพืชสมุนไพร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากแอลกอฮอล์ ส่วนใหญ่จะมีฤทธิ์ทำลายเชื้อจุลินทรีย์ได้ดีกว่าสารสกัดพืชสมุนไพรจาก chloroform และ petrolium ether (พรรนิภา, 2521) ซึ่งในทางการแพทย์ ได้มีการนำสารสกัดจากพืชบางชนิดที่มีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ มาเตรียมเป็นยาใช้ทาภายนอก เช่น โรคติดเชื้อที่ผิวหนัง (Hussain, 1979) และยังมีรายงานว่า สารที่แยกได้จากเปลือกมังคุด เช่น xanthone, mangostein, triacetate โดยนำไปทดสอบกับเชื้อรา 14 ชนิด ซึ่งเป็นเชื้อราสาเหตุทำให้เกิดโรคกับมนุษย์ และเชื้อราสาเหตุทำให้เกิดโรคกับพืช พบว่าสารจากเปลือกมังคุดดังกล่าว สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตได้ดีที่สุดในเชื้อรา E. floccosum, Alternaria, Mucor และ Rhizopus เป็นต้น (Sundarum et al., 1983)

นอกจากนี้ยังมีรายงานจากการผลวิจัยจำนวนมากเกี่ยวกับการใช้สารสกัดจากพืชไปยับยั้งการเจริญของเชื้อราที่เป็นสาเหตุทำให้เกิดโรคพืช ได้แก่ สารสกัดจาก Prosopsis spicigera L., Allium sativum L., Datura stramonium L. สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา Alternaria tenuis Fries, Curvularia pennisete (Mitra) Boed และ Helminthosporium (Shekhawat และ Presada, 1973)

เกษมและวิจัย (2528 ก.) รายงานว่าสารสกัดจากกระเทียมสามารถควบคุมเชื้อราสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคพืชได้หลายชนิด เช่น Colletotrichum นอกจากนี้ ไล่ตั๊น เทียนขาว สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา Phytophthora (เกษมและวิจัย, 2528 ข.) และโป๊ยกั๊ก สามารถควบคุมโรคใบไหม้ของข้าวโพดที่เกิดจากเชื้อรา Drechslera maydis ได้ดี (เกษมและวิจัย, 2528 ค.) และการใช้กานพลูและโป๊ยกั๊ก ยังสามารถควบคุมเชื้อรา Aspergillus spp. (เกษม, 2529 ก. และ ข.) และโดยเฉพาะโป๊ยกั๊ก ยังมีศักยภาพในการควบคุมเชื้อโรคติดต่อทางเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองสายพันธุ์เชียงใหม่ 60 อีกหลายชนิด (เกษมและสุมล, 2533; Soytong, 1991)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุปกรณ์และวิธีการ

1) การศึกษาประสิทธิภาพของพืชสมุนไพรที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราสาเหตุทำให้เกิดโรคพืช

ก. <u>การแยกเชื้อราสาเหตุที่ติดต่อทางเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดหวาน</u>

การเตรียมอาหารสำหรับแยกและเลี้ยงเชื้อรา โดยใช้ PDA (Potato Dextrose Agar) ผสม NaCl 10% ซึ่งประกอบด้วยมันฝรั่ง 200 กรัม น้ำตาล Dextrose 20 กรัม น้ำกลั่น 1 ลิตร NaCl 10% นำเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดพันธุ์หวาน เลือกมาจำนวน 50 เมล็ด นำไปฆ่าเชื้อบริเวณพื้นผิวด้วย Clorox 10% โดยการแช่ย่าเป็นเวลา 3 นาที แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้ว จำนวน 2 ครั้ง จากนั้นซับให้แห้งแล้วนำไปวางลงบนอาหารแยกเชื้อจำนวน 10 plates โดยใช้จำนวน 5 เมล็ดต่อ 1 plates นำไปบ่มเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง (25-27 °C) เป็นเวลา 7 วัน ตรวจและแยกเชื้อราจนเป็นเชื้อบริสุทธิ์ แล้วเก็บรักษาตัวอย่างเชื้อราบริสุทธิ์ไว้ในหลอดอาหาร PDA เติมด้วย mineral oil ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ทำการจำแนกหมวดหมู่เชื้อราและเก็บไว้ศึกษาต่อไป

ข. <u>การเตรียม inoculum ของเชื้อราและการเลี้ยงเชื้อบนอาหาร PDA ผสมผงพืช</u>

เลี้ยงเชื้อราสาเหตุที่ติดต่อทางเมล็ดพันธุ์ซึ่งแยกเป็นเชื้อบริสุทธิ์ ในแต่ละ species ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ซึ่งมีอาหารประมาณ 25 มิลลิลิตร เมื่อเชื้อราเจริญสร้างโคโลนี (colony) จนมีขนาดของเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 6 เซ็นติเมตร ใช้ cork borrer ที่ฆ่าเชื้อแล้ว ขนาดของเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 0.7 เซ็นติเมตร ตัดเส้นใยอ่อน ๆ ที่บริเวณขอบโคโลนี พร้อมทั้งวุ้นอาหารออกเป็นชิ้นกลม แล้วจึงใช้เข็มเขี่ยชิ้นวุ้นย้ายลงไปวางที่กลางจานอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ผสมผงพืช

ค. <u>การเตรียมอาหาร PDA ผสมผงพืช</u>

เตรียมอาหาร PDA ผสมผงพืชในอัตราส่วนความเข้มข้น 0, 10,000, 20,000, 30,000 และ 40,000 ppm. โดยชั่งผงพืชที่บดละเอียดแล้วให้ได้น้ำหนัก 1, 2, 3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และ 4 กรัม ตามลำดับ นำไปใส่ลงในขวดอาหารเลี้ยงเชื้อแต่ละขวด นำอาหาร PDA ที่เตรียมไว้ขณะยังร้อนเทใส่ขวดที่มีผงพืช 1, 2, 3 และ 4 กรัม ตามลำดับ ในแต่ละขวดมีปริมาตร 100 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน จะได้อาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่มีส่วนผสมของผงพืชในอัตราความเข้มข้น 10,000, 20,000, 30,000 และ 40,000 ppm. ตามลำดับ นำอาหารเลี้ยงเชื้อในขวดที่เตรียมได้ดังกล่าว ไปนึ่งฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันที่ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที ทิ้งไว้จนอุณหภูมิลดลงเหลือ 45-50 องศาเซลเซียส จึงนำอาหารมาเทใส่จานเลี้ยง ทำ 4 ซ้ำ ในแต่ละความเข้มข้น เพื่อใช้ทดสอบการเจริญเติบโตของราบนอาหาร PDA ผสมผงพืชต่อไป ในการทดลองนี้ทำการทดลองแบบ Completely Randomized Design จำนวน 4 ซ้ำ ที่ระดับความเข้มข้นของอาหาร PDA ผสมผงโป๊ยกั๊กต่างกัน 5 treatments ดังนี้คือ 0 ppm. (control), 10,000, 20,000, 30,000 และ 40,000 ppm. ตามลำดับ

ง. <u>การตรวจและบันทึกผลการทดลอง</u>

วัดการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อราแต่ละชนิดที่เจริญบนอาหาร PDA ผสมผงพืชในจานอาหาร โดยวัดเส้นผ่าศูนย์กลางของโคโลนี ที่เจริญในแนวราบทุกวัน จนกว่าเชื้อราจะเจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ และทำการเปรียบเทียบความหนาแน่นเส้นใยของโคโลนีของเชื้อราแต่ละชนิดที่เจริญบนอาหารเหล่านี้ โดยให้อัตราความหนาแน่นเส้นใยเป็น 5 ระดับ คือ ระดับ 0 หมายถึง ไม่มีการเจริญของเส้นใย, ระดับ 1 หมายถึง โคโลนีมีเส้นใยบางมาก, ระดับ 2 หมายถึง โคโลนีมีเส้นใยบาง, ระดับ 3 หมายถึง โคโลนีมีเส้นใยหนาแน่นปานกลาง, ระดับ 4 หมายถึง โคโลนีมีเส้นใยหนาแน่นมาก คำนวณหาค่าประเมินการเจริญเติบโตของเชื้อรา ซึ่งเป็นค่าที่ได้จาก ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง (ซม.) x ระดับความหนาแน่นของเส้นใย แล้วทำการเปรียบเทียบ treatment mean ด้วยวิธี Least significant different test (L.S.D.) ที่ระดับความเชื่อมั่น 99% แล้วคำนวณหาความเข้มข้นของพืชที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา 50% (ED_{50}) จากกราฟ โดยใช้ค่า probit ของเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโต (ธรรมศักดิ์, 2528) และค่า log ของความเข้มข้นของพืชเป็นหลักในการ plot สำหรับค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตคำนวณได้จากสูตรของเกษม (2528)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

% การยับยั้งการเจริญเติบโต = ค่าประเมินการเจริญเติบโตของเชื้อราบนอาหารที่ไม่มีผงพืช (0 ppm.) - ค่าประเมินการเจริญเติบโตของเชื้อราบนอาหารที่มีผงพืช / ค่าประเมินการเจริญเติบโตของเชื้อราบนอาหารที่ไม่มีผงพืช (0 ppm.) x 100

2) การทดสอบการใช้สารสกัดจากพืช เพื่อเป็นแนวทางในการควบคุมเชื้อราสาเหตุที่ติดต่อทางเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดหวาน

การนำผงพืชมาทำการสกัดสารอย่างหยาบ (crude star anise extract) โดยวิธีใช้แอลกอฮอล์ 95% และวิธีการต้มในน้ำร้อน (Decoction) ตามวิธีของเกษม (2528) แล้วจึงนำสารที่เตรียมจากแต่ละวิธีการที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ไปทำการทดสอบโดยคลุกกับเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดหวาน วิธีการเตรียมสารสกัดอย่างหยาบของผงพืชด้วยวิธีการต้มในน้ำร้อน ทำโดยนำผงพืชปริมาณ 45 กรัมต่อน้ำกลั่น 450 มิลลิลิตร ใส่ลงในบีคเกอร์ขนาด 500 มิลลิลิตร นำไปวางในหม้ออังไอน้ำ (water bath) โดยควบคุมอุณหภูมิไว้ที่ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ทำการกรองปรับ filtrate ให้ได้ 450 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น นำไปเก็บในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ 10 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ในการทดลองต่อไป คำนวณหาปริมาณของสารสกัดที่ได้ โดยนำสารสกัด 10 มิลลิลิตร ใส่ใน aluminium foil ซึ่งพับเป็นรูปถ้วยแล้วนำไปเข้าตู้อบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เพื่อระเหยน้ำออกจนแห้งสนิท ทำ 10 ซ้ำ นำไปชั่งน้ำหนัก คำนวณหาน้ำหนักแห้งของสารสกัดที่ได้ สำหรับวิธีการสกัดโดยใช้แอลกอฮอล์ 95% ทำโดยนำผงพืชจำนวน 5 กรัม ผสมกับแอลกอฮอล์ 95% 25 มิลลิลิตร นำไปวางในหม้ออังไอน้ำ (water bath) ควบคุมอุณหภูมิที่ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที กรองเอาส่วนกากออก นำส่วน filtrate ไปทำการระเหยให้แห้งโดยนำเข้าไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นำไปชั่งหาน้ำหนักของสารที่สกัดได้ จากนั้นละลายสารสกัดแห้งด้วยน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร โดยใช้ความร้อนช่วยในหม้ออังไอน้ำที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส แล้วเก็บไว้ในตู้ควบคุมอุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียล เพื่อนำไปใช้ในการทดลองต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การทดสอบศักยภาพของสารสกัดจากพืช ในการควบคุมราสาเหตุติดต่อเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดพันธุ์หวาน เพื่อต้องการจะทราบว่าสารสกัดจากพืชที่สกัดด้วยวิธีการใช้แอลกอฮอล์และวิธีการต้มในน้ำร้อน วิธีใดและที่อัตราความเข้มข้นเท่าใด จะให้สารสกัดที่มีประสิทธิภาพสูงในการควบคุมเชื้อราสาเหตุติดต่อทางเมล็ดพันธุ์ข้าวโพด โดยการคลุกกับสารสกัด โดยทำการทดลองแบบ 2 factors factorial experiment in completely Randomized Design (CRD) จำนวน 4 ซ้ำ โดยนำสารสกัดจากพืชที่สกัดได้จากแต่ละวิธีมาทำการเจือจางด้วยน้ำกลั่นที่ระดับความเข้มข้น 0, 10,000, 20,000, 30,000 และ 40,000 ppm. นำเมล็ดข้าวโพดหวานไปฆ่าเชื้อบริเวณพื้นผิวด้วย Clorox 10% เป็นเวลา 2-3 นาที แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้ว จากนั้นนำเมล็ดข้าวโพดคลุกเชื้อราสาเหตุที่แยกได้จากเมล็ดข้าวโพด ซึ่งอยู่ในรูปสปอร์แขวนลอย (spore suspension) โดยนับจำนวนสปอร์ด้วยเครื่องนับจำนวนสปอร์ (Haemacytometer) แล้วคลุกเคล้าสปอร์แขวนลอยของเชื้อสาเหตุแต่ละชนิดให้จับทั่วเมล็ด ทิ้งไว้ให้แห้งหมาด ๆ แล้วนำไปคลุกเคล้ากับสารสกัดที่นำมาทำให้เจือจางในแต่ละความเข้มข้นของแต่ละวิธี ให้สารสกัดจับทั่วเมล็ด เก็บในขวดแก้วขนาดเล็กที่มีฝาปิด แล้วเก็บไว้ในที่แห้ง 30 วัน จากนั้นนำเมล็ดที่เก็บไว้มานับจำนวนสปอร์ด้วยเครื่องนับจำนวนสปอร์ โดยนับสปอร์ของแต่ละความเข้มข้นของแต่ละวิธี บันทึกผลการทดลองหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง โดยคำนวณจากสูตรเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง

% การยับยั้ง = จำนวนสปอร์ของเชื้อราที่ไม่ได้คลุกสารสกัดจากพืช (0 ppm.) - จำนวนสปอร์ของเชื้อราที่คลุกสารสกัดจากพืช / จำนวนสปอร์ของเชื้อราที่ไม่ได้คลุกสารสกัดจากพืช (0 ppm.) x 100

และคำนวณหาความเข้มข้นของสารสกัดจากพืชที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา 50% (ED_{50}) โดยใช้ค่า probit ของเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง และค่า log ของความเข้มข้นของสารสกัดจากพืชเป็นหลักในการ plot

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการวิจัย

1. การศึกษาประสิทธิภาพของพืชสมุนไพรที่มีต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราสาเหตุทำให้ทำให้เกิดโรคพืช

(ก) การแยกเชื้อราสาเหตุที่ติดต่อทางเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดหวาน

จากการแยกเชื้อราจากเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดหวาน โดยใช้อาหาร PDA + NaCl 10% นั้น พบว่าสามารถแยกเชื้อราได้ 3 species ได้แก่ Aspergillus oryzae Sakaguchi and Yamada, A. flavus Link และ A. niger van Tieghem ซึ่งมีรายละเอียดของเชื้อราดังต่อไปนี้

Aspergillus oryzae Sakaguchi and Yamada

จัดอยู่ใน Aspergillus flavus group ลักษณะของโคโลนีเจริญค่อนข้างเร็ว เส้นใยของราส่วนใหญ่ฝังอยู่ในอาหาร conidial head เมื่อแรกเกิดมีสีเขียวปนเหลือง (yellowish green) แล้วเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลปนเหลือง (yellowish citrine) เมื่อมีอายุมากขึ้นสีของโคโลนีเปลี่ยนจากสีเขียวปนเหลืองเป็นสีน้ำตาลปนเหลืองอย่างรวดเร็ว ราน้ำไม่มีกลิ่น ใต้โคโลนีมีสีขาวจนถึงสีเหลืองปนส้มอ่อน conidial head มีรูปร่างแบบ loosely radiate และ phialospore จับกันอยู่อย่างหลวมๆ มีขนาด 180-390 มิลลิเมตร phialophores เกิดขึ้นโดยตรงจากเส้นใยที่อยู่ในอาหาร มีความยาว 750-1,120 ไมครอน เส้นผ่าศูนย์กลางของ phialophore ที่อยู่ใต้ vesicle ลงมาวัดได้ 10.0-20 ไมครอน phialophore ค่อยๆ เรียวเล็กลงไปทาง foot cell โดยมีเส้นผ่าศูนย์กลางของบริเวณโคนก้าน 4.0-5.0 ไมครอน ผนังของ phialophore เรียบมีความหนา 1.0-2.0 ไมครอน vesicle มีรูปร่างค่อนข้างกลม มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 27.0-42.0 ไมครอน sterigma มีทั้งแบบชั้นเดียวและแบบ 2 ชั้น แต่ส่วนมากพบที่มี sterigma แบบชั้นเดียว (ดังภาพที่ 2b) มีขนาด 8.0-12.0 x 5.0-8.0 ไมครอน phialospore มีรูปร่างค่อนข้างกลม สีเขียวอ่อน ผนังขรุขระเห็นได้ชัด มีเส้นผ่าศูนย์กลางขนาด 6.0-7.0 ไมครอน Isolate ที่แยกได้ไม่สร้าง sclerotium (ภาพที่ 2)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Aspergillus flavus Link.

บนอาหาร PDA เชื้อรามีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 7.1 เซนติเมตร เมื่ออายุ 8 วัน ที่อุณหภูมิห้อง (25-28 °C) ลักษณะโคโลนีมีสีเหลืองแกมเขียว ตรงกลางมีสีเข้มที่สุด และจางลงเรื่อย ๆ เมื่อห่างจากจุดศูนย์กลาง เนื่องจากบริเวณตรงกลางของโคโลนีมี conidial head ที่มีอายุแก่กว่า และขึ้นอย่างหนาแน่น นอกจากนี้เส้นใยเจริญอยู่ใต้อาหาร ในระดับใต้ผิวอาหารเล็กน้อย และพบว่าเชื้อราชนิดนี้สามารถสร้างเม็ด sclerotium กระจัดกระจายตามผิวบนอาหารทั่วไป มีสีน้ำตาลดำ รูปร่างกลม สีใต้อาหารจะเป็นสีเหลืองอ่อนหรือไม่มีสี conidial head เมื่อยังอ่อนอยู่จะไม่มีสี รูปร่างกลม (globose) เมื่อมีอายุมากขึ้นจะเปลี่ยนเป็นสีเหลืองแกมเขียว รูปร่างกลม แผ่เป็นรัศมีหรือแตกออกเป็นแฉก 3-4 แฉก มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 320-400 ไมครอน phialophore ไม่มีสี ผนังหนา 0.8-1 ไมครอน ผิวขระขระ และมีความยาวอยู่ในช่วง 380-850 ไมครอน มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 10-20 ไมครอน vesicle รูปร่างกลม หรือค่อนข้างกลม มีเส้นผ่าศูนย์กลางขนาด 15-55 ไมครอน sterigma มีทั้งที่เป็นแบบชั้นเดียว (uniseriate) และ 2 ชั้น (biseriate) (ภาพที่ 3)

Aspergillus niger. van Tieghem

บนอาหาร PDA เชื้อรามีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 8.06 เซนติเมตร เมื่ออายุ 8 วัน ที่อุณหภูมิห้อง (25-28 °C) ลักษณะโคโลนีมีสีดำออกน้ำตาล ตรงกลางมีสีเข้มที่สุด และจางลงเรื่อย ๆ เมื่อห่างจากจุดศูนย์กลางของโคโลนี เพราะว่าบริเวณตรงกลางของโคโลนีมี conidial head ที่มีอายุแก่กว่าและขึ้นอย่างหนาแน่น ส่วนขอบของโคโลนีเห็น conidial head ชัดเจนกว่า และเห็นก้าน phialophore ยาว เส้นใยของเชื้อเจริญอยู่ใต้อาหารอย่างบางๆ โคโลนีใต้อาหารไม่มีสี และตั้งแต่จุดศูนย์กลางของโคโลนี มีรอยบุ๋มลงในอาหาร conidial head เมื่อยังอ่อนอยู่จะมีรูปร่างกลม ไม่มีสี เมื่อมีอายุมากขึ้นเปลี่ยนเป็นสีดำ รูปร่างกลม แผ่เป็นรัศมีหรือแตกออกเป็นแฉก 3-4 แฉกหรือมากกว่า มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 400-650 ไมครอน phialophore มีสีน้ำตาลอ่อนและสีค่อยๆ เข้มขึ้นเมื่อถึง vesiocle และ phialophore บริเวณนี้เป็นรอยคอดเล็กน้อย ผนังเรียบ ส่วนมากยาวมากกว่า 1 มิลลิเมตร เส้นผ่าศูนย์กลางมีขนาด 12-16 ไมครอน และผนังหนา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.8-2.0 ไมครอน vesicle มีรูปร่างกลมหรือค่อนข้างกลม มีเส้นผ่าศูนย์กลางขนาด 35 ถึง 60 ไมครอน sterigma ชั้นปกคลุมทั้ง vesicle มี 2 ชั้น และมีสีน้ำตาลอ่อน ชั้นที่ 1 ที่ติดกับ vesicle มีขนาด 25-35 x 5-6 ไมครอน ชั้นที่ 2 มีขนาด 7-12 x 3-6 ไมครอน ลักษณะ phialospore กลม มีสีน้ำตาลอ่อน ผนังขรุขระเล็กน้อย มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 3.5-4.5 ไมครอน (ภาพที่ 4)

(ข) <u>การศึกษาประสิทธิภาพของพืชที่มีอิทธิพลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา บนอาหาร PDA</u>

จากการทดสอบประสิทธิภาพของผงพืชที่มีอิทธิพลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา A. oryzae, A. flavus และ A. niger กับพืชหลายชนิด ได้แก่ โป๊ยกั๊ก ข่า ตะไคร้หอม สะเดาและกระวาน เป็นต้น จากการทดลองนี้พบว่าโป๊ยกั๊กมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราได้ทั้ง 3 ชนิด โดยสามารถยับยั้ง Aspergillus niger ได้ดีที่สุด ซึ่งมีค่า ED_{50} เท่ากับ 14,000 ppm., รองลงมาได้แก่ Aspergillus oryzae มีค่า ED_{50} เท่ากับ 36,000 ppm. และ Aspergillus flavus มีค่า ED_{50} เท่ากับ 39,000 ppm. และพบว่าโป๊ยกั๊กมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตได้ดี เมื่อความเข้มข้นของโป๊ยกั๊กสูงขึ้น (ภาพที่ 2, 3, 4 และ ตารางที่ 1 และ 2) โป๊ยกั๊กที่ระดับความเข้มข้น 10,000 ppm., 20,000 ppm., 30,000 ppm. และ 40,000 ppm. มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราทั้ง 3 ชนิด ที่ระดับความเชื่อมั่น 99% เมื่อเปรียบเทียบกับการทดลองเปรียบเทียบ (control) จากการทดลองนี้จึงได้นำโป๊ยกั๊กทำการสกัดสารเพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

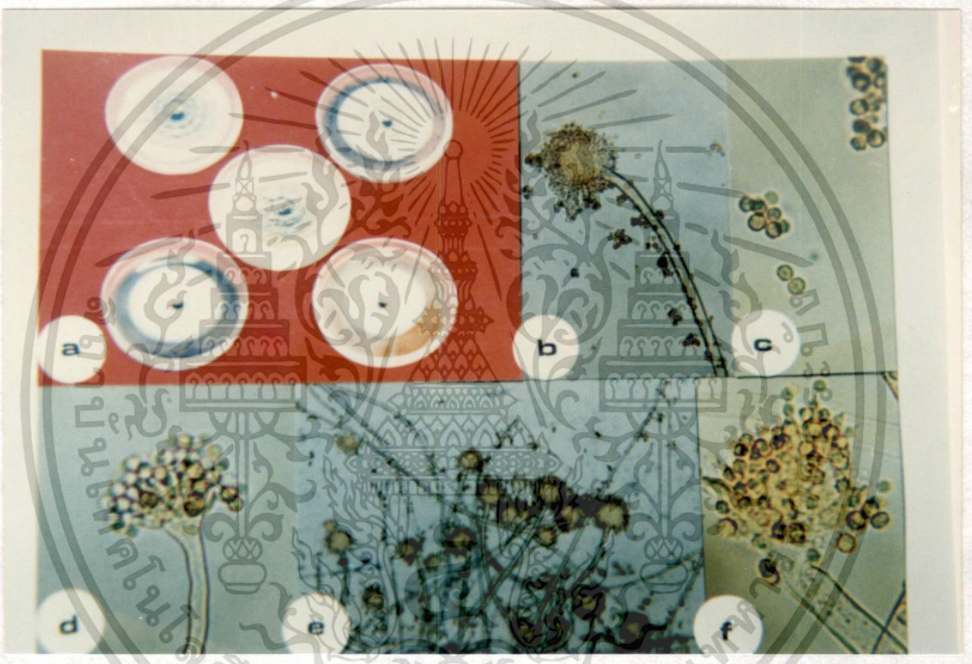
2. การทดสอบการใช้สารสกัดจากพืช เพื่อเป็นแนวทางในการควบคุมเชื้อราสาเหตุติดต่อทางเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดหวาน

ผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดโป๊ยกั๊กด้วยน้ำและแอลกอฮอล์ 95% ที่มีอิทธิพลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตเชื้อรา A. oryzae, A. flavus และ A. niger (ตารางที่ 3) พบว่าสารสกัดจากโป๊ยกั๊กมีอิทธิพลในการยับยั้งการสร้างสปอร์ของเชื้อราได้ดีทั้ง 3 ชนิด โดยสารสกัดโป๊ยกั๊กด้วยน้ำสามารถยับยั้งการสร้างสปอร์ของเชื้อรา A. oryzae, A. flavus และ A. niger ได้ดี มีค่า ED_{50} ต่ำกว่า 10,000 ppm. สำหรับสารสกัดโป๊ยกั๊กด้วยแอลกอฮอล์ 95% สามารถยับยั้งการสร้างสปอร์ของเชื้อรา A. oryzae, A. flavus และ A. niger ได้ดี โดยมีค่า ED_{50} ต่ำกว่า 10,000 ppm. เช่นเดียวกัน สารสกัดโป๊ยกั๊กทั้ง 2 วิธี สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของสปอร์ของเชื้อราได้ดี ในระดับความเข้มข้นต่ำ และในการเปรียบเทียบสารสกัดโป๊ยกั๊กด้วยน้ำและแอลกอฮอล์ 95% (ตารางที่ 4) พบว่าสารสกัดโป๊ยกั๊กด้วยแอลกอฮอล์ 95% สามารถยับยั้งการสร้างสปอร์ได้ดีกว่าสารสกัดโป๊ยกั๊กด้วยน้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

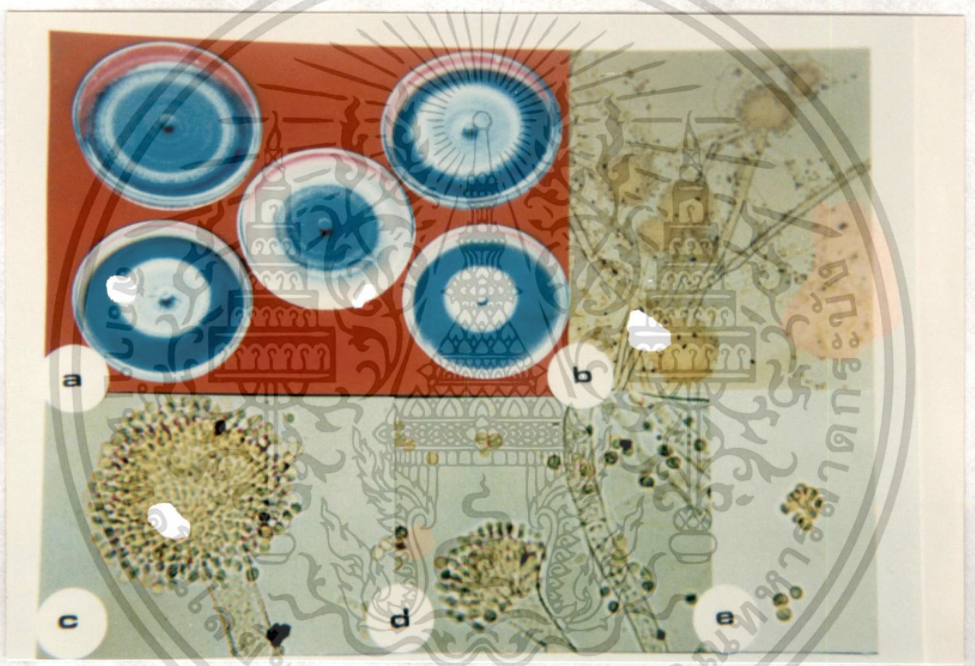
ภาพที่ 1 แสดงตัวอย่าง โปรีย์กที่ใช้ในการทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



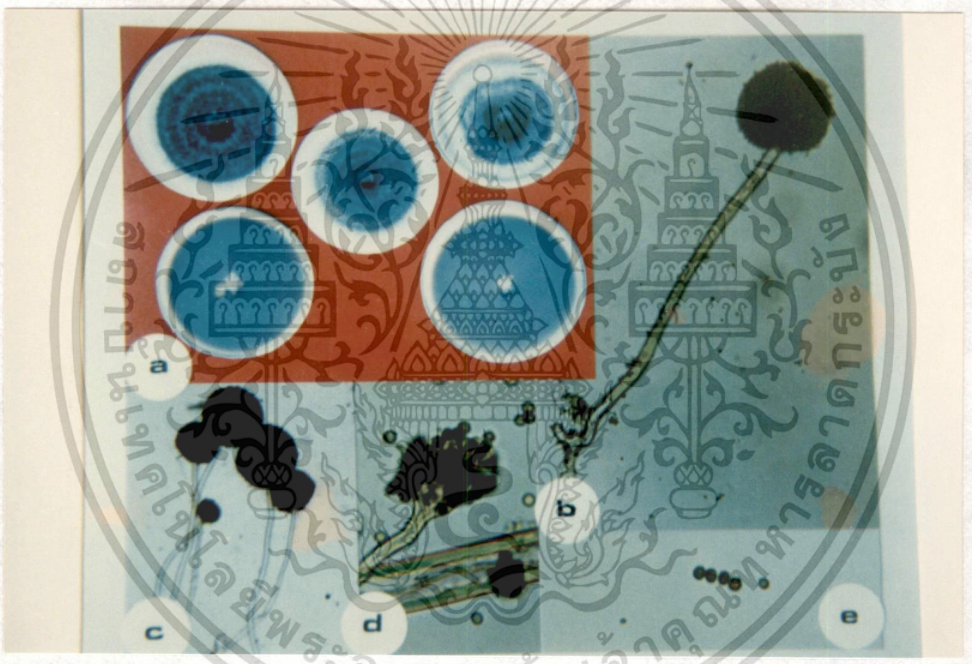
ภาพที่ 2 ลักษณะเชื้อรา Aspergillus oryzae และการเจริญบนอาหาร PDA ผสมผงโป๊ยกั๊กที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ เมื่ออายุ 8 วัน a = การเจริญของเชื้อราบนอาหาร PDA ผสมผงโป๊ยกั๊กที่ระดับความเข้มข้น 0 (กลาง), 10,000 (ซ้าย-บน), 20,000 (ขวา-บน), 30,000 (ซ้าย-ล่าง) และ 40,000 ppm. (ขวา-ล่าง), b,e = thallus และ phialospores c = phialospores d,f = conidial heads

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



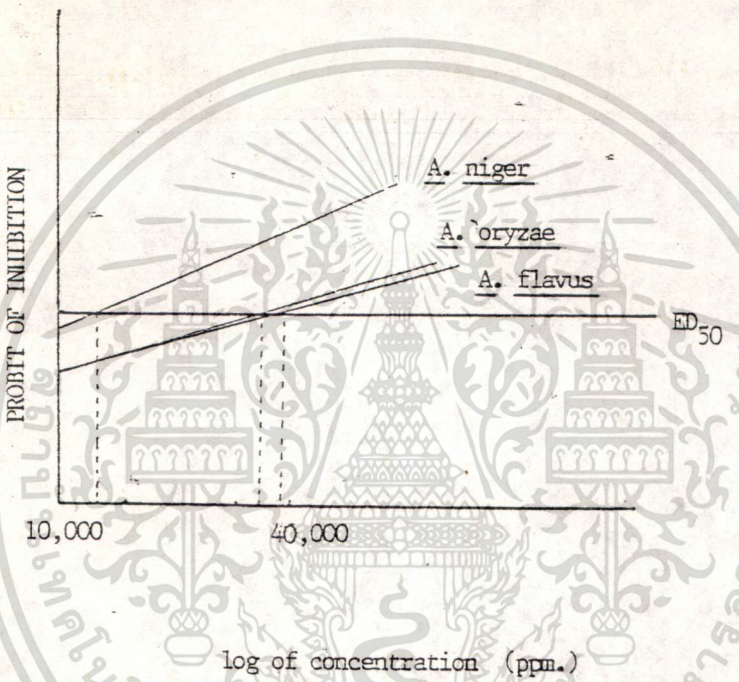
ภาพที่ 3 ลักษณะเชื้อรา Aspergillus flavus และการเจริญบนอาหาร PDA ผสมผงโป๊ยกั๊กที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ เมื่ออายุ 8 วัน a = การเจริญของเชื้อราบนอาหาร PDA ผสมผงโป๊ยกั๊กที่ระดับความเข้มข้น 0 (กลาง), 10,000 (ซ้าย-บน), 20,000, ขวา-บน), 30,000 (ซ้าย-ล่าง) และ 40,000 ppm. (ขวา-ล่าง), b = thalli c,d = conidial heads และ e = phialospores

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4 ลักษณะเชื้อรา Aspergillus niger และการเจริญบนอาหาร PDA ผสมผงโป๊ยกั๊กที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ เมื่ออายุ 8 วัน a = การเจริญของเชื้อราบนอาหาร PDA ผสมผงโป๊ยกั๊กที่ระดับความเข้มข้น 0 (กลาง), 10,000 (ซ้าย-บน), 20,000 (ขวา-บน), 30,000 (ซ้าย-ล่าง) และ 40,000 ppm. (ขวา-ล่าง), b,c,d = thalli e = phialospores

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 5 กราฟเปรียบเทียบค่า ED_{50} ของโปรยักกีที่มีต่อเชื้อ Aspergillus oryzae A. flavus และ A. niger บนอาหาร PDA

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ตารางที่ 1 ค่า ED_{50} ของโปรยก๊กที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อราชนิดต่างๆ บนอาหาร PDA

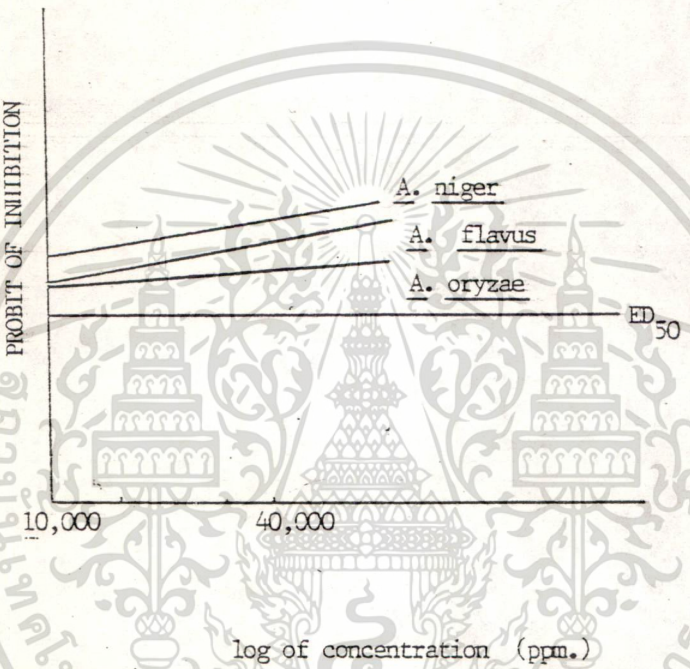
ชนิดของเชื้อรา	ค่า ED_{50} ของโปรยก๊ก (ppm.) [1/]
A. oryzae	36,000
A. flavus	39,000
A. niger	14,000

[1/] จากการอ่านค่า ED_{50} ในภาพที่ 5

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

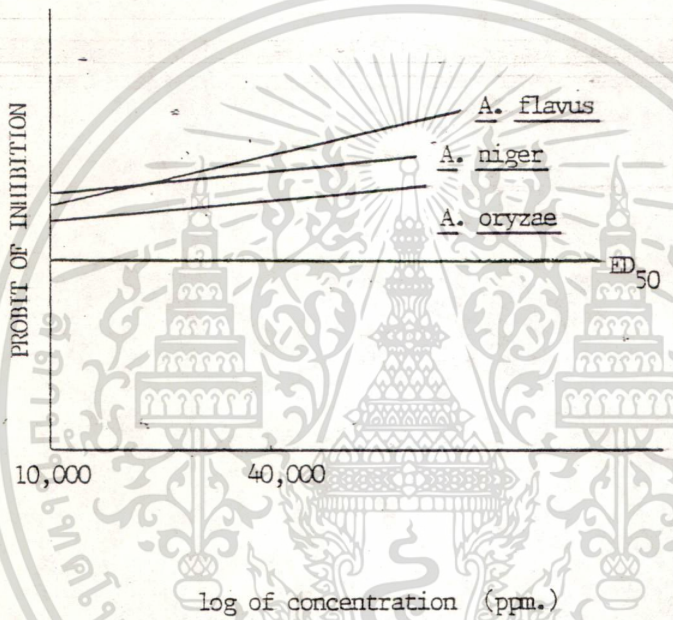
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

20392



ภาพที่ 6 กราฟเปรียบเทียบค่า ED_{50} ของสารสกัดโป๊ยกั๊กด้วยน้ำ ที่มีต่อการเจริญของสปอร์ของเชื้อ Aspergillus oryzae, A. flavus และ A. niger

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 7 กราฟเปรียบเทียบค่า ED_{50} ของสารสกัดโปียกักด้วย1แอลกอฮอล์ 95% ที่มีต่อการเจริญของสปอร์ของเชื้อ Aspergillus oryzae, A. flavus และ A. niger

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3 ค่า ED_{50} ของโปรยักก์ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อราชนิดต่าง ๆ

ชนิดของเชื้อรา	ค่า ED_{50} ของโปรยักก์ (ppm.)[1/]	
	สารสกัดด้วยน้ำ	สารสกัดด้วยแอลกอฮอล์ 95%
A. oryzae	< 10,000	< 10,000
A. flavus	< 10,000	< 10,000
A. niger	< 10,000	< 10,000

[1/] จากการอ่านค่า ED_{50} ในภาพที่ 6 และ 7

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 5 ค่าเฉลี่ยจำนวนสปอร์ของเชื้อราชนิดต่างๆ ที่คลุกกับเมล็ดแล้วคลุกด้วยสารสกัดโปยกั๊กจากน้ำและแอลกอฮอล์ 95% ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ กัน

ชนิดเชื้อรา	ค่าเฉลี่ยจำนวนสปอร์ของเชื้อราที่คลุกเมล็ดข้างคลุมด้วยสารสกัดโปยกั๊ก 1/								
	control	สารสกัดด้วยน้ำ				สารสกัดด้วยแอลกอฮอล์ 95%			
	0	10000	20000	30000	40000	10000	20000	30000	40000
A. oryzae	2517.50	566.25	540.00	506.25	462.50	273.00	250.17	233.17	211.25
A. flavus	1582.50	267.00	195.62	56.25	40.00	123.12	68.75	43.75	12.50
A. niger	1762.00	78.50	54.50	52.00	28.75	77.37	51.62	33.12	20.00

1/ ค่าเฉลี่ยจำนวนสปอร์ 4 ซ้ำ (หน่วย x 10^4 สปอร์)

วิจารณ์

ในการแยกเชื้อราจากเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดหวาน พบเชื้อรา Aspergillus ได้ 3 spp. คือ A. oryzae, A. flavus และ A. niger ซึ่งเคยมีรายงานว่า เชื้อราสาเหตุที่ติดต่อทางเมล็ดพันธุ์ข้าวโพด ส่วนมากได้แก่ A. flavus และ A. niger (Christensen และ Gordon, 1948; Moreau, 1979; Sauer และคณะ, 1982; JICA, 1984) นอกจากนี้ อุทัยวรรณ (2522) รายงานว่า พบ A. oryzae ในเมล็ดข้าวโพดเช่นเดียวกัน และรณภพ (2530) รายงานว่า A. flavus มีมากที่สุดในเมล็ดข้าวโพด

จากการทดสอบประสิทธิภาพของโปยกั๊กที่มีต่อการยับยั้งเชื้อราทั้ง 3 ชนิด บนอาหาร PDA ผสมผงโปยกั๊ก ปรากฏว่า สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราทั้ง 3 ชนิดได้ดีโดยเฉพาะ A. niger ที่ระดับความเข้มข้นต่ำกว่า 20,000 ppm. ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของเกษม (2528) พบว่า โปยกั๊กมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราได้ดีที่สุด และรายงานของ Hitokoto และคณะ (1980) กล่าวว่าโปยกั๊กมีประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญของรา Aspergillus spp. การที่โปยกั๊กมีประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราได้นั้นอาจจะเนื่องจากมีสาร anethole ซึ่งเป็นองค์ประกอบที่สำคัญของน้ำมันหอมระเหยของโปยกั๊ก (Parry, 1969) และพบว่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราในการทดลองครั้งนี้มีค่าสูงใกล้เคียงกับรายงานของเกษมและสุมล (2533)

การที่พืชสมุนไพรมีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรานั้น ขึ้นอยู่กับระดับความเข้มข้นที่ใช้ และชนิดของเชื้อราด้วย พืชสมุนไพรที่มีความเข้มข้นสูงสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตได้ดีกว่าที่มีระดับความเข้มข้นต่ำ ดังในการทดลองนี้จะเห็นได้ว่า การใช้โปยกั๊กผสมอาหาร PDA ที่ระดับความเข้มข้นสูง สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตได้ดีกว่า ซึ่งสามารถยับยั้งการสร้างสปอร์และระดับความหนาแน่นของเส้นใยลดลง สำหรับการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดโปยกั๊กที่มีต่อการสร้างสปอร์ของเชื้อราชนิดต่างๆ ปรากฏว่าสามารถยับยั้งการสร้างสปอร์ของเชื้อราทั้ง 3 ชนิดได้ดี ทั้งการสกัดด้วยวิธีต้มในน้ำร้อนและการสกัดด้วยแอลกอฮอล์ 95% โดยใช้ในระดับความเข้มข้นต่ำ และปรากฏว่าสารสกัดโปยกั๊กด้วยแอลกอฮอล์ 95% สามารถยับยั้งการสร้างสปอร์ได้ดีกว่าสาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สกัดด้วยวิธีต้มในน้ำร้อน ซึ่งเกษมและสุมล (2533) ได้รายงานไว้ในทำนองเดียวกัน และการที่สารสกัดจากผงโป๊ยก๊กโดยใช้แอลกอฮอล์นั้น สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ดี อาจเนื่องมาจากว่าสารสกัดจากสมุนไพรในแอลกอฮอล์ ส่วนใหญ่มีฤทธิ์ทำลายจุลินทรีย์ได้ดีกว่าสกัดใน chloroform และ Petroleum ether ตามรายงานของพรรณิภา (2521)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สรุป

การแยกเชื้อราจากเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดหวาน โดยวิธี Agar plate method พบเชื้อรา Aspergillus 3 ชนิดคือ Aspergillus oryzae, A. flavus และ A. niger จากการนำผงโป๊ยกั๊กที่บดละเอียดมาผสมในอาหาร PDA ที่ระดับความเข้มข้น 10,000, 20,000, 30,000 และ 40,000 ppm. ทดสอบการเจริญของเชื้อราทั้ง 3 ชนิด บนอาหารดังกล่าว ปรากฏว่าโป๊ยกั๊กสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราได้ดี โดยเฉพาะกับ Aspergillus niger มีค่า ED_{50} ต่ำกว่า 20,000 ppm. สำหรับ A. oryzae และ A. flavus สามารถยับยั้งได้ โดยใช้ระดับความเข้มข้นของโป๊ยกั๊กที่มากกว่า 36,000 และ 39,000 ppm. ตามลำดับ ทั้งนี้ประสิทธิภาพในการยับยั้งมากน้อยต่างกันไปขึ้นอยู่กับชนิดของเชื้อรา และความเข้มข้นของโป๊ยกั๊ก ซึ่งโดยทั่วไปความเข้มข้นเพิ่มขึ้นประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราจะสูงขึ้นด้วย ในการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดโป๊ยกั๊กด้วยน้ำและแอลกอฮอล์ 95% โดยนำสารสกัดแต่ละวิธีดังกล่าวคลุกกับเมล็ดข้าวโพดหวานด้วยสปอร์เชื้อราทั้ง 3 ชนิด แล้วนำไปเก็บไว้ 30 วัน ที่อุณหภูมิห้อง (25-28 °C) โดยใช้ระดับความเข้มข้นของสารสกัด 10,000, 20,000, 30,000 และ 40,000 ppm. สามารถยับยั้งการสร้างสปอร์ของเชื้อราทั้ง 3 ชนิดได้ดี ในทุกระดับความเข้มข้นสูงสามารถยับยั้งได้ดีกว่าความเข้มข้นต่ำ นอกจากนี้ยังปรากฏว่าสารสกัดโป๊ยกั๊กด้วยแอลกอฮอล์ 95% สามารถยับยั้งเชื้อราได้ดีกว่าสารสกัดโป๊ยกั๊กด้วยน้ำ โดยมีค่า ED_{50} ต่ำกว่า 10,000 ppm.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

เกษม สร้อยทอง และวิจัย รักวิทยาศาสตร์. 2528 ก. การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา ด้วยสารสกัดจากกระเทียม. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า 2:9-17.

เกษม สร้อยทอง และวิจัย รักวิทยาศาสตร์. 2528 ข. อิทธิพลของพืชสมุนไพรบางชนิดที่มีต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา. วารสารโรคพืช 5(2):38-47.

เกษม สร้อยทอง และวิจัย รักวิทยาศาสตร์. 2528 ค. อิทธิพลของสารสกัดจากพืชสมุนไพรที่มีต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราและศักยภาพในการป้องกันกำจัดโรคพืช. วารสารโรคพืช 5(3):102-113.

เกษม สร้อยทอง. 2529 ก. การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา Aspergillus spp. ด้วยสารสกัดจากกานพลู. วารสารโรคพืช 6(1):1-6.

เกษม สร้อยทอง. 2529 ข. การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา Aspergillus spp. ด้วยสารสกัดจากงโป๊ยกั๊ก. วารสารศูนย์บางพระ 24(1):68-72.

เกษม สร้อยทอง. 2532 ก. การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา Aspergillus spp. ด้วยสารสกัดจากกานพลู. วารสารศูนย์บางพระ 26(3):73-75.

เกษม สร้อยทอง และสุมล กันตธนกุล. 2533. อิทธิพลของโป๊ยกั๊กที่มีต่อการควบคุมเชื้อรา สาเหตุที่ติดต่อทางเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองสายพันธุ์เชียงใหม่ 60. วารสารวิจัยและส่งเสริมวิชาการเกษตร. 7(4):160-164.

เทพ เชียงทอง. 2507. การวิจัยสมุนไพรที่จุฬาฯ. วิทยาศาสตร์ 18:193-197.

ธานี ธีรวัฒน์. 2519. สมุนไพรและไม้พิษ. สุขภาพ 4:67-74.

พรรณิภา ชุมศรี. 2521. การตรวจสอบสมุนไพรที่มีฤทธิ์ในการทำลายจุลินทรีย์. สภาวิจัยแห่งชาติ. กรุงเทพฯ.

วิเชียร จีรวงศ์ และพยอม ตันติวัฒน์. 2520. สมุนไพร. วิทยาศาสตร์ 31:35-45.

รณภพ บรรเจิดเชิดชู. 2530. เชื้อราในโรงเก็บ-สารพิษอฟลาทอกซินและการควบคุมด้วยสารเคมีบนเมล็ดข้าวโพด. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพ. 123 หน้า.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุทัยวรรณ แสงวณิช. 2522. การตรวจหารา Aspergillus ที่สร้าง aflatoxin ในผลผลิตเกษตร. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพ.

Christensen, C.M. and D.R. Gordon. 1948. The mold flora of stored wheat and corn and its relation to heating of moist grain. Cereal Chem. 25:40-51.

Connell, D.W. 1969. The pungent principle of ginger and their important in certain ginger product. J. Food Technology in Australia. 21:570-575.

Fabian, F.W., C.P. Krehl and N.W. Little. 1939. The role of spices picked food spoilage. Food Res. 4:629.

Hill, F.S. 1974. Economic Botany. Tata Mc-Graw-Hill Book Comp. New York. 560 p.

Hitokoto, H. 1980. Inhibitory effects of spices on growth and toxin production of toxigenic fungi. Food Sci and Tech. 12:12T633 (abstract).

Hitokoto, H., Morozumi, S., Wauke, T., Sakai, S. and I. Ueno. 1978. Inhibitory effects of condiments and herbal drugs on the growth and toxin production of toxigenic fungi. Mycologia 66:161-167.

Hussain, N. 1979. Antimicrobial principles in Mimosa hamata. Lloydia 42:525-527.

JICA. 1984. Investigation on quality control for postharvest maize, pp. 102-114. In Report for the Technical Cooperation Project on Maize Development Thailand 1977-1984.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Kumar, K. and Y.L. Nene. 1976. Antifungal properties of Cleome isocandra L. extracts. Indian Phytopathology 29:445-446.

Moreau, C. 1979. Moulds, Toxin & Food. John Wiley & Sons. New York. 467 p.

Parry, J.W. 1969. Species Vol II. Chemical Pub. Co., New York. 245 p.

Rao, B.G. and P.S. Rao. 1972. The efficiency of some essential oils and pathogenic fungi II. Food Sci. and Tech. 5:1T9 (abstract).

Sauer, D.B. Storey, C., Ecker, O. and O.W. Fulk. 1982. Fungi in USA export wheat and corn. Phytopathology 72:1449-1452.

Shekhawat, P.S. and R. Prasada. 1973. Antifungal properties of some plant extracts I. Inhibition of spore germinatin. Indian Phytopathology 26:800-802.

Sundaram, B.M., Gopalakrishnan, C.L., Subramanian, S. and D. Shankaranarayanan. 1983. Antimicrobial activity of Garcinia mangostana. Planta Medica 48:59-60.

Tansey, M.R. and J.A. Appleton. 1975. Inhibition of fungal growth by garlic extract. Mycologia 67:409-411.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้