

14414

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ปัญหาพิเศษปริญญาตรี

ภาควิชาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช

เรื่อง

อิทธิพลของสารสกัดจากพืชสมุนไพรบางชนิดในการควบคุม

เชื้อราที่ติดต่อกทางเมล็ดพันธุ์ถั่วลิสง

Effects of some medicinal plant extract to control
a seed-borne fungus of peanut



T098953

โดย

นางสาววีรญา บุญเด็ย

ป.ศ.

๖ ๘๒ ๖๐

๒๕๓๗

เกษม สร้อยทอง ประธานกรรมการ อาจารย์ที่ปรึกษา

รศ.ดร.เกษม สร้อยทอง

เลขหมู่.....

เลขทะเบียน..... ๙๘๙๕๖

วัน,เดือน,ปี.....

ภาควิชารับรองแล้ว

Dr.

(อาจารย์สำเร็จ คำทอง)

หัวหน้าภาควิชาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช

วันที่ ๒๙ มีนาคม พ.ศ. ๒๕๓๗

๙ / ๓.๓. ๒๕๓๗

ป.ศ.

๖ ๘๒ ๖๐

๒๕๓๖

บทคัดย่อ

- ชื่อเรื่อง : อิทธิพลของสารสกัดจากพืชสมุนไพรบางชนิดในการควบคุม
เชื้อราที่ติดต่อกับเมล็ดยีสต์ถั่วลิสง
- โดย : นางสาววีรญา บุญคุ้ม
- ชื่อปริญญา : วิทยาศาสตร์บัณฑิต (เกษตรศาสตร์)
- สาขา : เทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช
- อาจารย์ที่ปรึกษา : ดร.เกษม สร้อยทอง
(รศ.ดร.เกษม สร้อยทอง)

จากการทดลองสามารถแยกเชื้อรา Aspergillus flavus Link. ได้จากเมล็ดยีสต์ถั่วลิสงพันธุ์ไทนาน 9 และเมื่อนำไปทดสอบกับสะเดา ช่า ตะไคร้หอม และโป๊ยกั๊ก พบว่า โป๊ยกั๊กมีศักยภาพสูงสุดในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราบนอาหาร PDA ผสมผงโป๊ยกั๊กที่ระดับความเข้มข้น 10000 ppm รองลงมาได้แก่ ตะไคร้หอม ช่าและสะเดา ที่ระดับความเข้มข้น 50000 ppm ในขณะที่ใช้สารสกัดจากโป๊ยกั๊กที่สกัดด้วยแอลกอฮอล์ 95 % และน้ำร้อนที่ระดับความเข้มข้น 10000 ppm พบว่าสามารถยับยั้งการสร้างสปอร์ของเชื้อราดังกล่าวบนเมล็ดยีสต์ถั่วลิสงที่ติดเชื้อราได้ถึง 51.16 และ 58.17 เปอร์เซ็นต์ เท่าเทียมกับการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา Captan ซึ่งสามารถยับยั้งการสร้างสปอร์ได้เฉลี่ย 61.56 เปอร์เซ็นต์

ABSTRACT

Title : Effect of some medicinal plant to control
a seed-borne fungus of peanut

By : Veeraya Boontia

Degree : Bachelor of Science (Agriculture)

Major field : Plant Pest Management Technology

Advisor : Kasem Soyong
(Assoc.Prof.Dr.Kasem Soyong)

The isolation of seed-borne fungus of peanut var.Thainang identified as Aspergillus flavus Link. The isolated fungus was tested for the growth inhibition by using neem,galanga,citronela and star anise in coporation with PDA at different concentrations. Results showed that star anise could inhibit the growth of A. flavus at the concentration of 10000 ppm, followed by citronela,galanga and neem at the concentration of 50000 ppm. Using crude extract of star anise with 95% alcohol and hot water at the concentration of 10000 ppm could be inhibited the spore production on infested peanut seeds at 54.16 and 58.17 percent which as effectively as Captan (61.56 percent)

คำนิยม

ขอขอบพระคุณ รศ.ดร.เกษม สร้อยทอง อาจารย์ที่ปรึกษาที่ได้กรุณาให้คำปรึกษา แนะนำ และ
แก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ จนกระทั่งปัญหาพิเศษเล่มนี้สำเร็จได้ด้วยดี และขอขอบพระคุณอาจารย์ทุกท่าน เจ้าหน้าที่
หน้าที่ตึกปฏิบัติการเกษตร 2 ภาควิชาเทคโนโลยีการจัดการสัตว์พืช คณะเทคโนโลยีการเกษตรสถาบัน
เทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ตลอดจนพี่น้องและกำลังใจพิเศษ รวมทั้งเพื่อนๆ ที่ได้มี
ส่วนช่วยเหลือและเป็นกำลังใจทุกท่าน

สุดท้ายขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา ที่ให้ทั้งกำลังใจและกำลังทรัพย์โดยตลอดจนมาถึงวันนี้

วีรญา บุญเต็ย

มีนาคม 2537

สารบัญ

	หน้า
สารบัญภาพ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาคผนวก	(3)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	2
การตรวจเอกสาร	3
อุปกรณ์และวิธีการ	8
ผลการทดลอง	12
วิจารณ์ผลการทดลอง	32
สรุปผลการทดลอง	34
เอกสารอ้างอิง	35
ภาคผนวก	39

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1 ลักษณะของส่มุนไพร สะเดา ข่า ตะไคร้หอมและโป๊ยกั๊ก	13
2 ลักษณะของเชื้อรา <u>Aspergillus flavus</u> Link.	14
3 ลักษณะของเชื้อรา <u>Aspergillus flavus</u> Link.	15
4 การทดสอบพืชส่มุนไพรสะเดาที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของ เชื้อรา <u>Aspergillus flavus</u> ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ	18
5 การทดสอบพืชส่มุนไพรข่าที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของ เชื้อรา <u>Aspergillus flavus</u> ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ	19
6 การทดสอบพืชส่มุนไพรตะไคร้หอมที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของ เชื้อรา <u>Aspergillus flavus</u> ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ	20
7 การทดสอบพืชส่มุนไพรโป๊ยกั๊กที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของ เชื้อรา <u>Aspergillus flavus</u> ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ	21
8 กราฟค่า ED ₅₀ ของส่มุนไพรแต่ละชนิดที่มีผลต่อการยับยั้ง การเจริญเติบโตของเชื้อรา <u>Aspergillus flavus</u>	22

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1 ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อรา <u>Aspergillus flavus</u> บนอาหาร PDA ผสมผงปืยักที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ	23
2 ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อรา <u>Aspergillus flavus</u> บนอาหาร PDA ผสมผงตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ	24
3 ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อรา <u>Aspergillus flavus</u> บนอาหาร PDA ผสมผงข่าที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ	25
4 ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อรา <u>Aspergillus flavus</u> บนอาหาร PDA ผสมผงสะเดาที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ	26
5 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา <u>Aspergillus flavus</u> ของสมุนไพรชนิดและความเข้มข้นต่างๆ	27
6 ค่า ED ₅₀ ของสมุนไพรชนิดต่างๆ ที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญ ของเชื้อรา <u>Aspergillus flavus</u>	28
7 จำนวนสปอร์ของเชื้อรา <u>Aspergillus flavus</u> จากการใช้สารสกัด จากปืยักที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ	30
8 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโต (สปอร์) ของเชื้อรา <u>Aspergillus flavus</u> ในสารสกัดปืยัก	31

สารบัญภาคผนวก

ภาคผนวกที่	หน้า
1 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนทางสถิติของการเจริญเติบโต ของเชื้อรา <u>Aspergillus flavus</u> บนอาหาร PDA ผสมผง สะเดาที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ	40
2 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนทางสถิติของการเจริญเติบโต ของเชื้อรา <u>Aspergillus flavus</u> บนอาหาร PDA ผสมผง ข่าที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ	41
3 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนทางสถิติของการเจริญเติบโต ของเชื้อรา <u>Aspergillus flavus</u> บนอาหาร PDA ผสมผง ตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ	42
4 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนทางสถิติของการเจริญเติบโต ของเชื้อรา <u>Aspergillus flavus</u> บนอาหาร PDA ผสมผง โป๊ยกั๊กที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ	43
5 ค่า probit ของการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา <u>Aspergillus flavus</u> โดยใช้พืชสมุนไพรชนิดต่างๆ	44
6 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนทางสถิติของจำนวนสปอร์ของ เชื้อรา <u>Aspergillus flavus</u> หลังการคลุกเมล็ดถั่วลิสงด้วย สารสกัดจากโป๊ยกั๊ก	45

คำนำ

จากพระราชบัญญัติยา พ.ศ. 2522 "สมุนไพร หมายถึง ยาที่ได้จากพฤกษชาติ สัตว์และแร่ธาตุ ซึ่งยังมิได้ผสมปรุงและแปรสภาพ" ในปัจจุบันเราจะสังเกตเห็นประโยชน์ของสมุนไพรนอกเหนือไปจากการนำมาใช้ทำยารักษาโรคอย่างสมัยก่อนๆ โดยมีแนวความคิดการใช้สมุนไพรแบบวิทยาศาสตร์ อาทิเช่น การค้นคว้าหาพืชสมุนไพรที่มีประสิทธิภาพในการฆ่าจุลินทรีย์ หรือนำมาใช้ใ้ใจการป้องกันกำจัดศัตรูพืชต่างๆ

ปัญหาโรคติดต่อทางเมล็ดพันธุ์ถั่วลิสงที่สำคัญในปัจจุบัน จะเห็นว่า เกิดจากเชื้อราโดยเฉพาะเชื้อราในสกุล Aspergillus flavus ซึ่งผลิตสารพิษ aflatoxin ซึ่งมักพบปะปนอยู่ในผลิตผลและผลิตภัณฑ์แปรรูปของถั่วลิสง มีผลทำให้เกิดความเสียหาย คุณภาพเลวลง และยังก่อให้เกิดอันตรายต่อคน สัตว์ที่บริโภคเข้าไป สำหรับการควบคุมเชื้อราสาเหตุดังกล่าว เกษตรกรนิยมใช้กันอยู่ได้แก่ การใช้สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา (fungicides) ซึ่งมีผลให้เกิดพิษตกค้างแก่สภาพแวดล้อม และอันตรายต่อเกษตรกรผู้ใช้และผู้บริโภค จึงมีงานวิจัยที่พยายามลดและแก้ไขปัญหาดังกล่าว โดยการนำพืชสมุนไพรมาใช้ทดแทนเพื่อลดปริมาณสารพิษตกค้าง ปลอดภัยต่อผู้บริโภค ดังนั้นการนำสมุนไพรมาทำการศึกษาค้นคว้าเพื่อยับยั้งการการเจริญเติบโตของเชื้อราอันเป็นสาเหตุก่อให้เกิดสารพิษในผลิตผลทางการเกษตร จึงมีความสำคัญเพื่อเป็นแนวทางในการป้องกันและกำจัดโรคพืชอย่างมีประสิทธิภาพต่อไป

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาการแยกเชื้อรา Aspergillus flavus ที่ติดต่อกับเมล็ดพันธุ์ถั่วลิสง
2. เพื่อศึกษาการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา A. flavus ซึ่งเป็นสาเหตุก่อให้เกิดสารพิษ aflatoxin ในเมล็ดพันธุ์ถั่วลิสงด้วยสารสกัดจากพืชสมุนไพร
3. เพื่อศึกษาวิธีการสกัดสารจากพืชสมุนไพรที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อรา A. flavus ซึ่งเป็นสาเหตุก่อให้เกิดสารพิษ aflatoxin ในเมล็ดพันธุ์ถั่วลิสง

การตรวจเอกสาร

สารพิษแอฟลาทอกซิน (Aflatoxin) ได้ถูกค้นพบเมื่อปี ค.ศ.1960 โดยทำให้ไก่วงตายนับแสนตัว ซึ่งได้เข้าใจว่าเกิดจากเชื้อโรคตัวใหม่ จึงตั้งชื่อว่า Turkey X-disease โดยปะปนอยู่กับอาหาร ต่อมาได้มีการศึกษาพบว่าส่วนผสมของอาหารสัตว์ส่วนใหญ่จะประกอบด้วยข้าวโพดและกากถั่วลิสงเป็นหลัก ซึ่งเมล็ดพืชเหล่านี้เหมาะแก่การเจริญเติบโตของเชื้อราโดยเฉพาะเชื้อราในกลุ่ม Aspergillus flavus และ Aspergillus parasiticus (Stoloff, 1977) เชื้อราที่อยู่ในกลุ่มนี้จะสร้างสารพิษ (mycotoxin) ที่ชื่อว่า แอฟลาทอกซิน อันตรายและความร้ายแรงของสารพิษนี้มีมากมายนับประการต่อมนุษย์และสัตว์ เช่น เป็นสารก่อมะเร็งที่ตับ(ชนิกา, 2531 และ Keen 1971) โดยแอฟลาทอกซินที่พบมากเป็นหลัก คือ แอฟลาทอกซิน-B₁, B₂, G₁ และ G₂ โดยที่แอฟลาทอกซิน B₁ จะเป็นพิษมากที่สุด (Makkar และ Singh, 1991) สารพิษดังกล่าวอยู่ในกลุ่ม difranocoumarin จัดเป็น secondary metabolites ซึ่งถูกสร้างขึ้นโดยพวก mycotoxin producing fungi ตัวอักษร B และ G ของชนิดแอฟลาทอกซินย่อมาจากคำว่า Blue และ Green ตามสีของการเรืองแสงภายใต้แสงอุลตราไวโอเล็ตช่วงคลื่นยาว ความแตกต่างทางชีวเคมีของสารพิษ 4 ชนิดนี้เนื่องมาจากความแตกต่างทางโครงสร้างเคมี คือ aflatoxin B₁, G₁ มี double bond ที่ ring ที่ 1 ส่วนสารพิษ aflatoxin B₂, G₂ ไม่มี และกลุ่มสารพิษ B จะแตกต่างจากกลุ่ม G โดยการที่มี lactone group ใน ring ที่ 5 ของกลุ่ม G (Davis และ Diener, 1983)

เชื้อราที่ผลิต aflatoxin สามารถพบได้ทั้งในแปลงปลูก และในระหว่างการเก็บรักษาตั้งแต่เก็บเกี่ยว ปัจจัยที่พบว่ามีผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อและการผลิต aflatoxin มากที่สุด คือความชื้นและอุณหภูมิ ฉะนั้นการป้องกันกำจัดเชื้อราและสารพิษนี้ควรยึดหลัก drying และ cooling เมล็ด นอกจากนี้ยังมีปัจจัยอื่น ๆ อีกที่เกี่ยวข้อง ได้แก่ ปริมาณก๊าซออกซิเจนและก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ลักษณะของเมล็ดซึ่งอาจเสียหายเนื่องจากปัจจัยทางกายภาพและชีวภาพ เช่น การทำลายของแมลง ระดับการปนเปื้อนของเชื้อในระยะเริ่มแรก และลักษณะทางพันธุกรรมที่แตกต่างกันในถั่วลิสง (Sauer, 1986) เป็นที่ทราบกันดีว่า ขั้นตอนการพิสูจน์การปนเปื้อนของสารพิษในผลิตผลทางการเกษตรเป็นเรื่องที่ยุ่งยากและสลับซับซ้อนและมีราคาแพง ดังนั้นในช่วงปี 2520 เป็นต้นมา จึงมีกลุ่มวิจัยพยายามหาวัสดุทางและวิธีการที่มีประสิทธิภาพมาใช้ เช่น ศรีลิขิต และคณะ (2526) ได้เสนอวิธี minicolumn ที่ง่ายและประหยัด

และมีความแม่นยำ คือสามารถบอกปริมาณสารพิษได้ต่ำถึง 10 ppb ซึ่งเรื่องนี้ อรพิน (2527) ได้สนับสนุนว่า ถ้ามีการตัดแปลงโดยใช้เป็นขั้นที่ทราบปริมาตรละลายสารก่อนผ่าน minicolumn จะสามารถบอกความเข้มข้นของสารพิษได้ต่ำถึง 2 ppb บางคณะอาจใช้เครื่องมือที่ผลิตมาโดยเฉพาะเพื่อบอกปริมาณสารพิษ เช่น กิพส์วอร์ธและชรัมสกี (2531) รายงานว่าการใช้เครื่อง Velasco Toxin Meter ซึ่งมีจุดด้อยเพราะมีช่วงการวัดตั้งแต่ 0-50 ppb เท่านั้น แต่ทำได้รวดเร็วและค่าใช้จ่ายต่ำ

ในปี 1992 Richard และคณะ ได้ทำการประเมินการผลิตสาร aflatoxin และกรด cyclopiazonic ของเชื้อรา Aspergillus flavus สายพันธุ์จากประเทศอังกฤษ 32 isolates จากหลายๆ แหล่งในประเทศ พบว่าสายพันธุ์ดังกล่าวมีโครงสร้างที่เหมือนกันโดยมีค่า Variants ที่ผิดปกติ 3 ค่า ถูกยอมรับเป็น A. flavus โดยการเปรียบเทียบ DNA ของ isolates ทั้งหมดกับเชื้อรา พบว่า isolate ทั้งหมดไม่มีสายพันธุ์ใดที่ผลิต aflatoxin โดยการทดสอบบน coconut agar หรือในการปลูกเชื้อบน rice medium และ culture extracts โดยให้ thin layer chromatography ทดสอบ จะเห็นว่า isolate ดังกล่าวขาดความสามารถในการผลิต aflatoxin และ กรด cyclopiazonic จึงควรมานำศึกษาเกี่ยวกับการควบคุมโดยชีววิธีต่อไป นอกจากนี้ยังได้มีการศึกษาในการตรวจสอบสารพิษโดยวิธี Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) ซึ่งมีราคาต่ำและสามารถทราบถึงการปนเปื้อนของ aflatoxin ในการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ถั่วลิสงของเกษตรกร (Cole และคณะ, 1991) และได้ศึกษาถึง genotype ของเมล็ดพันธุ์ถั่วลิสงต้านทานต่อการเจริญของเชื้อรา A. flavus และมีการผลิต aflatoxin ลดน้อยลง (Ghewande และคณะ, 1993)

การสุ่มเมล็ดเพื่อนำมาวิเคราะห์ปริมาณสารพิษ aflatoxin ควรใช้วิธีการสุ่มที่เหมาะสม ไม่มีการลำเอียง ไม่ว่าเมล็ดนั้นจะปกติหรือมีการเจริญเติบโตของเชื้อหรือแมลงเข้าทำลายแล้วก็ตาม การสุ่มควรสุ่มหลายๆ ซ้ำ เพราะสาร aflatoxin ในแต่ละเมล็ดจะแตกต่างกัน ตัวอย่างที่สุ่มมาควรเป็นตัวแทนที่ดีของประชากรทั้งหมด เพราะ sub-sampling error และ analysis error มีผลทำให้การตรวจสอบสารพิษแตกต่างกันอย่างเห็นได้ชัด (Dickens, 1986)

ปัจจุบันสารพิษแอฟลาทอกซินเป็นภัยที่มนุษย์ได้ค้นตัวกันมากเนื่องจากเมื่อเกิดการปะปนของสารแอฟลาทอกซินขึ้นในผลผลิตเกษตรใดก็ตาม จะก่อให้เกิดความสูญเสียอย่างมากเพราะนอกจากจะทำให้ผลผลิตถูกทำลายเสียหายและมีคุณภาพเลวลงแล้ว ยังก่อให้เกิดอันตรายต่อมนุษย์และสัตว์ที่บริโภคเข้าไป

โดยอาการที่พบมีทั้งเจ็บพ่นและเรื้อรัง ถ้าสัตว์เลี้ยงกินสารพิษนี้เข้าไปจะทำให้กระแทรน น้ำหนักตัว นานนมหรือไขลดลง ตับอักเสบและอาจเกิดมะเร็งในตับ สำหรับในเด็กถ้ากินเข้าไปมากๆจะเกินอาการชัก มีไข้และช็อคตายได้ นอกจากนี้ยังเป็นสารพิษที่ทำให้เกิดการกลายพันธุ์และเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดมะเร็งที่ ร้ายแรงที่สุดสารหนึ่ง สารพิษชนิดนี้นอกจากจะเป็นอันตรายต่อมนุษย์และสัตว์แล้วยังเป็นปัญหาสำคัญของ การส่งออกผลิตผลทางการเกษตร ทั้งนี้สารพิษมักพบปะปนอยู่ในผลิตผลและผลิตภัณฑ์แปรรูปหลายชนิดซึ่ง บางครั้งเห็นเชื้อราเจริญอยู่บนผลผลิตแต่เมื่อนำมาวิเคราะห์กลับไม่พบสารพิษเพราะเชื้อราที่เจริญอยู่ไม่ ใช่นิวหรือสายพันธุ์ที่สร้างแอลฟลาทอกซิน ในขณะที่บางครั้งไม่เห็นเชื้อราเจริญอยู่แต่กลับตรวจพบแอลฟลา ทอกซินที่เป็นเช่นนั้นเนื่องจากเชื้อราได้เคยเจริญบนผลผลิตนั้น ต่อมาภายหลังเชื้อราได้ถูกทำลายหรือตาย ไปแต่สารพิษที่เชื้อราสร้างยังคงอยู่ในผลผลิต เพราะสารพิษแอลฟลาทอกซินเมื่อเกิดขึ้นแล้วยากที่จะกำ - ลายให้หมดไปได้เพราะสารพิษชนิดนี้ทนต่อความร้อนและทนกรดได้ดี (ภวนาถ, 2531) ผลิตผลทางการ เกษตรที่ได้รับความเสียหายจากสารแอลฟลาทอกซินในระดับสูงและทำให้เกิดความตื่นตัวของประชาชนผู้ บริโภค ยกตัวอย่างเช่น ถั่วลิสง สาเหตุที่ทำให้เกิดเชื้อราที่สำคัญคือความชื้น เช่นเมล็ดของถั่วลิสงมีความ ชื้น 15-30 % และอยู่ในสภาพความชื้นสัมพัทธ์ 87-98 % จะเหมาะแก่การเจริญและการเข้าทำลาย ของเชื้อราสาเหตุเชื้อราสามารถเจริญในช่วงอุณหภูมิกว้าง คือ ตั้งแต่ 6-8 ถึง 44-46 องศาเซลเซียส และจะผลิต aflatoxin ระหว่าง 13-41 องศาเซลเซียส และที่ 28 องศาเซลเซียสจะเหมาะ สมในการสร้างสารพิษมากที่สุด (Diener และ Davis, 1969)

วรศักดิ์และคณะ(2532)กล่าวว่า ทางองค์การ FDA (Food and Drug Administration) ได้ กำหนดมาตรฐานสารแอลฟลาทอกซินบนถั่วลิสงที่ 20 ppb เพื่อให้เกิดความปลอดภัยดังนั้นการควบคุมปริมาณ สารพิษให้อยู่ในมาตรฐานเป็นสิ่งสำคัญมาก และได้เสนอว่าในการควบคุมสารพิษแอลฟลาทอกซินสิ่งที่จำเป็น คือการคอยหมั่นตรวจสอบหาปริมาณสารพิษในอาหารมนุษย์และสัตว์อยู่เสมอ ปัจจุบันวิธีการป้องกันกำจัดสาร พิษที่ภาครัฐบาลได้ส่งเสริมให้เกษตรกรผู้ผลิตได้ปฏิบัติ จะเริ่มตั้งแต่การป้องกันในไร่แรกก่อนเก็บเกี่ยว วิธี การเก็บเกี่ยว การทำให้แห้งซึ่งเป็นที่ทราบกันว่าแสงแดดช่วยทำลายการปะปนของสารพิษแอลฟลาทอกซิน ได้และนอกจากวิธีการเหล่านี้แล้วได้มีวิธีการที่นำสารสกัดจากสมุนไพรซึ่งหาได้ง่ายในประเทศมาช่วยป้องกัน กำจัดเชื้อราที่เป็นสาเหตุทำให้เกิดสารแอลฟลาทอกซิน เป็นอีกวิธีการที่มีการศึกษากันเพิ่มมากขึ้นโดย เฉพาะในประเทศไทยเราซึ่งมีสมุนไพรอยู่มากมายที่สามารถนำมาใช้ให้เกิดประโยชน์ บัญญัติ (2527ก) ได้- ทำการศึกษารวบรวมสมุนไพรที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อรา โดยเฉพาะเชื้อราในกลุ่ม Aspergillus

ซึ่งเป็นชนิดหรือสายพันธุ์ที่สามารถสร้างสารแอฟลาทอกซินได้มีสมุนไพร อาทิเช่น กานพลู พืชในตระกูลไมร์ตาซีอี (Myrtaceae) Eugenia aromatica Baill โดยใช้น้ำมันหอมระเหยเป็นส่วนสำคัญในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์และรักษาโรคต่าง ๆ สำหรับส่วนของกานพลูที่นำมาสกัดน้ำมันหอมระเหยโดยทั่วไปจะนำมาจากดอก พริกไทยพืชในตระกูลไปเปอราซีอี (Piperaceae) Piper nigrum Linn. มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ดีกว่าจุลินทรีย์อื่น ๆ

บัญญัติ (2527ท) รายงานว่ากระเพราพืชตระกูลลาเบียตี (Labiatae) Ocimum Sanctum L. โดยใช้น้ำมันหอมระเหยเป็นตัวยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ต่างๆ และนอกจากนี้ยังกระตุ้นการเจริญของเส้นใยและการสร้างสปอร์ของแอสเพอร์จิลัส กล่าวคือ ถ้าความเข้มข้นต่ำ ๆ จะยับยั้งการเจริญ แต่ถ้าความเข้มข้นสูง ๆ จะยับยั้งการสร้างสปอร์ได้มากกว่าการเจริญของเส้นใย ตะไคร้พืชในตระกูลกรามีนี (Gramineae) Cymbopogon Citratus (DC) Stapf. มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ดีกว่าแบคทีเรีย โดยใช้น้ำมันหอมระเหย อบเชยพืชในตระกูลอราซีอี (Lauraceae) Cinnamomum zeylinicum Breyne สามารถลดความเป็นพิษของสารแอฟลาทอกซิน ทั้ง 4 ชนิด คือ B₁, B₂, G₁ และ G₂ ได้ หรือใช้อบเชยผสมใน raisin bread จะป้องกันการเจริญและการสร้างแอฟลาทอกซินของ A. paraciticus. หรือใช้อบเชยเข้มข้น 20 % จะยับยั้งการเจริญของเส้นใยและการสร้างแอฟลาทอกซินของเชื้อรา A. paraciticus ได้อย่างค่อนข้างสมบูรณ์ และสารซินนามิคอัลดีไฮด์ สารสำคัญที่พบในน้ำมันหอมระเหยของอบเชยความเข้มข้น 37.5 % จะยับยั้งการเจริญของ A. niger ได้

Singh และคณะ (1991) ได้ทำการควบคุมโรคราแป้ง (Powdery mildew) ของถั่วโดยใช้สารสกัดจากขิงสดๆ และสารสกัดที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 5 และ 15 องศาเซลเซียส ที่ระดับความเข้มข้น 10000, 15000 และ 20000 ppm พบว่าที่ความเข้มข้นสูงสุดของสารสกัดขิงสดๆ ให้ผลดีที่สุด

ดังที่กล่าวไว้ข้างต้นแล้วว่าสมุนไพรในประเทศไทยมีมากมาย การเลือกใช้สมุนไพรโดยเฉพาะในด้านการเกษตร จะต้องคำนึงถึงผลกระทบในหลาย ๆ ด้านจึงจำเป็นต้องมีการศึกษาวิจัยสมุนไพรเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ เกษม (2528) ได้ทำการทดสอบสารสกัดจากพืชสมุนไพรพบว่า สารสกัดจากโป๊ยเซียนที่ได้จากการสกัดด้วยแอลกอฮอล์ในอาหาร PDA ที่ระดับความเข้มข้น 3,000 ppm และ 6,000 ppm สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา Drechslera maydis โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 88.41 และสำหรับสะเดา ข่าและตะไคร้หอมก็เป็นสมุนไพรที่น่าจับตามองในปัจจุบันเนื่องจากการศึกษาค้นคว้า

และนำมาใช้ประโยชน์ในด้านต่างๆ ได้อย่างกว้างขวาง เชาว์ (2535) ได้ทำการศึกษาและรายงานเกี่ยวกับพืชสมุนไพรดังต่อไปนี้ สะเดา (Neem) พืชในวงศ์ meliaceae สกุล Azadirachta เป็นพืชที่ใช้ประโยชน์เริ่มตั้งแต่เป็นสารป้องกันกำจัดแมลง สารคุมกำเนิด แก้กโรคเบาหวาน สารฆ่าไส้เดือนฝอย และสารฆ่าเชื้อรา สารสกัดจากสะเดามี 2 รูป คือ สารสกัดน้ำมัน และสารสกัดทั่วไป สารออกฤทธิ์ที่สำคัญ คือ Azadirachtin สำหรับ ข่า (Galanga) Alpinia galanga Swartz. มีคุณสมบัติคล้ายๆ กับสะเดา แต่จะต้องใช้หัวข่าสดและแก่เท่านั้น และ ตะไคร้หอม (Citronela grass) Cymbopson nardus มีคุณสมบัติในการขับไล่และดับกลิ่นสมุนไพรชนิดอื่นๆ สามารถใช้ได้ทุกส่วน (ใช้สดๆ) ซึ่งจากคุณสมบัติเหล่านี้จึงคาดว่าจะสามารถนำสมุนไพรดังกล่าวมาใช้ในการยับยั้งและป้องกันกำจัดเชื้อราสาเหตุโรคพืชได้

อุปกรณ์และวิธีการ

ทำการทดลองที่ห้องปฏิบัติการราวิทยา ภาควิชาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ ช่วงเวลาที่ทำการทดลองระหว่างเดือนมิถุนายน พ.ศ. 2536 ถึงเดือนมีนาคม 2537 ได้แบ่งการศึกษาออกเป็น 3 ขั้นตอนดังต่อไปนี้

1. ทำการแยกเชื้อราจากเมล็ดถั่วลิสง

แยกเชื้อราจากเมล็ดถั่วลิสงสายพันธุ์ไทนาน 9 โดยทำการฆ่าเชื้อบริเวณพื้นผิวเมล็ดด้วย clorox 10 % เป็นเวลา 1 นาที แล้วนำไปล้างด้วยน้ำกลั่นฆ่าเชื้อแล้ว ทิ้งไว้ให้แห้งแล้วนำมาวางบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA (Potato Dextrose Agar) + NaCl 0.1 % บ่มจานอาหารเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 48 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส สังเกตโคโลนีเชื้อราที่เจริญบนเมล็ดถั่วลิสง แล้วย้ายเชื้อราที่พบลงจานอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ทำการแยกจนเป็นเชื้อบริสุทธิ์ เมื่อได้เชื้อบริสุทธิ์แล้วให้ย้ายเชื้อราลงในหลอดอาหารเอียง (Slant) PDA จำนวน 2 หลอด โดยหลอดหนึ่งเมื่อเชื้อราเจริญเต็มที่แล้วให้ใส่ mineral oil ที่ฆ่าเชื้อแล้วลงไปในหลอดให้เห็นระดับ culture ของเชื้อราประมาณ 1 ซม. และเก็บรักษาไว้ต่อไป ส่วนอีก Slant หนึ่ง เก็บไว้ใช้ในการศึกษาต่อไป ตรวจสอบราที่แยกได้ว่าเป็นรา Aspergillus flavus และทำการถ่ายภาพลักษณะสำคัญของเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์และเขียนอธิบาย description ของเชื้อรา

2. การศึกษาประสิทธิภาพของพืชสมุนไพร สะเดา ข่า ตะไคร้หอมและโป๊ยเซียนที่มีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราที่ติดต่อกับเมล็ดพันธุ์ถั่วลิสง

ทำการศึกษาประสิทธิภาพของพืชสมุนไพร สะเดา ข่า ตะไคร้หอมและโป๊ยเซียน (ภาพที่ 1) ที่มีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา Aspergillus flavus Link.

พืชสมุนไพรที่ใช้ในการทดลองมีทั้งหมด 4 ชนิด ดังนี้

1. สะเดา (Neem), Azadirachta spp. ใช้เมล็ด
2. ข่า (Galanga), Alpina galanga Seartz. ใช้ส่วนเหง้า

3. ตะไคร้หอม (citronela) Cymbopogon nardus Rendle. ใช้ทุกส่วน คือ ใบ ต้น และราก

4. โป๊ยกั๊ก (Star anise) Illicium verum Hook f. ใช้ส่วนผลและเมล็ด

การเตรียม inoculum ของเชื้อราและการปลูกเชื้อราบนอาหารที่ผสมผงพืชสมุนไพร

เตรียม inoculum ของเชื้อราที่จะใช้ทดสอบจากเชื้อราที่เจริญในหลอดอาหารที่ได้จาก ข้อ 1 ลงเลี้ยงบนอาหาร PDA ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีอาหาร 25 มล./plate ที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส เมื่อเชื้อราสร้างโคโลนีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 6 ซม. ให้ cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.70 ซม. ตัดเส้นใยบริเวณของโคโลนีของเชื้อราพร้อมทั้งวุ้นอาหารเป็นชิ้นกลม แล้วจึงใช้เข็มเขี่ยชิ้นวุ้นไปปลูกเชื้อราลงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีอาหาร PDA ที่มีผงพืชสมุนไพรผสมอยู่ด้วยต่อไป

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อรา PDA ผสมผงพืชสมุนไพร

เตรียมอาหาร PDA ให้มีผงพืชสมุนไพรผสมในอัตราความเข้มข้น 0 (control), 10000, 20000, 30000, 40000 และ 50000 ppm โดยซึ่งตัวอย่างพืชสมุนไพรแต่ละชนิดที่บดละเอียดแล้ว ได้แก่ สะเดา ข่า ตะไคร้หอม และโป๊ยกั๊ก ให้ได้น้ำหนัก 1, 2, 3, 4 และ 5 กรัม แล้วนำไปใส่ลงในขวดอาหารเลี้ยงเชื้อแต่ละขวด เตรียมอาหาร PDA จาก น้ำต้มมันฝรั่ง 200 กรัม, dextrose 20 กรัมและวุ้นผง 25 กรัม ต่อน้ำกลั่น 1000 มล. นำอาหารที่เตรียมได้ขณะยังร้อนเทใส่ขวดอาหารแต่ละขวดมีผงสมุนไพร 1, 2, 3, 4 และ 5 กรัมตามลำดับ ให้แต่ละขวดมีปริมาตรครบ 100 มล. เขย่าให้เข้ากันแล้วนำขวดอาหารเลี้ยงเชื้อดังกล่าวไปนึ่งฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันที่ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที ทิ้งไว้จนอุณหภูมิลดลงเหลือ 45-50 องศาเซลเซียส จึงนำอาหารมาเทใส่จานเลี้ยงเชื้อ (Plate) ทำการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design จำนวน 4 ซ้ำ ในแต่ละความเข้มข้นเพื่อใช้ปลูกเชื้อราที่ต้องการทดสอบการเจริญเติบโตบนอาหารต่อไป

การตรวจและบันทึกผลการทดลอง

วัดการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อราที่เจริญบนอาหาร PDA ผสมผงพืชสมุนไพรในจานทดลอง โดยวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีที่เจริญในแนวราบ 2 ครั้ง ในแนวตั้งฉากกันแล้วนำมาหาค่าเฉลี่ยและ

ทำการวัดครั้งสุดท้ายเมื่อโคโลนีเชื้อราที่ระดับความเข้มข้น 0 ppm (control) เจริญเกือบเต็มจานเลี้ยงเชื้อแล้วคำนวณหาความเข้มข้นของสปอร์ในแต่ละชนิดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา 50 % (ED_{50}) จากกราฟจากการใช้ค่า Probit ของเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตและค่า log ของความเข้มข้นของสปอร์แต่ละชนิดเป็นหลักในการ plot สำหรับค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งคำนวณได้จากสูตร $ED_{50} = \frac{\text{ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อราบนอาหาร PDA ที่ไม่ผสมผงสปอร์ (0 ppm)} - \text{ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อราบนอาหาร PDA ผสมผงสปอร์}}{\text{ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อราที่ไม่ได้ผสมผงสปอร์ (0 ppm)}} \times 100$

3. การทดสอบการใช้สารสกัดจากพืชสมุนไพรเพื่อเป็นแนวทางในการป้องกันกำจัดเชื้อราที่ติดต่อกางเมล็ดพันธุ์ถั่วลิสง

นำพืชสมุนไพรที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราที่ได้ผลดีที่สุดในเรื่อง 2 มาทำการสกัดอย่างหยาบ (crude extraction) ดังนี้ วิธีใช้แอลกอฮอล์ 95 % โดยนำผงสมุนไพรจำนวน 450 กรัมผสมกับแอลกอฮอล์ 95 % ปริมาณ 1000 มล. นำไปวางในหม้ออังไอน้ำ (water bath) ความคมอุณหภูมิที่ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที แล้วจึงกรองเอาส่วนที่เป็นกากออก นำส่วน filtrate ไปทำการระเหยให้แห้งโดยนำเข้าไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นำไปซึ่งหน้าหนักของสารที่สกัดได้ จากนั้นละลายสารสกัดแห้งด้วยน้ำกลั่น 50 มล. โดยใช้ความร้อนส่วนในหม้ออังไอน้ำที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส แล้วเก็บไว้ในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ 10 องศาเซลเซียส เพื่อนำไปใช้ในการทดลองต่อไป และสำหรับวิธีการต้มในน้ำร้อน (decoction) ตามวิธีของเกษม (2528) ทำโดยนำผงสมุนไพรในอัตรา 45 กรัมต่อน้ำกลั่น 450 มล. ใส่ลงในปิกเกอร์ขนาด 500 มล. นำไปวางในหม้ออังไอน้ำ (water bath) โดยควบคุมอุณหภูมิไว้ที่ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ทำการกรองปรับ filtrate ให้ได้ 450 มล. ด้วยน้ำกลั่น นำไปเก็บในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ 10 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

คำนวณหาปริมาณของสารสกัดที่ได้โดยนำสารสกัด 10 มล. ใส่ใน aluminium foil ซึ่งพับเป็นรูปถ้วย แล้วนำไปเข้าตู้อบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เพื่อระเหยน้ำออกจนแห้งสนิท ทำ 10 ซ้ำ นำไปซึ่งหน้าหนักคำนวณหาหน้าหนักแห้งของสารสกัดที่ได้

แล้วนำสารสกัดที่เตรียมจากแต่ละวิธีที่ระดับความเข้มข้น 0, 1000, 3000, 5000 และ 10000

ppm เปรียบเทียบกับการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา (Captan) ไปทำการทดสอบโดยทำการทดลองแบบ 2 factors factorial experiment in Completely Randomized Design (CRD) จำนวน 4 ซ้ำ โดยคลุกเมล็ดถั่วลิสงด้วยสารสกัดจากสมุนไพรดังต่อไปนี้

ทำการปลูกเชื้อราที่แยกได้จาก ข้อ 1 ลงในเมล็ดถั่วลิสงแต่ละ treatment ซึ่งมีประมาณ 3 กรัม โดยฆ่าเชื้อบริเวณพื้นผิวเมล็ดด้วย Sodium Hypochlorite 10 % เป็นเวลา 1 นาที นำไปใส่ใน flask ขนาด 125 มล. แล้วปลูกเชื้อราซึ่งอยู่ในรูปสารแขวนลอย (spore suspension) โดยนับจำนวนสปอร์ของเชื้อราด้วยเครื่องนับจำนวนสปอร์ (Heamacytometer) ในอัตรา 5 แสนสปอร์ต่อมิลลิลิตร จำนวน 10 มล. โดยคลุกเคล้าสปอร์แขวนลอยของเชื้อราสาเหตุให้จับทั่วเมล็ด ทั้งไว้ประมาณ 1 วัน แล้วจึงนำเมล็ดไปคลุกสารสกัดจากพืชสมุนไพรที่สกัดด้วยน้ำร้อนและแอลกอฮอล์ เปรียบเทียบกับการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา Captan (1000 ppm) และไม่ใช้สารเคมี (0 ppm) บ่มไว้ในอุณหภูมิห้อง (27-30 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 20-30 วัน แล้ววัดผลการยับยั้งการเจริญเติบโตโดยนับจำนวนสปอร์ของเชื้อราในแต่ละ treatment คำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง = จำนวนสปอร์ของเชื้อราที่ไม่ได้คลุกสารสกัดพืชสมุนไพร (0 ppm) - จำนวนสปอร์ของเชื้อราที่คลุกสารสกัดพืชสมุนไพร / จำนวนสปอร์ของเชื้อราที่ไม่ได้คลุกสารสกัดพืชสมุนไพร (0 ppm) x100

ผลการทดลอง

1. การแยกเชื้อราจากเมล็ดพันธุ์ถั่วลิสง

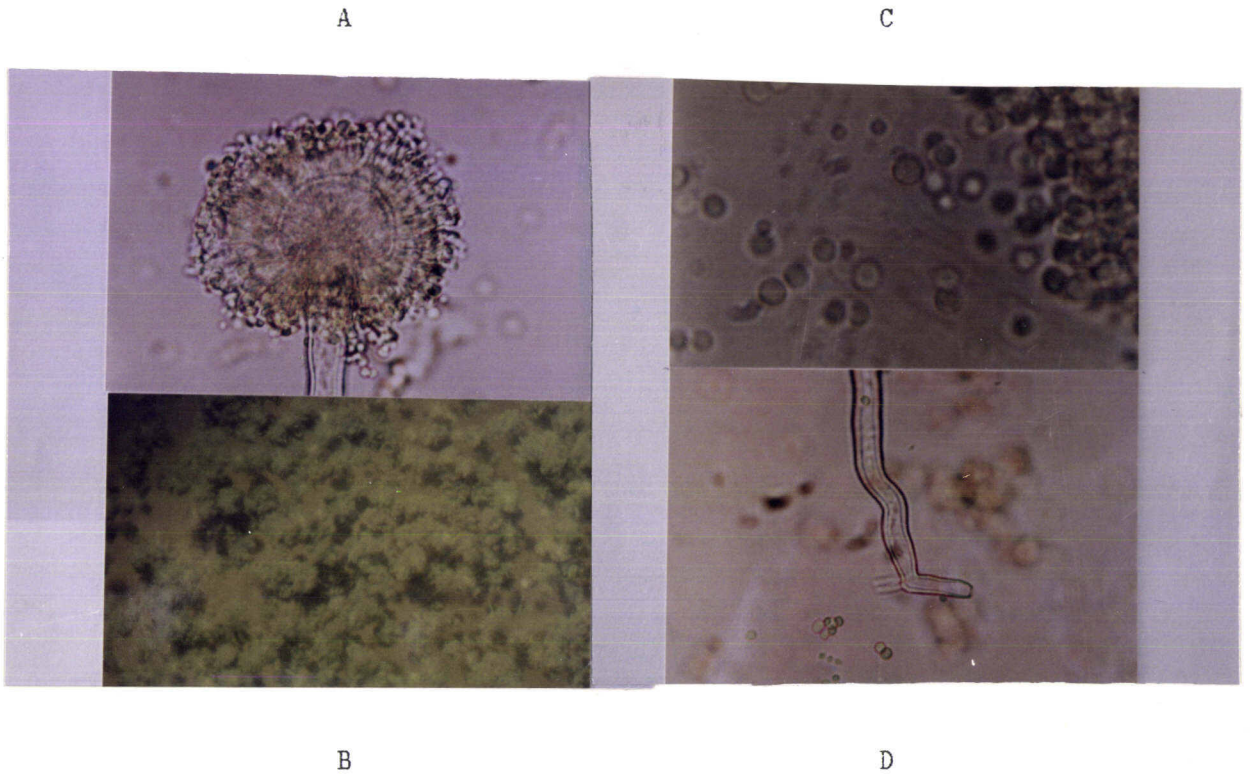
สามารถแยกเชื้อรา Aspergillus flavus Link. จากเมล็ดถั่วลิสงพันธุ์ไทนาน 9 ได้
ซึ่งมีรายละเอียดดังนี้

Division Amastigomycota
Sub-division Deuteromycotina
Form Class Deuteromycetes
Form Order Moniliales
Form Family Moniliaceae
Form Genus Aspergillus
Specie flavus

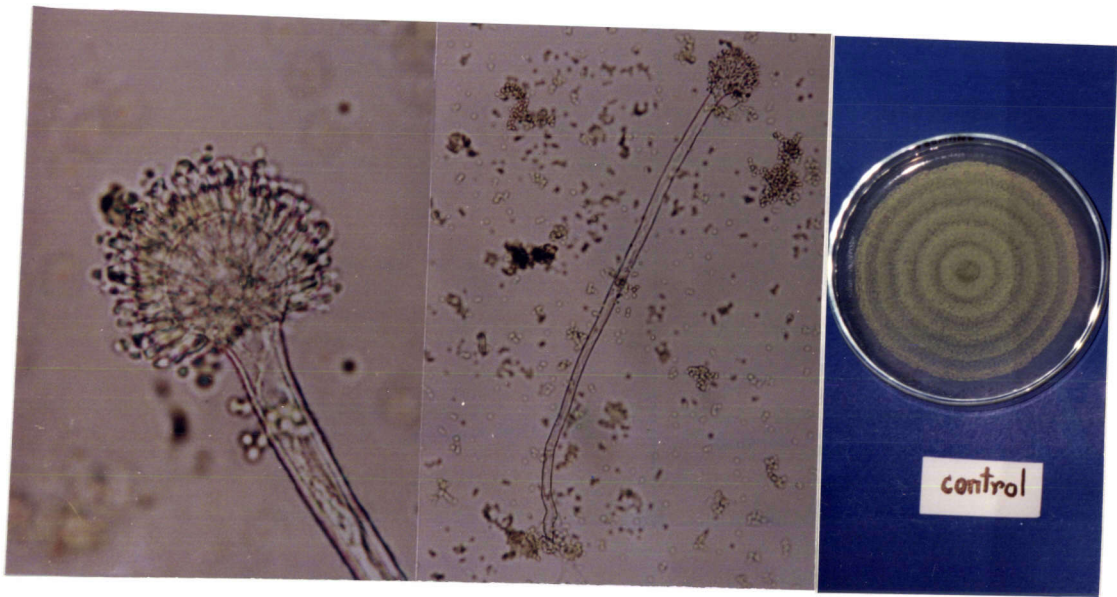
ลักษณะโคโลนีของเชื้อรา Aspergillus flavus เมื่อเจริญบนอาหาร PDA จะมีสีเขียวถึง
เหลือง ที่ผิวหน้ามี conidial head เป็นแบบ radiate สีเขียวปนเหลืองเกิดขึ้นอย่างหนาแน่น
ใต้โคโลนีของเชื้อราไม่มีสี มีการสร้าง sclerotium สีน้ำตาลเข้มจนเกือบดำ รูปร่างกลมหรือค่อนข้าง
ข้างกลม ขนาดประมาณ 1.00 มิลลิเมตร เมื่อตรวจโครงสร้างภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่า มี
sterigma 2 ชั้น เส้นผ่าศูนย์กลางของ vesicle มีขนาด 20-60 ไมครอน รูปร่างค่อนข้างกลม
ส่วนของ phialophore ส่วนใหญ่ยาวประมาณ 700-800 ไมครอน ไม่มีสี มี foot cell
phialospore มีรูปร่างกลมผนังขรุขระสีเขียวอ่อน ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 3.5-4.5 ไมครอน (ภาพที่
2 และ 3)



ภาพที่ 1 แสดงลักษณะของสמןไพโรทั้ง 4 ชนิด คือ สะเดา ช่า ตะไคร้หอมและโป๊ยกั๊ก
ตามลำดับ (จากซ้ายไปขวา)



ภาพที่ 2 แสดงลักษณะเชื้อรา Aspergillus flavus A แสดง vesicle(400x),
B แสดงลักษณะของ thalli ภายใต้กล้อง stereomicroscope (40x),
C=แสดง phialospore (1000x) และ D=แสดง foot cell (400x)



A

B

C

ภาพที่ 3 แสดงลักษณะของเชื้อรา Aspergillus flavus A แสดง vesicle (400x) , B แสดง thallus (100x) และ C แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อราบนอาหาร PDA อายุ 6 วัน

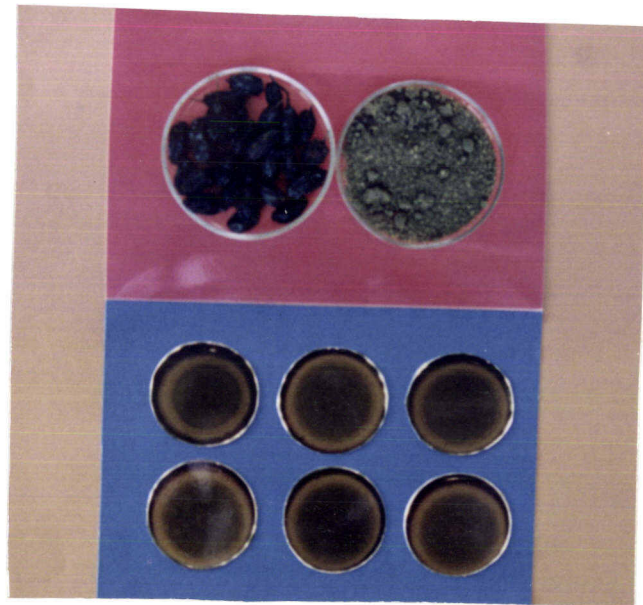
2. ศึกษาประสิทธิภาพของสมุนไพร สะเดา ข่า ตะไคร้หอม และโป๊ยก็กที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา Aspergillus flavus ที่ติดต่อกันเมล็ดพันธุ์ถั่วลิสงสายพันธุ์ไทนาน9

จากการทดสอบประสิทธิภาพของสมุนไพร 4 ชนิด คือ สะเดา ข่า ตะไคร้หอมและโป๊ยก็ก (ภาพที่ 1) ที่มีอิทธิพลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา A. flavus พบว่า โป๊ยก็กที่มีอิทธิพลในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา A. flavus ได้ดีที่สุดอย่างมีนัยสำคัญเชิงทางสถิติ ($P=0.05$) จะเห็นได้ว่าในทุกความเข้มข้นโคโลนีเชื้อราจะเจริญเติบโตได้น้อย มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ย 0.70 ซม. ในขณะที่บนจานอาหาร PDA ไม่ผสมผงโป๊ยก็กมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ย 8.51 ซม. (ตารางที่ 1) สำหรับตะไคร้หอม พบว่า ที่ระดับความเข้มข้น 10000 และ 20000 ppm ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติในขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเชื้อรา A. flavus กล่าวคือมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ยเท่ากับ 8.35 และ 8.31 ซม. ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับไม่ใช้ตะไคร้หอมมีเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ย 8.51 ซม. ในขณะที่ระดับความเข้มข้น 30000, 40000 และ 50000 ppm มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญเชิงทางสถิติในขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อรา กล่าวคือมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี 8.05, 7.53 และ 6.04 ซม. ตามลำดับ (ตารางที่ 2) ส่วนข่า พบว่า ที่ระดับความเข้มข้น 10000 และ 20000 ppm มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญเชิงทางสถิติในขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อรา A. flavus กล่าวคือ มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ยเท่ากับ 7.93 และ 7.67 ซม. ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับไม่ใช้ข่า มีเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ย 8.55 ซม. ในขณะที่ระดับความเข้มข้น 30000, 40000 และ 50000 ppm ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติในขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อรา กล่าวคือ มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 7.56, 7.51 และ 7.47 ซม. ตามลำดับ (ตารางที่ 3) จากการทดสอบในสะเดาพบว่า ที่ระดับความเข้มข้น 0 (control) 10000 และ 20000 ppm ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติในขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อรา A. flavus กล่าวคือ มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ย 8.55, 8.60 และ 8.56 ซม. ตามลำดับ ในขณะที่ระดับความเข้มข้น 30000, 40000 และ 50000 ppm ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติในขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อรา กล่าวคือมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ย 8.42, 8.46 และ 8.29 ซม. ตามลำดับ (ตารางที่ 4)

จากการทดลองพบว่า โป๊ยก็กสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา A. flavus ได้ดีที่สุด

สดอย่างมีนัยสำคัญเชิงทางสถิติ มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 91.79 (ตารางที่ 5) ซึ่งมีค่า ED_{50} ต่ำกว่า 10000 ppm (ตารางที่ 6, ภาพที่ 8) ส่วนสมุนไพรชนิดอื่นๆ สามารถยับยั้งได้เพียงเล็กน้อย โดยตะไคร้หอมมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเฉลี่ย 10.31 มีค่า ED_{50} มากกว่า 100000 ppm ข่ามีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเฉลี่ย 10.54 และสะเดามีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเฉลี่ย 1.12

A



B

ภาพที่ 4 การทดสอบพืชสมุนไพรที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา Aspergillus flavus บนอาหาร PDA ผสมผงสะเดา ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ A = สมุนไพรสะเดา , B = การเจริญของเชื้อราบนอาหาร PDA ผสมผงสะเดาที่ระดับความเข้มข้น 0, 10000, 20000 (บน จากซ้ายไปขวา) 30000, 40000 และ 50000 ppm (ล่าง จากซ้ายไปขวา)

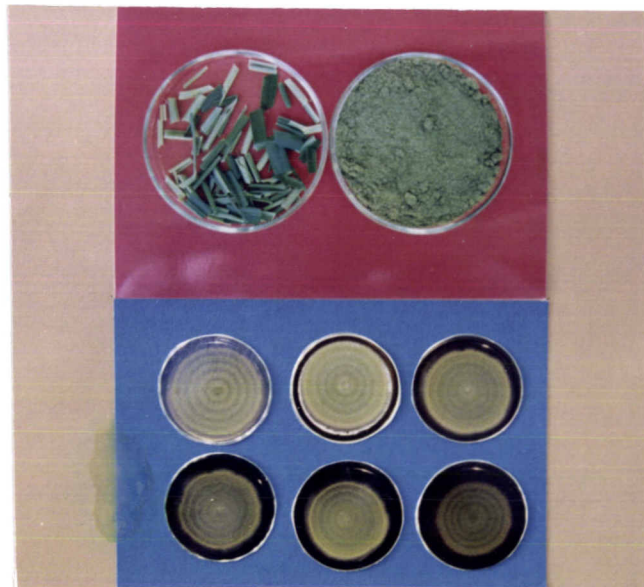
A



B

ภาพที่ 5 การทดสอบพืชสมุนไพรที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา Aspergillus flavus บนอาหาร PDA ผสมผงข้าวที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ A = สมุนไพร : ข้าว , B = การเจริญของเชื้อราบนอาหาร PDA ผสมผงข้าวที่ระดับความเข้มข้น 0, 10000, 20000 (บน จากข้าวสาลีขาว) 30000, 40000 และ 50000 ppm (ล่าง จากข้าวสาลีขาว)

A

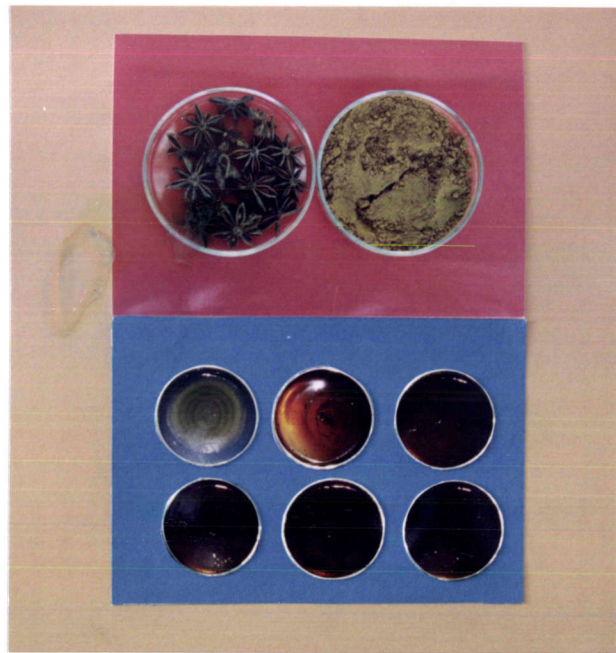


B

ภาพที่ 6 การทดสอบพืชสมุนไพรที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา Aspergillus flavus บนอาหาร PDA ผสมผงตะไคร้หอม ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ A = สมุนไพรตะไคร้หอม , B = การเจริญของเชื้อราบนอาหาร PDA ผสมผงตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้น 0, 10000, 20000 (บน จากข้าวสาลีขาว) 30000, 40000 และ 50000 ppm (ล่าง จากข้าวสาลีขาว)

14414

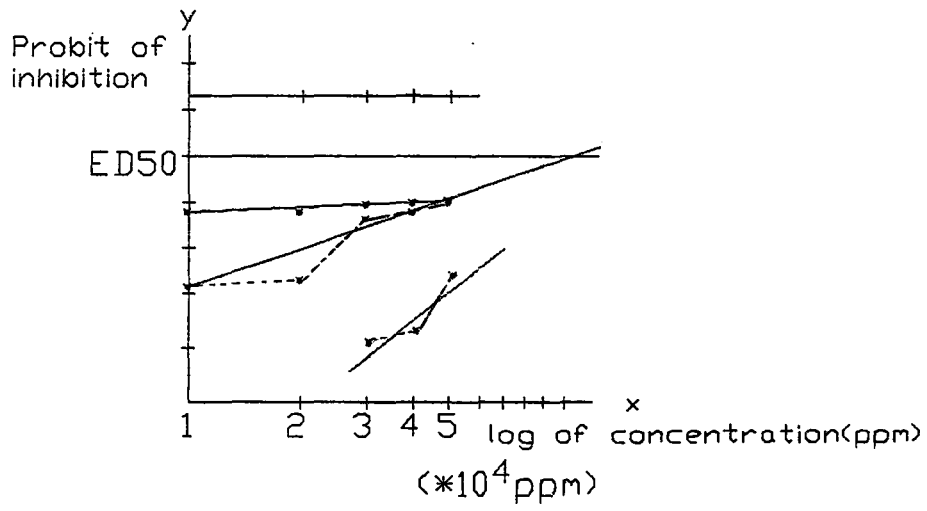
A



B

ภาพที่ 7 การทดสอบพืชสมุนไพรที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา Aspergillus flavus บนอาหาร PDA ผสมผงโป๊ยกั๊ก ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ A = สมุนไพรโป๊ยกั๊ก , B = การเจริญของเชื้อราบนอาหาร PDA ผสมผงโป๊ยกั๊กที่ระดับความเข้มข้น 0, 10000, 20000 (บน จากข้าวไปชวา) 30000, 40000 และ 50000 ppm (ล่าง จากข้าวไปชวา)

สำนักงานเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า
เจ้าพระนา กรุงเทพมหานคร



ภาพที่ 8 กราฟเปรียบเทียบค่า ED_{50} ของสมุนไพรมันชนิดต่างๆ
ที่มีต่อ Aspergillus flavus

ตารางที่ 1 แสดงขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี Aspergillus flavus บนอาหาร PDA ผสมผงโปรยีกที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ (ppm) เมื่ออายุ 6 วัน

ความเข้มข้น ของสมุนไพร(ppm)	ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี (ซม.) 4				รวม	เฉลี่ย	
	1	2	3	4			
0	8.50	8.48	8.53	8.55	34.06	8.51	a ^{1/}
10000	0.70	0.70	0.70	0.70	2.80	0.70	b
20000	0.70	0.70	0.70	0.70	2.80	0.70	b
30000	0.70	0.70	0.70	0.70	2.80	0.70	b
40000	0.70	0.70	0.70	0.70	2.80	0.70	b
50000	0.70	0.70	0.70	0.70	2.80	0.70	b

1/ = ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรเหมือนกันในคอลัมภ์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ DMRT (P=0.05) CV (%) = 0.63, $LSD_{0.05} = 1.9078$, $LSD_{0.01} = 2.6384$

ตารางที่ 2 แสดงขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี Aspergillus flavus บนอาหาร PDA ผสมผงตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ (ppm) เมื่ออายุ 6 วัน

ความเข้มข้น ของสมุนไพร (ppm)	ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี (cm) 4 ซ้ำ				รวม	เฉลี่ย
	1	2	3	4		
0	8.51	8.56	8.50	8.47	34.04	8.51 a ^{1/}
10000	8.40	8.35	8.30	8.25	33.30	8.32 a
20000	8.41	8.38	8.25	8.20	33.24	8.31 a
30000	7.92	7.99	8.23	8.05	32.19	8.05 b
40000	7.53	7.42	7.90	7.26	30.11	7.53 c
50000	6.13	5.93	5.89	6.20	24.15	6.04 d

1/ = ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรเหมือนกันในคอลัมภ์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ DMRT (P=0.05) CV (%) = 1.00 ,LSD_{0.05} =0.1280 ,LSD_{0.01} =0.1770

ตารางที่ 3 แสดงขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี Aspergillus flavus บนอาหาร PDA ผสม
ผงข้าวที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ (ppm) เมื่ออายุ 6 วัน

ความเข้มข้น ของสมุนไพร (ppm)	ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี (cm) 4 ซ้ำ				รวม	เฉลี่ย
	1	2	3	4		
0	8.50	8.55	8.50	8.60	34.18	8.55 a ^{1/}
10000	8.01	7.90	8.00	7.80	31.71	7.93 b
20000	7.71	7.64	7.65	7.68	30.68	7.67 c
30000	7.72	7.58	7.53	7.42	30.25	7.56 d
40000	7.53	7.51	7.56	7.45	30.05	7.51 d
50000	7.40	7.60	7.40	7.50	29.90	7.47 d

1/ = ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรเหมือนกันในคอลัมภ์ไม่มีความแตกต่าง
กันทางสถิติที่ DMRT (P=0.05) CV (%) = 1.00 ,LSD_{0.05} =0.1280 ,LSD_{0.01} =0.1770

ตารางที่ 4 แสดงขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี Aspergillus flavus บนอาหาร PDA ผสมผงสะเดาที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ (ppm) เมื่ออายุ 6 วัน

ความเข้มข้น ของสมุนไพร (ppm)	ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี (cm) 4 ซ้ำ				รวม	เฉลี่ย
	1	2	3	4		
0	8.50	8.60	8.53	8.57	34.20	8.55 a ^{1/}
10000	8.60	8.65	8.50	8.63	34.38	8.60 a
20000	8.60	8.61	8.50	8.55	34.26	8.56 ab
30000	8.50	8.30	8.48	8.41	33.69	8.42 bc
40000	8.35	8.50	8.32	8.43	33.60	8.40 c
50000	8.20	8.31	8.45	8.20	33.16	8.29 c

1/ = ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรเหมือนกันในคอลัมภ์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ DMRT (P=0.05) CV (%) = 1.00 , LSD_{0.05} = 0.1280 , LSD_{0.01} = 0.1770

ตารางที่ 5 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยของเชื้อรา Aspergillus flavus บนอาหาร PDA ที่ผสมผงสมุนไพรชนิดและความเข้มข้นต่างๆ

ชนิดของ สมุนไพร	ความเข้มข้นต่างๆ (ppm)					เฉลี่ย
	10000	20000	30000	40000	50000	
สะเดา	0.00	0.00	1.28	1.52	2.81 ^{1/}	1.12
ขี้เหล็ก	7.93	9.02	11.37	11.95	12.42	10.54
ตะไคร้หอม	2.46	2.57	5.62	11.72	29.19	10.31
ขมิ้น	91.79	91.79	91.79	91.79	91.79	91.79

1/ ความเข้มข้นต่างๆ เฉลี่ยจาก 4 ขี้เหล็ก, เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง = ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อราบนอาหาร PDA ที่ไม่ผสมผงสมุนไพร (0 ppm) - ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อราบนอาหาร PDA ที่ผสมผงสมุนไพร / ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อราบนอาหาร PDA ที่ไม่ผสมผงสมุนไพร (0 ppm)

ตารางที่ 6 แสดงค่าโพรบิทที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของ Aspergillus flavus

ชนิดของสมุนไพร	ค่าโพรบิท (ppm)
สะเดา	-
ข่า	-
ตะไคร้หอม	>100000
โป๊ยเซียน	< 10000

3. การทดสอบการใช้สารสกัดจากโพลีเอทิลีนเพื่อเป็นแนวทางในการควบคุมเชื้อรา Aspergillus flavus

จากการทดลองพบว่า สารสกัดโพลีเอทิลีนด้วยแอลกอฮอล์ 95% และด้วยน้ำที่ระดับความเข้มข้น 10000 ppm มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการสร้างสปอร์ของเชื้อรา A. flavus ได้ดีที่สุด อย่างมีนัยสำคัญเชิงทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับกรณีที่ไม่ใช้สารสกัดคลุกเมล็ดถั่วลิสง จะเห็นได้ว่า เมื่อใช้สารสกัดจากแอลกอฮอล์ 95 % คลุกเมล็ดถั่วลิสงที่ปลูกเชื้อรา A. flavus แล้วบ่มไว้เป็นเวลา 15 วัน สามารถยับยั้งการสร้างสปอร์ได้เฉลี่ย 54.16 เปอร์เซ็นต์ และสารสกัดโพลีเอทิลีนด้วยน้ำร้อนยับยั้งได้ 58.17 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 8) และจากการทดลองในการใช้สารสกัดจากโพลีเอทิลีนด้วยแอลกอฮอล์ที่ความเข้มข้น 1000, 3000, 5000 และ 10000 ppm มีการสร้างสปอร์บนเมล็ดถั่วลิสงได้เฉลี่ย 281.25×10^4 , 231.25×10^4 , 212.50×10^4 และ 183.75×10^4 สปอร์/มล.ตามลำดับ (ตารางที่ 7) มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการสร้างสปอร์เฉลี่ยเท่ากับ 30.04, 42.37, 49.06 และ 54.16 ตามลำดับ (ตารางที่ 8) ในขณะที่การทดลองเปรียบเทียบคือการใช้กากลิ้นจี่เชื้อมีการสร้างสปอร์ 402.50×10^4 สปอร์/มล. ขณะที่การใช้สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา (Captan) มีการสร้างสปอร์ 146.25×10^4 สปอร์/มล. และมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการสร้างสปอร์เฉลี่ยเท่ากับ 63.45

สำหรับการใช้สารสกัดจากโพลีเอทิลีนด้วยน้ำร้อนที่ความเข้มข้น 1000, 3000, 5000 และ 10000 ppm มีการสร้างสปอร์บนเมล็ดถั่วลิสงได้เฉลี่ย 327.50×10^4 , 291.5×10^4 , 182.50×10^4 และ 158.75×10^4 สปอร์/มล. ตามลำดับ มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการสร้างสปอร์เฉลี่ยเท่ากับ 13.41, 22.62, 51.36 และ 58.17 ตามลำดับ ในขณะที่การทดลองเปรียบเทียบคือ การใช้กากลิ้นจี่เชื้อมีการสร้างสปอร์ 378.75×10^4 สปอร์/มล. และการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา (Captan) มีการสร้างสปอร์ 153.75×10^4 สปอร์/มล. และมีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการสร้างสปอร์เฉลี่ยเท่ากับ 59.68

ตารางที่ 7 แสดงจำนวนสปอร์ Aspergillus flavus จากการใช้สารสกัดของไปีซิกก
 คลุกเมล็ดด้วยความเข้มข้นต่างๆ กันเป็นเวลา 15 วัน

สารสกัดไปีซิกก	จำนวนซ้ำ ($\times 10^4$ สปอร์/มล.)				รวม	เฉลี่ย
	1	2	3	4		
สารสกัดแอลกอฮอล์ 95 %						
0	380.00	430.00	380.00	420.00	1610.00	402.50 a ^{1/}
1000	235.00	290.00	305.00	295.00	1125.00	281.25 c
3000	250.00	235.00	210.00	230.00	925.00	231.25 d
5000	205.00	205.00	225.00	215.00	850.00	212.50 de
10000	180.00	190.00	195.00	170.00	735.00	185.75 ef
Captan	135.00	145.00	170.00	135.00	585.00	146.25 f
สารสกัดน้ำร้อน						
0	375.00	345.00	370.00	425.00	1515.00	378.75 a
1000	345.00	285.00	335.00	345.00	1310.00	327.50 b
3000	300.00	280.00	305.00	280.00	1165.00	291.25 c
5000	215.00	175.00	185.00	155.00	730.00	182.50 ef
10000	145.00	145.00	155.00	190.00	635.00	158.75 f
Captan	170.00	105.00	190.00	185.00	615.00	153.75 f

1/ = ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรเหมือนกันในคอลัมภ์ไม่มีความแตกต่าง
 กันทางสถิติที่ DMRT (P=0.05), CV (%) = 1.96, $LSD_{0.05} = 0.2302$, $LSD_{0.01} = 0.3183$

ตารางที่ 8 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโต(สปอร์) ของเชื้อรา Aspergillus flavus ในสารสกัดโพลีค็อก

สารสกัดโพลีค็อก	จำนวนซ้ำ				รวม	เฉลี่ย
	1	2	3	4		
สารสกัดแอลกอฮอล์ 95 %						
1000	38.15 ^{1/}	32.55	19.73	29.76	120.19	30.04 ^{2/}
3000	34.21	45.34	44.73	45.23	169.51	42.37
5000	46.05	52.32	49.07	48.80	196.24	49.06
10000	52.63	55.81	48.68	59.52	216.64	54.16
Captan	64.47	66.27	55.26	67.83	253.83	63.45
สารสกัดน้ำร้อน						
1000	8.00	17.39	9.45	18.82	53.66	13.41
3000	20.00	18.84	17.56	34.11	90.51	22.62
5000	42.66	49.27	50.00	63.52	205.45	51.36
10000	61.33	57.97	58.10	55.29	232.69	58.17
Captan	54.66	69.56	58.10	56.47	238.73	59.68

1/= เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโต = $\frac{\text{จำนวนสปอร์ของเชื้อราที่ไม่ได้คลุกสารสกัดโพลีค็อก} - \text{จำนวนสปอร์ของเชื้อราที่คลุกสารสกัด}}{\text{จำนวนสปอร์ของเชื้อราที่ยังไม่ได้คลุกสารสกัด}} \times 100$

2/= เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ

วิจารณ์

จากการทดลองปรากฏว่าสามารถแยกเชื้อรา Aspergillus flavus ได้จากเมล็ดถั่วลิสงพันธุ์ไทนาน 9 ซึ่งออกสู่ธรรมชาติในปี 2522 เคยไว้ทำนองเดียวกันและกล่าวว่าเชื้อราดังกล่าวมีความสามารถในการสร้างสารพิษในอาหารได้ สำหรับ A. flavus ที่แยกได้จากการทดลองนี้มิได้ทดสอบการสร้างสารพิษ โดยเฉพาะ aflatoxin จึงไม่แน่ชัดว่าจะเป็น isolate ที่มีความสามารถในการสร้างสารพิษดังกล่าวบนเมล็ดถั่วลิสงหรือไม่ ซึ่งอรุณศรีและคณะ (2527) รายงานไว้ว่าเคยแยกเชื้อรา A. flavus จากถั่วลิสงได้ 157 isolates มีเพียง 57 isolate เท่านั้นที่สามารถสร้างสารพิษได้ อย่างไรก็ตามสำหรับเชื้อรา A. flavus ที่เข้าทำลายเมล็ดถั่วลิสงจะเปลี่ยนเป็นสีดำ มีแนวโน้มว่าจะเป็น isolate ที่สร้างสารพิษดังกล่าว (Quitco, 1989)

ผลการทดสอบใช้สะเดา ข่า ตะไคร้หอม และโป๊ยกั๊กในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา A. flavus บนอาหาร PDA ผสมผงพืชสมุนไพรแต่ละชนิด ปรากฏว่า โป๊ยกั๊กสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราดังกล่าวได้ดีที่สุด มีค่า ED₅₀ น้อยกว่า 10000 ppm ซึ่งชัยวัฒน์ (2528) เคยรายงานว่า โป๊ยกั๊กสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ A. flavus ได้ที่ค่า ED₅₀ มากกว่า 90000 ppm

จากการทดลองนี้สะเดามีความเข้มข้น 10000 และ 20000 ppm มีแนวโน้มว่าส่งเสริมการเจริญเติบโตของเชื้อรา ซึ่งบัญญัติ (2527ข) ได้รายงานไว้ว่า น้ำมันจากมะกรูดสามารถกระตุ้นการเจริญของ Aspergillus sp. และกระตุ้นการสร้างสปอร์ได้ดี และบัญญัติ (2527ก) พบว่าพริกที่บดละลายน้ำ แต่ไม่ได้กรองกากและที่ความเข้มข้นสูงๆ จะส่งเสริมการเจริญของเชื้อรา Fusarium, Penicillium, Cunninghamella และ Aspergillus

พืชสมุนไพรที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ดีที่สุดจากการทดลองนี้ มาทำการทดสอบการใช้สารสกัด โดยทำการสกัดอย่างหยาบ (crude extraction) ด้วยวิธีการสกัดด้วยแอลกอฮอล์ 95% และวิธีต้มในน้ำร้อน (decoction) เปรียบเทียบกับการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา (Captan) โดยทำการคลุกกับเมล็ดถั่วลิสงพันธุ์ไทนาน 9 ที่ความเข้มข้นต่างๆ พบว่า สารสกัดจากโป๊ยกั๊กทั้งสองวิธีมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราได้เท่าเทียมกับ Captan ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของ

Garcia และ Ilag (1968) พบว่าการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา thiabendazole หรือ benomyl ในอัตรา 10 ppm สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ A. flavus และ A. parasiticus จากการทดลองใช้สารสกัดโพลีกันด้วยแอลกอฮอล์ 95% และน้ำร้อน พบว่ามีประสิทธิภาพในการยับยั้งการสร้างสปอร์ของเชื้อรา A. flavus ภายหลังจากใช้สารสกัดคลุกเมล็ดถั่วลิสงและบ่มไว้เป็นเวลา 15 วัน ซึ่งได้ผลเท่าเทียมกับการใช้สารเคมี Captan ซึ่งผลการทดลองนี้ไม่สอดคล้องกับรายงานของเกษมและวิจิธ (2525) ซึ่งกล่าวว่าสารสกัดโพลีกันที่สกัดด้วยแอลกอฮอล์ มีศักยภาพในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืชได้ดีกว่าสารสกัดโพลีกันด้วยน้ำร้อน และพรรณา (2521) รายงานไว้ว่าสารสกัดใน chloroform และ petroleum ether นอกจากนี้ สุมล (2533) กล่าวว่าการใช้สารสกัดจากโพลีกันด้วยน้ำและแอลกอฮอล์ที่ระดับความเข้มข้น 10000 ถึง 30000 ppm สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา A. flavus ได้และรายงานเพิ่มเติมว่าสารสกัดโพลีกันที่สกัดด้วยแอลกอฮอล์สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ดีกว่าสารสกัดด้วยน้ำ

สรุปผล

เชื้อรา A. flavus ที่แยกได้เป็นเชื้อราที่ติดต่อทางเมล็ดพันธุ์ถั่วลิสงพันธุ์ไทนาน 9 ซึ่งเมื่อนำไปทดสอบการใช้สะเดา ข่า ตะไคร้หอมและโปียก๊กในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราในอาหาร PDA ผสมผงพืชสมุนไพร พบว่า โปียก๊กมีประสิทธิภาพสูงสุดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราดังกล่าว รองลงมาได้แก่ ตะไคร้หอม ข่าและสะเดา ซึ่งที่ความเข้มข้นสูง (50000 ppm) จะมีประสิทธิภาพดีกว่าที่ความเข้มข้นต่ำ (10000 ppm) และเมื่อใช้สารสกัดจากโปียก๊ก ทั้งที่สกัดด้วยแอลกอฮอล์และด้วยน้ำที่ความเข้มข้น 10000 ppm นำไปคลุกเมล็ดถั่วลิสงที่มีเชื้อรา A. flavus แล้วบ่มไว้ 15 วัน พบว่าสามารถยับยั้งการสร้างปริมาณสปอร์ของเชื้อราดังกล่าวได้เท่าเทียมกับการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา Captan

เอกสารอ้างอิง

- เกษม สร้อยทอง. 2528. สมุนไพรบางชนิดที่มีอิทธิพลในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา และศึกษาภาพในการใช้ป้องกันกำจัดโรคพืช. วิทยานิพนธ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 145 หน้า.
- เกษม สร้อยทองและวิจิตร รักวิทยาศาสตร์. 2528. อิทธิพลของสารสกัดจากพืชสมุนไพรที่มีต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราและศึกษาภาพในการป้องกันกำจัดโรคพืชวารสารโรคพืช. 3(5): 102-113.
- เกษม สร้อยทองและสุมล กันตรัตน์กุล. 2533. อิทธิพลของปีบสกัดในการควบคุมเชื้อราสาเหตุที่ติดต่อกทางเมล็ดพันธุ์ข้าวเหลืองสาขพันธุ์เชียงใหม่ 60.วารสารวิจัยและส่งเสริมวิชาการเกษตร. 7(4): 160-163.
- ชนิกา เอี่ยมสุภมณี. 2531. ปัญหาแอฟฟาทอกซินในข้าวโพดและแนวทางแก้ไข.วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร. 21(3): 190-206.
- เชาว์ เสาวลักษณ์. 2535. การป้องกันและกำจัดแมลงศัตรูพืชโดยใช้สารสกัดสมุนไพร. งานป้องกันและกำจัดศัตรูพืชโดยชีววิธี นปศ.ที่2 สุพรรณบุรี กรมส่งเสริมการเกษตร
- ชัยวัฒน์ โตอนันต์. 2528. อิทธิพลของพืชสมุนไพรและเครื่องเทศบางชนิดที่มีผลต่อการเจริญของรา Aspergillus. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
- ภูวนาด นนทรี. 2531. ถั่วลิสง. โครงการหนังสือเกษตรชุมชน. พรสาสน์, 72 หน้า.
- บัญญัติ สุขศรีงาม. 2527ก. เครื่องเทศที่ใช้เป็นสมุนไพร เล่ม 1. โรงพิมพ์ศิลปบรรณาการ. กรุงเทพฯ, 103 หน้า.
- บัญญัติ สุขศรีงาม. 2527ข. เครื่องเทศที่ใช้เป็นสมุนไพร เล่ม 2. โรงพิมพ์ศิลปบรรณาการ. กรุงเทพฯ. 104 หน้า.
- พรรณิภา ชุ่มศรี. 2521. การตรวจสอบสมุนไพรที่มีฤทธิ์ในการทำลายเชื้อจุลินทรีย์. สภาวิจัยแห่งชาติ กรุงเทพฯ.

- วรศักดิ์ ปัจฉิมะศิริ, รท. โสภกา สอนดี และสมชัย พงศ์จรรยากุล, 2532. การตรวจสอบ
อฟาทอกซินโดยวิธีมินิคอลัมภ์ในอาหารสัตว์ที่ใช้ในอุตสาหกรรมการเลี้ยงสัตว์ปีก
วารสารเกษตรศาสตร์(วิทย์.) 23(2):178-187.
- ศรีสิทธิ์ การุณยานิช, ทศนีย์ จุฬามรกต และเกษร นันทจิตต์ 2526. มินิคอลัมภ์
ผลาสติกสำหรับตรวจแอฟาทอกซิน รายงานการสัมมนาเรื่องงานวิจัยถั่วลิสง ครั้งที่
2 ณ ศูนย์วิจัยพืชไร่นครสวรรค์ จ. นครสวรรค์ 11-13 กุมภาพันธ์ 2526.
- สุมล กันตรัตน์กุล. 2533. ประสิทธิภาพของโป๊ยกั๊กในการควบคุมราสาเหตุที่ติดต่อกับเมล็ด
ถั่วเหลืองสายพันธุ์เชียงใหม่ 60. ปัญหาพิเศษปริญญาตรี คณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. 66 หน้า
- อุทัยวรรณ แสงวานิช. 2522. การตรวจหารา Aspergillus ที่สร้าง aflatoxin
ในผลิตผลเกษตร. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- Cole. R. J. ; J. W. Dorner, and F.E. Dowell, 1991. Aflatoxin
immunoassays for peanut grading. In ACS-Symposium series
American Chemical Society. USA. no. 451. p. 158-161.
- Davis, N. D. and U. L. Diener. 1983. Some characteristics of
toxigenic and non-toxigenic isolates of Aspergillus flavus.
In U. L. Diener. R. L. Asquith and J. W. Dicken (eds.).
Aflatoxin and Aspergillus flavus in corn. So. Coop. Ser.
Bull. 279. Alabama.
- Dickens, J. W. 1986. Sampling and detection techniques for
aflatoxin in maize. In EI Batan (eds.). Aflatoxin in maize,
A proceedings of the workshop. Mexico.
- Diener, UL and N.D. Davis, 1969 . Aflatoxin formation by
Aspergillus fiavus. (In) Goldblatt,ed., Afiatoxin, Scientific
Backgromd, Control and Implications. New York :Academic Press,
pp.13-54.

- Garcia, H.K. and L.L. Ilag. 1968. Aflatoxin in the Philippines. In El Batan (ed.). Aflatoxin in maize. A proceedings of the workshop. Mexico.
- Ghewande, M. P.; G. Nagaraj; S. Dasai and P. Narayan 1993. Screening of groundnut bold-seeded genotypes for resistance to Aspergillus flavus seed colonisation and less aflatoxin production. Proceedings of the International Seed Testing Association. 21(1) : 45-51.
- Keen, P. (1971) Mycological studies of foodstuff in southern Africa in relation to the incidence of cancer. First International Mycological Congress. Abstract of Sytpusia Papers: 49-50.
- Makkar, H.P.S. and B. Singh, 1991. Aflatoxicosis In Rabbits. The Journal of Applied Rabbit Research. 14(4): 218-221.
- Quitco, R. 1989. Investigations on the causes and effects of peanut (Arachis hypogaea L.) seed discoloration. Thesis (M.S. in Plant Pathology) . College, Laguna (philippines). March 1989. 63 leaves.
- Richard, J.L.; Deepak Bhatnagar; S. Peterson and G. Sandor. 1992. Assessment of aflatoxin and cyclopiazonic acid production by Aspergillus flavus isolates from Hungary. Mycopathologia. 120: 183-188.
- Sauer, D. B. 1986. Condition that affect growth of Aspergillus flavus and production of aflatoxin in stored maize. In El Batan (ed.). Aflatoxin in maize. Proceedings of the workshop. Mexico.
- Singh, U.P.; B.P. Srivastava; K.P. Singh and G.D. Mishra. 1991.

Control of Powdery mildew of Pea by Ginger Extract. Indian
Phytopath. 41(1):55-59.

Stoloff, L. 1977. Aflatoxin-an Overview ,p.7-28. In J.V.Rodricks,
C.W.Hessletine, and M.Mehlaman Mycotoxins in human and animal
heath. Pathotox Publishers, Inc., Park South, III.

ภาคผนวก

ตารางผนวกที่ 1 แสดงการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนทางสถิติ (analysis of variance) ของการเจริญเติบโตของ Aspergillus flavus บนอาหาร PDA ผสมผง สะเดาที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

SOV	df	SS	MS	F-cal	F-table	
					.05	.01
Block	3	0.005	0.002	0.230 ^{ns}	3.29	5.42
Treatment	5	0.282	0.056	7.825 ^{**}	2.90	4.56
Error	15	0.108	0.007			
Total	23	0.396	0.017			

ns = non significant, ** = highly significant at 1% level

ตารางผนวกที่ 2 แสดงการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนทางสถิติ (analysis of variance) ของการเจริญเติบโตของ Aspergillus flavus บนอาหาร PDA ผสมผงข้า้ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

SOV	df	SS	MS	F-cal	F-table	
					.05	.01
Block	3	0.016	0.005	0.809 ^{ns}	3.29	5.42
Treatment	5	3.324	0.665	98.307 ^{**}	2.90	4.56
Error	15	0.101	0.007			
Total	23	3.442	0.150			

ns = non significant, ** = highly significant at 1% level

ตารางผนวกที่ 3 แสดงการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนทางสถิติ (analysis of variance) ของการเจริญเติบโตของ Aspergillus flavus บนอาหาร PDA ผสมผงตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

SOV	df	SS	MS	F-cal	F-table	
					.05	.01
Block	3	0.040	0.013	0.575 ^{ns}	3.29	5.42
Treatment	5	17.126	3.425	146.756 ^{**}	2.90	4.56
Error	15	0.350	0.023			
Total	23	17.516	0.762			

ns = non significant, ** = highly significant at 1% level

ตารางผนวกที่ 4 แสดงการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนทางสถิติ (analysis of variance) ของการเจริญเติบโตของ Aspergillus flavus บนอาหาร PDA ผสมผง โป๊ยกั๊กที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

Source of variation	Degree of Freedom	Sum of Square	Mean Square	Computed F	<u>Tabular F</u> .05 .01	
Block	3	0.000	0.000	1.005 ^{ns}	3.29	5.42
Treatment	5	203.581	40.716	253977.141 ^{**}	2.90	4.56
Error	15	0.003	0.000			
Total	23	203.584	8.851			

ns = non significant, ** = highly significant at 1% level

ตารางผนวกที่ 5 แสดงค่าโพรบิต (probit) ของการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา Aspergillus flavus โดยใช้พืชสมุนไพรต่างๆ

ชนิดสมุนไพร	ค่าโพรบิตที่ความเข้มข้นต่างๆ (ppm)				
	10000	20000	30000	40000	50000
สะเดา	-	-	1.1214	1.2521	2.4166
ข่า	3.8220	3.8525	3.983	3.9346	3.9477
ตะไคร้หอม	2.1101	2.2075	3.7573	3.9281	3.9477
โป๊ยเซียน	6.3910	6.3910	6.3910	6.3910	6.3910

ตารางผนวกที่ 6 แสดงการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนทางสถิติ (analysis of variance) ของจำนวนสปอร์ Aspergillus flavus ที่นับได้หลังคลุกเมล็ดด้วยสารสกัดไปีอิกกัแต่ละวิธี แต่ละความเข้มข้น เป็นเวลา 15 วัน

SOV	df	SS	MS	F-cal	F-table	
					0.05	0.01
Treatment	11	349466.667	31769.697	55.65**	2.08	2.80
A	1	408.333	408.333	0.715 ^{ns}	4.08	7.31
B	5	333697.917	66739.583	116.916**	2.45	3.51
AxB	5	15360.417	3072.833	5.382**	2.45	3.51
Error	36	20550.000	7872.695			
Total	47	370016.667	7875.695			

ns = non significant, ** = highly significant at 1% level, CV(%) = 9.71

Factor A	Factor B
EXTRACTION	CONC
ALC	0
HOT	1000
	3000
	5000
	10000
	Captan