บทที่ 2

การตรวจเอกสาร

ถั่วเขียวมีแหล่งกำเนิดจาก Northen Territory to Southen มีแหล่งผลิตใหญ่ที่ประเทศอินเดีย อินโดนีเซีย จีน พม่า ญี่ปุ่น ไต้หวัน ส่วนในแถบยุโรปเป็นประเทศที่ต้องนำเข้า ถั่วเขียวมาเพื่อบริโภค ถั่วเขียวผิวมัน จัดอยู่ใน Family Leguminosae sub-family Papilionoideae tribe Phaseoleae sub-tribe Phaseolina มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Vigna radiata* มีชื่อสามัญหลายชื่อ เช่น mungbean, mung, moog และ greengram ส่วนถั่วเขียวผิวดำ มีชื่อวิทยาศาสตร์ ว่า *Vigna mungo* (L.) Hepper มีชื่อสามัญคือ black gram (จุฑานาฏ, 2534)

ถั่วเขียวสามารถปลูกหมุนเวียนสลับกับพืชอื่น ๆ ได้เช่น ข้าว ข้าวโพด งา และฝ้าย (Chavalvut and Somchai, 1990) โดยใช้เป็นปุ๋ยพืชสด สามารถตรึงไนโตรเจน ใช้เป็นพืชอาหารสัตว์ ตลอดจนนำเมล็ดมาแปรรูปเป็นวุ้นเส้น และถั่วงอกเพื่อทำเป็นการค้า

การสุกแก่ (Maturation) ของถั่วเขียว จะไม่เกิดพร้อมกัน โดยถือเอาฝักใดฝักหนึ่งบนข้อที่หนึ่งของลำต้นกลางสุกแก่ (R5) หลังจากระยะนี้ฝักของถั่วเขียวต่าง ๆ บนลำต้นกลาง ก็จะทยอยสุกแก่กันตามลำดับ เมื่อใดที่ 50 เปอร์เซ็นต์ ของฝักบนลำต้นกลางสุกแก่ เมื่อนั้นจึงถือเป็นระยะ R6 ซึ่งเป็นระยะที่เก็บเกี่ยวครั้งที่ 1 และเมื่อใดประมาณ 90 เปอร์เซ็นต์ ของฝักที่เหลือ หลังจากการเก็บเกี่ยวครั้งแรกสุกแก่ จึงนับเป็นระยะ R7 คือเป็นระยะการเก็บเกี่ยวครั้งที่ 2

1. อิทธิพลของปัจจัยต่าง ๆ ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของถั่วเขียว

1.1 พันธุกรรม การเจริญเติบโตของพืชขึ้นอยู่กับลักษณะทางพันธุกรรมและสภาพแวดล้อม โดยมีพันธุกรรมเป็นตัวกำหนดขอบเขตการเจริญเติบโต และมีสภาพแวดล้อมเป็นตัวกำหนดระดับของการเจริญเติบโต 70-80 เปอร์เซ็นต์ ของความแปรปรวนของผลผลิต เกิดจากสภาพแวดล้อม และ 17-27 เปอร์เซ็นต์ จะเกิดจากปฏิกริยาสัมพันธ์ระหว่างพันธุกรรมและสิ่งแวดล้อม ผลผลิตของถั่วเขียวมีความสัมพันธ์ในทางบวกกับลักษณะจำนวนฝักต่อต้น จำนวนเมล็ดต่อฝัก น้ำหนัก 1,000 เมล็ด และพบว่าองค์ประกอบผลผลิตเหล่านี้ ยังมีความสัมพันธ์กันในทางบวกด้วย ผลผลิตของถั่วเขียวเป็นลักษณะที่มีการถ่ายทอดซับซ้อน และมีความสามารถในการถ่ายทอดทางพันธุกรรมต่ำ ในขณะที่ องค์ประกอบผลผลิตมีความสามารถ ในการถ่ายทอดทางพันธุกรรมสูง และไม่สลับซับซ้อน

1.2 ช่วงแสง ถั่วเขียวจัดเป็นพืชประเภท quantitative short day plant จึงตอบสนองต่อช่วงแสงเช่นเดียวกับถั่วเหลือง การเกิดจุดกำเนิดและพัฒนาการของดอกถูกควบคุมโดยช่วงแสง การเจริญก่อนออกดอก และวันออกดอกของถั่วเขียว จะถูกกำหนดโดยช่วงแสงควบคู่กันไป ช่วงแสงที่แตกต่างกันไปตามสถานที่ และวันปลูกมีผลทำให้จำนวนวันตั้งแต่ปลูกจนถึงวันออกดอกแตกต่างกัน ถั่วเขียวจะออกดอกล่าช้าออกไปถ้าช่วงแสงยาวขึ้น การตอบสนองต่อช่วงแสงของพันธุ์ถั่วเขียวจะแตกต่างกัน และในช่วงแสงสั้นจะทำให้การเจริญพันธุ์และระยะเวลาการสะสมน้ำหนักแห้งของเมล็ดสั้นลง

1.3 อุณหภูมิ เป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อการเจริญเติบโตและการสะสมน้ำหนักแห้งของเมล็ด อุณหภูมิต่ำจะทำให้อัตราการเจริญเติบโตของเมล็ดลดลง โดยทำให้การเคลื่อนย้ายสารประกอบคาร์โบไฮเดรตเข้าสู่เมล็ดน้อยลง

1.4 ความชื้น การใช้น้ำของถั่วเขียวพันธุ์อู่ทอง 1 จะเพิ่มขึ้นตามระยะการเจริญเติบโต และสูงสุดในระยะสร้างเมล็ด ในระยะนี้ต้องการน้ำประมาณ 7.35 มิลลิกรัมต่อวัน หลังจากระยะนี้ความต้องการน้ำของถั่วเขียวจะลดลง การขาดน้ำในระยะเจริญพันธุ์ เป็นสาเหตุสำคัญในการจำกัดผลผลิต โดยเฉพาะอย่างยิ่งการขาดน้ำในช่วงที่มีการสะสมน้ำหนักแห้งของเมล็ด จะทำให้ผลผลิตลดลงมากกว่าการขาดน้ำในระยะอื่น ๆ (ผาสุก, 2538)

2. สถานการณ์การผลิตถั่วเขียวผิวมันและผิวดำ

ถั่วเขียวผิวมันและผิวดำยังคงเป็นพืชทางเศรษฐกิจ โดยในด้านการเพาะปลูกนั้นพบว่า ปีเพาะปลูก พ.ศ. 2541/2542 ประเทศไทย ได้จำนวนผลผลิตที่ส่งออกไปจำหน่ายต่างประเทศเป็นมูลค่า 2,870.2 ล้านบาท ตารางที่ 1

ตารางที่ 1 พื้นที่ปลูก ผลผลิต ผลผลิตเฉลี่ยต่อไร่ ราคาและมูลค่าของผลผลิตถั่วเขียวผิวมันและผิวดำ ตามราคาที่เกษตรกรขายได้ ปีเพาะปลูก 2532/33-2541/42 (ที่มา:สถิติการเกษตรของไทย, 2542)

ปีเพาะปลูก	พื้นที่ปลูก (1,000ไร่)	พื้นที่เก็บเกี่ยว (1,000ไร่)	ผลผลิต (1,000ตัน)	ผลผลิตเฉลี่ยต่อไร่ (กก.)	ราคาที่เกษตรกรขายได้ (บาท/กก.)	มูลค่าของผลผลิตตามราคาที่เกษตรกรขายได้ (ล้านบาท)
2532/33	3,205	3,102	256	115	6.24	2,221.4
2533/34	2,808	2,674	303	113	6.70	2,030.1
2534/35	2,754	2,610	304	117	10.90	3,313.6
2535/36	2,404	2,189	261	119	9.23	2,409.0
2536/37	2,147	1,966	231	118	9.44	2,180.6
2537/38	2,267	2,094	256	122	9.72	2,488.3
2538/39	2,197	2,080	234	113	11.88	2,779.9
2539/40	1,978	1,896	215	114	11.62	2,498.3
2540/41	1,804	1,709	200	117	11.26	2,252.0
2541/42	1,892	1,805	226	125	12.70	2,870.2

ประเทศที่นำเข้ามากได้แก่ ญี่ปุ่น และอินเดีย คิดเป็นร้อยละ46 และ 32 (กัญจนา, 2531) ตามลำดับของปริมาณที่ส่งออก ถั่วเขียวผิวดำเป็นสินค้าทางการเกษตรที่ญี่ปุ่นนำเข้าจากประเทศไทยมากเป็นอันดับหนึ่ง โดยนำไปเพาะเป็นถั่วงอก แต่เมื่อประมาณ 4-5 ปี ที่ผ่านมา ทางประเทศญี่ปุ่นได้ร้องเรียนว่าถั่วเขียวผิวดำที่นำเข้าจากประเทศไทย เมื่อนำไปเพาะเป็นถั่วงอกแล้วทำให้เกิดรอยด่างดำที่ลำต้น ซึ่งเกิดจากเชื้อรา *Macrophomina phaseolina* ไม่เป็นที่ต้องการของตลาดผู้บริโภค ในขณะที่ถั่วเขียวผิวดำที่ญี่ปุ่นนำเข้าจากประเทศพม่าไม่พบเชื้อรานี้เลย จึงทำให้ประสบกับการกดราคาจากประเทศญี่ปุ่น แต่เดิมนั้นถั่วเขียวผิวดำไม่มีปัญหาเกี่ยวกับโรคเลย แต่ที่เกิดมีเชื้อราติดไปกับเมล็ดเพราะว่าในช่วง 3-4 ปี ที่ผ่านมา สภาพดินฟ้าอากาศเกิดการเปลี่ยนแปลงโดยมีฝนตกชุกในช่วงเพาะปลูกและเกิดแห้งแล้งในตอนเก็บเกี่ยว ซึ่งทำให้เชื้อราเจริญได้ดี นอกจากนี้พันธุ์

ของถั่วเขียวผิวดำที่ใช้ปลูกทั่วไปเป็นพันธุ์พื้นเมืองซึ่งเลื้อยไปกับดิน ทำให้เชื้อราเข้าทำลายได้ง่าย เพราะว่า sclerotia ของเชื้อรานี้อาศัยในดิน และเชื้อรานี้ยังมีพืชอาศัยอีกมากกว่า 400 ชนิด เช่น ถั่วเหลือง ข้าวโพด ข้าวฟ่าง ทานตะวัน คำฝอย งา ฝ้าย ปอ และแตงโม เป็นต้น (Gangopadhyay.S. *et al.*, 1970)

3. บทบาทของพืชสมุนไพรต่อจุลินทรีย์

ในปัจจุบันนี้มีวิทยาการต่าง ๆ ได้เจริญก้าวหน้าขึ้น โดยเฉพาะทางด้านวิทยาศาสตร์ที่ทำให้มีนักวิจัยหลายท่านได้คิดค้นผลิตสารเคมีสังเคราะห์ขึ้นมา โดยคำนึงถึงสภาพแวดล้อมและเพื่อป้องกันการตกค้างที่จะก่อให้เกิดผลเสียทั้งต่อผู้ใช้และสภาพแวดล้อม ซึ่งในสมัยก่อนนั้นนิยมใช้สารเคมีกันมาก แต่ก็มีสารพิษตกค้างตามมา และมีผลทำให้การใช้สารเคมีเกษตรทั่วโลกลดลง (วีรวุฒิ, 2544) ในปี ค.ศ. 2000 ยอดการจำหน่ายสารเคมีเกษตรทั่วโลกลดลง 0.6 เปอร์เซ็นต์ ในระดับผู้ใช้หรือมีมูลค่า 29,880 เหรียญสหรัฐ ซึ่งนับเป็นปีที่ 2 ที่ธุรกิจด้านสารเคมีเกษตรลดถอยลงในประเทศแคนาดาและเม็กซิโก การใช้สารเคมีเกษตรลดน้อยลงอันเนื่องมาจากราคาพืชผล โดยเฉพาะข้าวสาลีมีราคาลดลงและสภาวะอากาศไม่เหมาะสม สำหรับประเทศไทยในปี ค.ศ. 1999 มีมูลค่าการนำเข้ารวม 7,281 ล้านบาท ซึ่งได้มาจากสารเคมีประเภทกำจัดวัชพืช 3,293 ล้านบาท(45.2 เปอร์เซ็นต์) สารกำจัดแมลง 2,857 ล้านบาท (39.2 เปอร์เซ็นต์) สารกำจัดโรคพืช 895 ล้านบาท (12.3 เปอร์เซ็นต์) และอื่น ๆ 236 ล้านบาท (3.2 เปอร์เซ็นต์) จึงทำให้พืชสมุนไพรมีความสำคัญเพิ่มมากขึ้น โดยทำการวิจัยเพื่อใช้ผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติมาลดหรือทดแทนการใช้สารเคมี นำมาปฏิบัติเพื่อให้เกิดประโยชน์อย่างแท้จริง ซึ่งสารสกัดจากพืชบางชนิดมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืชบางชนิดได้ผลดี(อุดมศักดิ์, 2538) ดังจะเห็นได้จากเกิดการค้นคว้าวิจัยทางด้านนี้ในถิ่นต่าง ๆ ทั่วโลก และจากรายงานการวิจัยที่ผ่านมาจนถึงปัจจุบันจะเห็นได้ว่ามีพืชสมุนไพรหลายชนิดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ต่าง ๆ(ขจรศักดิ์, 2539)ได้เช่น วิชัย และคณะ(2542)รายงานว่า ได้ใช้ส่วนของรากและลำต้นใต้ดินสารสกัดจากว่านน้ำ(*Acorus calamus*)ซึ่งมีสารเคมีที่สำคัญจำพวก น้ำมันระเหยง่าย 1.5-3 เปอร์เซ็นต์ (Aromatic volatile oil)ประกอบด้วย Asaryl aldehyde, eugenol, asarone และ acorin ที่เป็น bitter glycoside มีประสิทธิภาพดีในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนส (anthracnose)ของมะม่วงบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ระดับความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ได้ นอกจากนี้ในการทดลองชุบผลมะม่วงด้วยสารสกัดจากว่านน้ำให้ผลดีในระดับห้องปฏิบัติการ วิชัย และคณะ (2534,2536)และบัญญัติ (2518) พบว่า

การใช้ส่วนของดอกกานพลู(*Eugenia caryophyllata* Thunberg.) ที่มีพวกน้ำมันหอมระเหยง่าย ประกอบด้วย eugenol, sesquiterpene ของα-และβ-caryophyllenes ที่ระดับความเข้มข้นมากกว่า 250 ppm. และกระชาย(*Boesenbergia panduratum* Schltr.)โดยใช้ส่วนเหง้าสามารถยับยั้งการเจริญของ *Rhizopus* sp.ที่เป็นสาเหตุของโรคเน่าดำของ ถั่วลิสงได้

- ข่า(*Alpinia nigra* (Gaerth.)B.L.Burtt.)มีน้ำมันหอมระเหยหลายชนิดเช่น eugenol, methylcinnamate, cineol, camphor และpinenes ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Curvularia* sp.ที่เป็นสาเหตุของโรค black kernel ของข้าวได้

- ขิงแก่ (*Zingiber officinale* Rosc.)มีน้ำมันหอมระเหยพวก terpenes, α-phellanderene และ dextrocomphene ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Alternaria* spp.ที่เป็นสาเหตุของโรค early blight ของมันฝรั่งและมะเขือเทศ และ *Aspergillus* sp.ที่เป็นสาเหตุของโรคเชื้อราในโรงเก็บได้ ส่วนขิงอ่อน สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Curvularia* spและ*Rhizopus* sp.

- ขมิ้นขาวและเหลือง(*Curcuma longa* Linn.)มีน้ำมันระเหยง่าย(volatile oil), curcumin และresin ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Alternaria ricini* สาเหตุของโรค seedling blight ของละหุ่งได้

- ตะไคร้(*Cymbopogon citratus* Stapf.) สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Rhizopus* sp. ที่เป็นสาเหตุของโรคเน่าดำ (soft rot) และ *Penicillium* sp.ที่เป็นสาเหตุของโรค blue mould ของส้ม ได้เพราะมีน้ำมันหอมระเหยที่เป็นพวก aldehyde, citronellal และterpenes(สมพร, 2536)

- ใบกะเพรา(*Ocimum sanctum* Linn.)มีน้ำมันหอมระเหยพวก camphor, eugenol, cineol และpinene ใบและผิวของมะกรูด(*Citrus hystrix* D.C.)มีสารcitronellyl acetate, citronellal, linalool, isopulegol ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Cunninghamella* sp. และ *Aspergillus* sp.

-ใบโหระพา(*Ocimum basilicum* Linn.) ผิวมะกรูด พริกขี้หนูผลยาว(*Capsicum* spp.) พริกชี้ฟ้า ไพล(*Zingiber cassumunar* Roxb.) และกระวาน(*Amomum krervanh* Pierre.)มีสาร camphor โดยใช้ส่วนของเมล็ด ลูกจันทร์ ลูกผักชี(*Coriandrum sativum* Linn.)ที่มีน้ำมันหอมระเหยจำพวก coriandrol(d-cinalool), d-pinene, terpinine ใบสะระแหน่(*Mentha cordiffolia* Opiz.) พริกไทย (*Piper nigrum* Linn.) หอมแดง กระเทียม(*Allium sativum* Linn.) มีสารอินทรีย์กำมะถันและน้ำมันหอมระเหย ส่วนอบเชย(*Cinnamomum* spp.) มี cininamic aldehyde และ mucilage ยี่หร่า(*Carum carvi* Linn.) และพริกขี้หนูผลสั้น สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ*Rhizopus* sp., *Penicillium* sp.และ *Mucor* sp. ที่เป็นสาเหตุให้เกิดโรคกับเมล็ดในโรงเก็บ เชื้อ*Cunninghamella* sp., *Aspergillus* sp., *Alternaria* sp.ที่ทำให้เกิดโรค blight , *Fusarium* sp.ที่ทำให้เก็ดโรคเหี่ยว(Wilt)และ*Curvularia* sp. ที่ทำให้เกิดโรค seedling blightได้

เฉลิม (2534) ได้ศึกษาประสิทธิภาพของพืชสมุนไพร 3 ชนิดคือ ดีปลี(*Piper retrofractum* Vahl.)มีสารพวก alkaloid A และpiperine กระวาน(*Amomun krervanh* Pierre.)ที่มีสารประกอบ camphor และพริก ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา 9 ชนิดคือ *Alternaria* sp., *Aspergillus niger*, *Curvularia* sp., *Emericella* sp., *Helminthosporium* sp., *Penicillium* sp., *Rhizopus* sp., *Sartorya* sp., และเชื้อ *Trichoderma* sp.โดยใช้สมุนไพรผสมในอาหารเลี้ยงเชื้อให้มีความเข้มข้น 1-10 เปอร์เซ็นต์ และสังเกตการเจริญของเส้นใยและสปอร์ พบว่าดีปลีสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา ที่นำมาทดสอบได้ดีที่สุด รองลงมาคือ พริก และกระวานตามลำดับ ส่วนวิรจิตรและสุวิมล(2531) ได้รายงานว่าเมล็ดยี่หร่า(*Carum carvi* Linn.)บดละเอียดจำนวน 1.4 กรัมผสมในอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato dextrose agar (PDA) สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus flavus* โดยมีผลให้ลดพิษของ สารอะฟ้าท็อกซินได้และใช้ดอกบดละเอียดจำนวน 4 กรัม ใส่ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Thanatephorus cucumeris* ที่เป็นสาเหตุของโรคกาบใบแห้ง (sheath rot)ของข้าว, *Ustilago maydis* ที่เป็นสาเหตุของโรคเขม่าดำ (smut)ของข้าวโพด และเชื้อ *Alternaria alternata* ที่เป็นสาเหตุโรคขอบใบแห้ง(leaf blight)ได้ทั้งนี้เนื่องจากในเมล็ดและดอกมีสารพวก carvone, pinene, limonene, linolool, camphene และterpineol ซึ่งเป็นสารที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อได้

เกษมและวิจัย(2538) กล่าวว่า โป๊ยกั๊ก (*Illicium verum* Hook.f.)ที่มีน้ำมัน trans-anethole ความเข้มข้นน้อยกว่า 2000 ppm. สามารถยับยั้ง *Absida spino, Choanephora cucurbitarum* ที่ทำให้เกิดโรคเน่าในไม้ผล(fruit rot)(Agarwal and Sinclair, 1996) *Phytophthora* sp.ที่ทำให้เกิดโรค late blight , *Fusarium solani* ที่ทำให้เกิดโรคเหี่ยว(wilt), *Rhizopus microsporus* ที่ทำให้เกิดโรคเชื้อราในโรงเก็บ, *Ceratocystis paradoxa* ที่ทำให้เกิดโรคblack rot, *Alternaria alternata* ที่ทำให้เกิดโรคขอบใบแห้ง *Colletotrichum dematium* ที่ทำให้เกิดโรคแอนแทรคโนส, *Drechslera maydis* ที่ทำให้เกิดโรค leaf spot และseedling blight, *Sclerotium rolfsii* ที่ทำให้เกิดโรคเหี่ยว และ sclerotial rot, *Ustilago maydis* ที่ทำให้เกิดโรคเขม่าดำ(*smut*) ในข้าวฟ่าง

นันทนีย์(2534)กล่าวว่า กระชาย(*Boesenbergia panduratum* Schltr.) พริกไทย ที่เป็นผงผสมลงในอาหารสามารถยับยั้งเชื้อ *Alternaria brassicicola* ที่เป็นสาเหตุโรค black spot ในพืชตระกูลกะหล่ำได้ กานพลู(*Eugenia caryophyllus* Bullcok & Harrision.) ที่มีน้ำมันหอมระเหยพวก caryophylla-3-(12)-6-dien-4-ol, caryophylla-3-(12)-7-(13)-dien-6-6-α-ol และ caryophylene oxideที่สามารถยับยั้งเชื้อ *Sclerotium rolfsii* ในอาหารสูตรPDA ที่ระดับความเข้มข้น 0.1,1.5และ 10 เปอร์เซ็นต์ได้ ส่วนเทียนตาขาวและเทียนตั๊กแตนนั้น สามารถยับยั้งเชื้อ *Curvularia lunata*

ขจรศักดิ์(2539) ได้นำผงกานพลูและว่านน้ำมาผสมในสูตรอาหาร PDA ที่ระดับความเข้มข้น 10,000 ppm. สามารถยับยั้ง *Fusarium* sp, *Colletotrichum* sp, *Alternaria* sp และ *Aspergillus niger*

Bullerman *et al.*,(1977) ได้รายงานว่าน้ำมันหอมระเหยจากกานพลูที่ระดับความเข้มข้น 200-250 ppm. สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยและการสร้างสาร aflatoxin ของ *Aspergillus parasiticus* ได้

Bhowmick and Vardhan (1981) พบว่าสารสกัดจากใบอ่อนของพืชสมุนไพรพวกตำแยตัวผู้หรือตำแยแมว*(Acalypha indica L.)*, คนทีเขมา*(Vitex negundo* L.), สะเดาอินเดีย(*Azadirachta indica* Juss.), นางแย้มป่าหรือขี้ขม(*Clerodendrum viscosum* Vent.), ผกากรอง(*Lantana camara* var.aculeata(L.)Mold.), ครั่วตายหงายเป็น(*Kalanchoe pinnata*(Lamk.) Pers.)และกรรณิการ์ (*Nyctanthes arbortritis* L.)(เต็ม, 2523) สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Curvularia lunata* ของข้าวฟ่างได้

Hitokoto *et al.*,1980 ได้ศึกษาประสิทธิภาพของสมุนไพรที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราพบว่า กานพลู โป๊ยกั๊ก สามารถยับยั้งการสร้างสารพิษของเชื้อ *Aspergillus* sp. และจากการสกัด eugenol จากกานพลูและ thymol จาก thyme ให้มีความเข้มข้น 0.4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร หรือน้อยกว่านั้น พบว่าสารเหล่านี้สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Aspergillus flavus* และ *Aspergillus versicolor* ส่วน anethole ที่สกัดได้จากเมล็ดโป๊ยกั๊ก ที่มีความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อนี้ได้ด้วยระดับความเข้มข้น 31 มิลลิกรัมต่อลิตร Sundaram *et al.*,(1982) ได้ศึกษาคุณสมบัติของสารสกัดจากเปลือกมังคุด(*Garcinia mangostana* L.)ซึ่งเป็นสารพวก xanthone,3-0–methyl mangostin ,3–6–di–0-methyl mangostin,1-isomangostin และ mangostin triacetate โดยทดสอบกับเชื้อสาเหตุโรคพืช พบว่า เชื้อราที่ใช้ทดสอบพวกที่ถูกยับยั้งการเจริญเติบโตได้สูงสุดคือชื้อ *Alternaria solani* ซึ่งเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดโรค early blight ในมันฝรั่ง และมะเขือเทศได้ เชื้อ*Mucor* sp.ซึ่งเป็นเชื้อสาเหตุในโรงเก็บเมล็ดพันธุ์ เชื้อ *Rhizopus nigricans* Ehrenb.ที่เป็นเชื้อสาเหตุโรค sweetpotato soft rot (Otis and Maloy., 1993) ส่วนพวกที่ถูกยับยั้งปานกลางได้แก่ *Aspergillus niger, Aspergillus flavus* และ *Penicillium* sp. ดีปลีที่ระดับความเข้มข้น 1-10 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งเชื้อ*Alternaria* sp., *Aspergillus* sp., *Curvularia* sp., *Emericella* sp., *Helminthosporium* sp., *Penicillium* sp., *Rhizopus* sp., *Sartorya* sp. และ *Trichoderma* sp., ส่วนเทียนขาวสามารถยับยั้ง *Curvularia* sp., *Helminthosporium* sp. เทียนตากบสามารถยับยั้ง *Alternaria* sp., *Curvularia* sp., *Helminthosporium* sp. และ *Sovtoya* sp.(เกษม , 2538)

Pegg and Ayres(1987) พบว่าหอมหัวใหญ่(*Allium cepa*)ที่มีสารประกอบของ catechol และกรดprotocatechuic สามารถต่อต้านเชื้อ *Colletotrichum circinas* และ *Diplodia natalensis* ที่ทำให้เกิดโรค seedling blight และ*Botrytis spp.*ที่เป็นสาเหตุโรคเน่าคอดินและต่อต้านเชื้อ *Macrophomina phaseolina* ที่ทำให้เกิดโรครากเน่าได้(Singhan *et al.*, 1999) และพบอีกว่าทิวลิบ (*Tulipa gesneriana*)ที่มีสารพวก tuliposides A,Bและ tulipalins A,B สามารถยับยั้งเชื้อ *Botrytis cinerea* และ *B. tulipae* ได้

พชรพงษ์ (2535) ได้ทำการ ศึกษาประสิทธิภาพของพืชสมุนไพร 10 ชนิด ได้แก่ กานพลู โป๊ยกั๊ก ขิง ผิวมะกรูด เทียนขาว ขมิ้นอ้อย กระเพรา ตะไคร้ พริกไทย และบอระเพ็ด มาเพื่อใช้ในการยับยั้งเชื้อ *Sclerorium rolfsii* Sacc. ที่เลี้ยงบนอาหาร PDA ในอัตราความเข้มข้น 1,2,3,4 และ 5 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ปรากฏว่า กานพลู โป๊ยกั๊ก และผิวมะกรูด เป็นสมุนไพรที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ดีที่สุด จากนั้นนำสารสกัดสมุนไพรทั้ง 3 ชนิด มาทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อราบนอาหาร PDA ในอัตราความเข้มข้น 0.1,1.5และ 10 เปอร์เซ็นต์ พบว่า กานพลูสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ดีที่สุด

วิราภรณ์ (2535) ได้นำพืชสมุนไพร 10 ชนิดคือ กระเพรา จัน พลู เทียนขาว เทียนข้าวเปลือก(*Foeniculum vulgare* Mill,var.dulce Alef.) เทียนแดง(*Lepidium sativum* Linn.) เทียนตาตั๊กแตน มะรุม สะระแหน่ และโหระพา มาทำการทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Curvularia lunata* ที่เป็นสาเหตุของโรคใบจุดของข้าวโพด โดยผสมผงสมุนไพรในอาหาร PDA ที่อัตราความเข้มข้นต่าง ๆ กัน พบว่าเทียนขาวและเทียนตั๊กแตน สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Curvularia lunata* ได้ดีที่สุดทุกระดับความเข้มข้น Sardsud *et al.*,(1992) พบว่าสารสกัดจากว่านน้ำ (*Acorus calamus* L.)ด้วยแอลกอฮอล์ความเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์ มีผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Lasiodiploda theobromae* สาเหตุโรคผลเน่าของลำไยบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ระดับความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์

รังสีและคณะ(2538) ได้รายงานว่า พืชสมุนไพรจำพวก กานพลู อบเชย โป๊ยกั๊ก กระเทียม สะระแหน่ กระเพรา ยี่หร่า จันทร์เทศ ตะไคร้หอม Origano Thyme ว่านน้ำ ดีปลี เทียนบ้าน มะรุม หม่อน มังคุด ผักแขยงและสะเดาอินเดีย สามารถยับยั้งเชื้อราที่เป็นสาเหตุโรคพืชได้หลายชนิดได้ แก่เชื้อ*Sclerotium rolfsii, Rhizoctonia solani, Drechaslera maydis, Curvularia lunata, Phyllostica hibisci, Helminthosporium spiciferum, Pythium* spp., *Colletotrichum* spp., *Aspergillus* spp., *Penicillium* sp., *Alternaria* spp. และ *Fusarium* spp.

Singh and Thakur (1990) ได้รายงานว่า น้ำคั้นจากหัวกระเทียมสด สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์ของเชื้อสาเหตุโรคพืชหลายชนิด ได้แก่เชื้อ *Alternaria solani, Alternaria tenuissma,*

Alternaria triticina, Colletotrichum sp., *Curvularia* sp., *Fusarium lini, Fusarium oxysporum , Fusarium semifectum* และ *Fusarium nevium* และน้ำมันหอมระเหยจากกระเพรา ตะไคร้หอม ผักแขยง สะระแหน่ สามารถยับยั้งเชื้อ *Colletotrichum capsici* ที่เป็นสาเหตุโรคแอนแทรคโนสของพริก และ *Colletotrochum gloesporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของมะม่วงได้

เมล็ดนั้นไม่จำเป็นต้องแช่น้ำก่อนคลุกเสมอไปและบางครั้งต้องใส่สารจับผิวเมล็ดด้วยขึ้นอยู่กับชนิดของพืชและชนิดของเชื้อโรค เพราะน้ำที่ใช้แช่เมล็ด บางทีอาจไปกระตุ้นการเจริญของเชื้อโรคที่ทำให้เชื้อโรคเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็วทั่วทั้งเมล็ดได้ วิธีการคลุกเมล็ดนั้นสามารถทำได้หลายวิธี(Agarwal and Sinclair, 1996) เช่น คลุกเมล็ดแห้ง, การใช้แป้งแห้ง, การใช้เหมือนแป้งเปียก, การจุ่มเมล็ด, การพ่นละออง และการเคลือบฟิล์ม

4. การเกิดสารองค์ประกอบเคมีที่สำคัญภายในเซลล์ของพืชสมุนไพร

ในปัจจุบันนี้มีการศึกษาเกี่ยวกับพืชสมุนไพรมากขึ้น ซึ่งณรงค์ (2536) ได้เปรียบเทียบสารสกัดจากพืชกับสารเคมีสังเคราะห์ที่ใช้ในการป้องกันกำจัดศัตรูทางการเกษตรทั่วไป แล้วพบว่าสารสกัดจากพืชมีข้อได้เปรียบมากมายดังนี้

สารสกัดจากพืช	สารเคมีสังเคราะห์
1. เลือกทำลายหรือทำลายเฉพาะเจาะจง	1. ทำลายครอบจักรวาล
2. มีความเป็นพิษต่ำหรือค่อนข้างต่ำ	2.มีความเป็นพิษตั้งแต่ต่ำถึงสูง
3. สลายตัวได้ง่าย	3. สลายตัวได้ยาก
4.ไม่มีอิทธิพลต่อระบบนิเวศน์หรือมีน้อย	4. มีอิทธิพลต่อระบบนิเวศน์มาก
5. ในปัจจุบันหาวัตถุดิบได้ยาก	5. หาได้ง่าย
6. มีราคาถูก	6. มีราคาแพง
7. มีโอกาสเกิดความต้านทานหรือดื้อยาน้อย	7. เกิดความต้านทานหรือดื้อยาได้ง่าย
8. มีต้นทุนการผลิตต่ำ	8. มีต้นทุนการผลิตสูง
9. ใช้เทคโนโลยีการผลิตที่ง่าย ๆ	9. ใช้เทคโนโลยีการผลิตที่ยุ่งยาก
10.ใช้กับศัตรูในดินให้ประสิทธิภาพสูงกว่าและมีพิษตกค้างต่ำกว่า	10.เกิดพิษตกค้างในดินสูง
11.ไม่มีลิขสิทธิ์หรือกฎหมายควบคุม	11. มีลิขสิทธิ์หรือกฎหมายควบคุม

ซึ่งในการเกิดสารองค์ประกอบทางเคมีของพืชสมุนไพรนั้นจะต้องประกอบด้วยชนิดของสารและปริมาณของสารต่างชนิดกัน หรือคล้ายกันของพืชสมุนไพรแต่ละชนิดขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อมและระยะการเจริญเติบโตของพืชด้วย เพราะการดำรงชีวิตของพืชขึ้นอยู่กับกระบวนการสังเคราะห์แสง(Photosynthesis) ดังสมการ

$$6CO_2 + 6H_2O \xrightarrow[\text{Light}]{\text{Chloroplast}} C_6H_{12}O_6 + 6O_2 + \text{Energy}$$

กล่าวคือเมื่อพืชดูดน้ำ คาร์บอนไดออกไซด์ และพลังงานจากแสงแดด ได้ออกซิเจนเข้าสู่กระบวนการหายใจ และคาร์โบไฮเดรทเข้าสู่กระบวนการต่าง ๆ คือ กระบวนการไกลโคไลซิส (Glycolysis) กระบวนการไตรคาร์บอกไซลิคแอซิคหรือกระบวนการเครบส์ (Tricarboxylic acid cycle or Kreb's cycle) ได้สารประกอบมากมายได้แก่ กรดอะมิโน (amino acid) กรดไขมัน(fatty acid) กลีเซอรอล (glycerol) ด่าง (alkali) กรด (acid) อัลคาลอยด์ (alkaloid) ไกลโคซายด์ (glycosides) สารเมือกมิวซิเลจ (mucilage) สารเมือกกัม (gum) น้ำยางลาเทกซ์ (latex) สารฝาด (tannin) และน้ำมันหอมระเหยง่าย (volatile oils)

สารประกอบดังกล่าวได้จากพืชสมุนไพร ขึ้นอยู่กับกระบวนการชีวสังเคราะห์สาร (biosynthesis) ของพืชแต่ละชนิด และแหล่งถิ่นอาศัย (Habitat or Geograaphical source) ถ้าพืชชนิดเดียวกันนำไปปลูกในที่สภาพแวดล้อมไม่เหมือนกัน ก็อาจสร้างสารประกอบได้ต่างกัน ทำให้องค์ประกอบสำคัญ (Active coonstituents) ในพืชเปลี่ยนไป ดังนั้นก่อนที่จะนำพืชสมุนไพรชนิดใดมาใช้ควรทราบถึงแหล่งที่มาของพืชสมุนไพร ระยะการเจริญเติบโต และชนิดของพืชต้องแน่นอน ถูกต้อง จึงควรมีการทดสอบทุกครั้งเมื่อสภาพแวดล้อมถูกเปลี่ยนไป ถ้าเป็นพืชสมุนไพรที่ปลูก หรือมาจากแหล่งการค้าพืชสมุนไพรจะทำการทดสอบครั้งเดียวอาจเพียงพอ

4.1 สารองค์ประกอบของพืชสมุนไพร (Consituents of medicinal plants)

สามารถแบ่งสารองค์ประกอบได้ 2 ชนิด ดังนี้

- แบ่งตามการเกิดของสาร ประกอบด้วย

1. สารประกอบพื้นฐาน (primary consituents) ได้แก่ คาร์โบไฮเดรตและโปรตีน
2. สารประกอบเชิงซ้อน (secondary consituents) ได้แก่ กรด เมือก กัม ชัน น้ำยาง แทนนิน อัลคาลอยด์ ไกลโคซายด์ น้ำมันระเหยง่าย น้ำมันชัน และอื่น ๆ

- แบ่งตามฤทธิ์ของสาร ประกอบด้วย

1. องค์ประกอบสำคัญ (active consituents) ได้แก่

-ทางเภสัชกรรม (pharmaceutically active consituents)

-ทางการรักษา (therapeutic active or pharmacological consituents)

2. องค์ประกอบไม่แสดงฤทธิ์รักษาโดยตรง (innert consituents) โดยจะมีองค์ประกอบในการไปเสริมฤทธิ์หรือต้านฤทธิ์ขององค์ประกอบสำคัญ

สารประกอบในพืชแต่ละชนิดมีคุณสมบัติที่แตกต่างกันออกไป สารสำคัญที่มีฤทธิ์ทางยาของพืชสมุนไพรแบ่งได้ดังนี้คือ

อัลคาลอยด์ (Alkaloids) เป็นสารที่มีรสขม มีไนโตรเจนเป็นส่วนประกอบมีคุณสมบัติเป็นด่าง เมื่ออยู่ในรูปของเกลือจะละลายน้ำได้ แต่ถ้าอยู่ในรูปด่างจะละลายในตัวทำละลายซึ่งละลายไขมันได้ดี สารที่เป็นอัลคาลอยด์นี้มักลงท้ายด้วย –ine เช่น ควินิน(quinine) นิโคติน(nicotine) อะโทรฟีน(atropine)ที่พบในต้นลำโพงมีฤทธิ์ในการลดการบีบตัวของลำไส้จึงใช้ผสมในยาแก้ปวดท้อง (วิจิตรและสุวิมล, 2531)

ไกลโคไซด์ (Glycosides) เป็นสารประกอบซึ่งมี 2 ส่วน คือส่วนที่เป็นน้ำตาล และไม่ใช่น้ำตาล การมีน้ำตาลมาเกาะทำให้สารนั้นสามารถละลายน้ำได้ดีขึ้น ส่วนที่ไม่ใช่น้ำตาลเป็นสารพวกอินทรีย์เคมี ซึ่งมีสูตรโครงสร้างและฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาแตกต่างกัน เช่น antraquinone จะมีฤทธิ์เป็นยาถ่าย steriod หรือ tritepene จะมีฤทธิ์ลดการอักเสบหรือขยายหลอดลม หรือ saponins มีคุณสมบัติทำให้เม็ดเลือดแดงแตก เป็นพิษต่อสัตว์เลือดเย็นเช่น ปลา

น้ำมันหอมระเหย (Essential oils) เป็นสารที่มีอยู่ในพืชโดยทั่วไปมีกลิ่นหอม เป็นส่วนผสมของสารเคมีหลายชนิด(Jenkins *et al*, 1967)เช่น

-ไฮโดรคาร์บอน(Hydrocarbon)จะมีพวก acyclic เช่น heptane และmyrcene และพวก isocyclic ได้แก่ pinene และ camphene

- แอลกอฮอล์ (Alcohol) อยู่เป็นอิสระหรืออยู่รวมกับกรดกลายเป็นเอสเทอร์ (ester) ได้แก่ linalool,geraneol

- อัลดีไฮด์ (Aldehyde) ได้แก่ benzaldehyde และ cinnamic aldehyde

- คีโตน (Ketone) ได้แก่ camphore,carvone และ menthone เป็นต้น

- ฟีนอล (Phenol) ได้แก่ anethol,eugenol และ carvecrol เป็นต้น

กรด (Acid) บางครั้งปรากฏอยู่ในรูปอิสระในปริมาณที่น้อย โดยทั่วไปจะอยู่ในรูปของ acetic acid,propionic acid,butyric acid เป็นต้น

ซัลเฟอร์(Sulfur) เช่น allyl และ isothiocyanate(mustard oil)

แทนนิน (Tannin) เป็นสารประกอบที่พบในพืชโดยทั่วไป เช่น คะน้า มีฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ มีรสฝาด มีฤทธิ์เป็นกรดอ่อน ๆ สามารถตกตะกอนโปรตีน เมื่อถูกกับเกลือคลอไรด์ของเหล็กจะได้สีเขียว น้ำเงินหรือดำ

กัม (Gum) กัมหรือยางไม้เป็นของเหนียวในพืช เมื่อเรากรีดหรือทำให้พืชนั้นเป็นแผล บางชนิดนำมาทำเป็นยา

ลาเท็กซ์ (Latex) เป็นน้ำยางสีขาวคล้ายน้ำนม ประกอบด้วยแป้งกับเรซิน (resin) และสารอื่น ๆ บางชนิดมีสารเคมีซึ่งเมื่อรวมกับสารบางอย่างจะทำให้เกิดมะเร็ง(co-carcinogen) เรียกว่า phorbol

สเตียรอยด์ (Steroids) เป็นสารประกอบในพืชที่ละลายไขมันได้ เป็นสารเคมีประกอบด้วยคาร์บอนมาเรียงตัวกันเป็นรูป 6 เหลี่ยม 3 อัน ต่อกับรูป 5 เหลี่ยม 1 อัน อาจมีออกซิเจนจับอยู่ที่ตำแหน่งต่าง ๆ สารบางตัวจึงเป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ยาต้านการอักเสบและฮอร์โมน

เฟลโวนอยด์ (Flavonoids) เป็นสารที่ประกอบด้วยคาร์บอน 3 ส่วนมาต่อกัน คือ C_6-C_3-C_6 มีออกซิเจนอยู่ในโมเลกุลมาก มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาต่าง ๆ เช่น ลดการอักเสบ ขยายหลอดลม

ไซยาโนเจนิคไกลโคไซด์ (Cyanogenic glycoside) เป็นสารเคมีที่อยู่ในพืชเมื่อถูกย่อยด้วยเอนไซม์หรือปฏิกริยาทางเคมีจะให้ไซยาไนด์ ซึ่งเป็นพิษต่อร่างกาย เนื่องจากไปแย่งจับเม็ดเลือดแดง ทำให้เม็ดเลือดแดงไม่สามารถจับกับออกซิเจนได้ สารพวกนี้ถูกทำลายได้ง่ายโดยใช้ความร้อน เช่นในใบมันสำปะหลังควรต้มก่อนแล้วนำมารับประทาน

4.2 สารสกัดสารออกฤทธิ์จากพืช

4.2.1 อารมณ์(2536) กล่าวว่าสารสกัดจากพืชทำได้ 4 วิธีคือ

4.2.1.1 การกลั่นด้วยไอน้ำ (Stream distillation) วิธีนี้ใช้ในการสกัดสารออกฤทธิ์ที่มีคุณสมบัติสามารถละลายและระเหยออกมาพร้อมกับไอน้ำ เช่น พวกน้ำมันหอมระเหย (volatile oil) นำไอน้ำจากน้ำเดือดที่มีกำลังดันสูง ผ่านลงไปในพืชที่บดละเอียด สารที่อยู่ในพืชที่สามารถละลายได้ในไอน้ำจะละลายออกมาพร้อมกับไอน้ำ แล้วผ่านเข้าสู่ท่อทำความเย็น ไอน้ำจะจับตัวควบแน่น แล้วกลายเป็นหยดน้ำไหลลงสู่ภาชนะที่รองรับ นำสารละลายหรือชั้นของน้ำมันหอมระเหยมาทำให้บริสุทธิ์ แล้วนำมาทดสอบคุณสมบัติและประสิทธิภาพกับศัตรูพืช

4.2.1.2 การสกัดแบบซอคเลท (Soxhlet extraction) การสกัดแบบนี้จะใช้เวลา 8-24 ชั่วโมง แต่จะใช้ให้ได้ผลดีกับตัวอย่างที่เป็นผงละเอียด โดยต้มตัวอย่างให้เดือดแล้วไอของสารละลายที่เป็นตัวทำละลายจะไปหมุนเวียนไหลผ่านตัวอย่างผงหลาย ๆ ครั้ง และจะสกัดสารออกฤทธิ์ที่มีอยู่ในพืชออกมาด้วยแล้วไหลกลับสู่ภาชนะรองรับ ซึ่งให้ความร้อนอยู่ตลอดเวลา ตัวทำ

ละลายจะระเหยกลับขึ้นไปใหม่ โดยระเหยผ่านท่อทำความเย็น(condenser) แล้วจับตัวเป็นหยดน้ำไหลลงไปในตัวอย่างพืชใหม่

4.2.1.3 การสกัดด้วยสารเคมีโดยวิธีแยกชั้น (Partition) ใช้สำหรับตัวอย่างพืชสด โดยนำมาหั่นเป็นท่อน สั้น ๆ ปั่นกับน้ำยาเคมีในเครื่องปั่น (blender) แล้วกรองผ่านกระดาษกรอง นำสารละลายที่ได้มาสกัดด้วยน้ำยาเคมี เพื่อทำให้มีความบริสุทธิ์มากขึ้น แล้วนำไปใช้ในการทดสอบประสิทธิภาพต่อไป

4.2.1.4 การหมัก (Fermentation) หรือการทำให้วัสดุอ่อนนุ่มด้วยการแช่น้ำ (maceration) คือ การนำเอาตัวอย่างพืชที่บดละเอียด 1 กิโลกรัม เติมน้ำลงไป 20 ลิตร กวนบ่อย ๆ ให้ผสมกันดีแล้วตั้งทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง นำมากรองเอากากออกนำเอาส่วนที่เป็นน้ำไปใช้

4.2.2 สมพร (2541) กล่าวว่าสามารถนำพืชสมุนไพรมาหั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ ชั่งให้ได้ 60 กรัม นำไปสกัดโดย

4.2.2.1 หั่นแช่กรอง หั่นสมุนไพร 60 กรัม แช่ในน้ำ 100 มล. 16 ชม. (แช่ค้างคืน) กรองด้วยผ้ากรองเนื้อละเอียดพับ 2 ชั้นแล้วกรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 1,5และ 42 ตามลำดับนำสารสกัดที่กรองได้ไปผสมกับ PDA

4.2.2.2 ปั่นแช่กรอง นำสมุนไพร 60 กรัม ปั่นให้ละเอียดด้วยเครื่องปั่นยี่ห้อ Moulinex ขนาดจุ 2 ลิตร แช่ค้างคืน 16 ชม.กรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1,5 และ 42 ตามลำดับ แล้วผสมกับ PDA

4.2.2.3 ปั่นกรอง นำสมุนไพรมาปั่น แต่ไม่ต้องแช่ค้างคืน โดยนำสารสกัดที่ได้กรองผ่านกระดาษกรองแล้วนำไปผสมกับ PDA ทันที

5. เชื้อรา *Macrophomina phaseolina* และลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อ

เชื้อรา *Macrophomina phaseolina* เป็นทั้งเชื้อที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์และติดมากับดิน (seed and soil borne pathogen)สามารถเข้าทำลายพืชได้หลายชนิด(Gangopadhyay.S.*et al.*, 1970) เช่น ข้าวโพด ข้าวฟ่าง ถั่วเหลือง งา และถั่วเขียว ทำให้เกิดโรคเน่าดำ (charcoal rot) โดยมีอาการคือรากเน่าดำ เปื่อยยุ่ย มีเม็ด sclerotia เล็ก ๆ สีดำ ต่อมาพืชจะแสดงอาการใบเหลือง แห้งตาย และยืนต้นแห้งตายไปในที่สุด(ณัฏฐิกา, 2534) นอกจากนี้แล้ว Nath *et al.*(1970) ได้ใช้เมล็ดถั่วเขียวผิวมันคลุกเชื้อรา *Macrophomina phaseolina* และเทลงดินพบว่า เมล็ดถั่วเขียวผิวมันนั้นสามารถงอกเป็นต้นกล้าได้ แต่ส่วนรากจะเน่าดำ เปื่อย ซึ่งในถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำเชื้อเข้าทำลายบนใบ กิ่งก้าน และบางส่วนของลำต้นด้วย ทำให้เป็นโรคใบจุด และโรคไหม้ นอกจากนี้แล้วเชื้อยัง

สามารถติดไปกับเมล็ด ทำให้เมล็ดเน่าดำและเมื่อนำไปเพาะเป็นถั่วงอกแล้วทำให้เกิดรอยด่างดำที่ลำต้นและราก(กัญจนา, 2531) ซึ่งไม่เป็นที่ต้องการของตลาดผู้บริโภคทั้งภายในและภายนอกประเทศ โดยเชื้อ *Macrophomina phaseolina* นี้เป็น imperfect asexual fungi ที่ผลิตสปอร์ในรูปแบบ pycnidia ซึ่งเชื้อนี้เส้นใย มีเส้นกั้นผนัง เส้นใยแตกแขนงมีการคอดที่จุดร่วม (Sinclair, 1984) การสร้างเม็ดสเคลอโรเตียมพบว่ามีลักษณะเรียบ และกลมไปจนถึงรีหรือมีรูปร่างไม่แน่นอน เริ่มแรก ปลายเส้นใยจะเข้ามารวมเป็นก้อนหลวม ๆ ไขว้กันเป็นร่างแหต่อมาจะเกาะกันแน่นเป็น 1 หน่วย เม็ดสเคลอโรเตียมจับตัวเกาะกันแน่นโดยมีสารเชื่อมคล้ายเมือกเหนียวเคลือบอยู่ เม็ดสเคลอโรเตียม 1 เซลล์ประกอบด้วย 1-3 nuclei เส้นผ่าศูนย์กลางมีขนาด 75-150 ไมโครเมตร พบไมโตรคอนเดรียมีจำนวนมาก นอกจากนี้ยังพบ endoplasmic reticulum, lomasome, woronin bodies, pigment และlipid droplets ในแต่ละเซลล์ของเม็ดสเคลอโรเตียมสามารถงอกและทำหน้าที่ต่าง ๆ ได้ นั่นคือสร้างเอนไซม์ cellulase และ pectinase ในเซลล์พืชมีรูเปิดที่สามารถใช้เป็นทางผ่านของไซโตรพลาสซึมได้ เชื้อ *Macrophomina phaseolina* นี้จะสร้างโคโลนีในอาหาร PDA มีตั้งแต่สีขาว เทา น้ำตาลและมีสีเข้มขึ้นเมื่อเชื้อรามีอายุมากขึ้น (Sinclair and Brown, 1970)

5.1 การติดเชื้อผ่านทางเมล็ด (Mechanism of Seed Transmission)

เมื่อปลูกด้วยเมล็ดที่มีเชื้อ เชื้อจะเข้าทำลายเมล็ดหรือต้นกล้าที่งอกขึ้นมา จากนั้นก็เคลื่อนย้ายทำความเสียหายกับพืชต้นอื่น ๆ และติดกับเมล็ด เมื่อนำเมล็ดมาทำพันธุ์เชื้อก็จะทำลายต้นกล้าและต้นอื่น ๆ ตลอดจนมีการติดเมล็ดเป็นวงจรต่อไปเรื่อย ๆ คือ

การติดเชื้อในเมล็ด (seed infection) ของ *Macrophomina phaeseolina* เชื้อราอาศัยที่ embryo, endosperm, seed coat อยู่ในรูปของเส้นใย สปอร์ สร้าง sclerotia และ pycnidia ที่ติดบริเวณเปลือกและendosperm เช่นในเมล็ดทานตะวันเมื่อเกิดการติดเชื้อ *Macrophomina phaseolina* แล้วจะมีผลในการทำให้ความงอกลดลงและเข้าทำลายส่วนของราก ยอด ใบเลี้ยงและ hypocotyl (Fakir *et al.*, 1976) โดยที่ในขั้นแรกของการงอก เมื่อเมล็ดดูดน้ำเข้าไปเพื่อกระตุ้นกลไกต่าง ๆ รวมทั้งสร้าง enzyme ให้ไปย่อยโมเลกุลขนาดใหญ่ให้เป็นโมเลกุลขนาดเล็ก ซึ่งในระยะนี้อาจจะเหมาะสมกับการเจริญเติบโต และการเข้าทำลายของเชื้อที่ติดมากับเมล็ด เช่น ในเมล็ดฟักทอง ซึ่ง Sultanta *et al.*, (1994) กล่าวว่าเมล็ดฟักทองที่ทดสอบโดยวางบนอาหาร PDA นั้นไม่สามารถงอกได้เลยเพราะเกิดการเข้าทำลายของเชื้อรา โดยจะสร้าง mycelium และ sclerotia สีเทาปนดำปกคลุมเมล็ด มีผลทำให้เมล็ดเน่า ก่อนที่จะงอก หรือหากเมล็ดงอกออกมาจะได้ต้นกล้าที่มีเชื้อปนเปื้อน

5.2 การเข้าทำลายของเชื้อ

เมื่อเชื้อ *Macrophomina phaseolina* อยู่ในดินจะอยู่ในรูปของเม็ดสเคลอโรเตียม (microsclerotia)ที่เป็นแหล่งการเกิดเชื้อขั้นแรก (primary source innocculum) (Papavizas and Klag, 1975) และเมื่อสภาพแวดล้อมเหมาะสมก็จะเข้าทำลายพืชปลูกทันที โดยที่สเคลอโรเตียมจะงอกบนผิวของราก และสร้าง germ tube แทงทะลุเข้าไปผ่านทาง epidermis cell หรือเข้าทางรูเปิดธรรมชาติ เส้นใยเริ่มแรกจะเจริญระหว่างเซลล์ แล้วแทงเข้าไปใน xylem cell จากนั้นจะพัฒนาเป็นเม็ดสเคลอโรเตียมจนทำให้เกิดการอุดตันในท่อน้ำท่ออาหาร นอกจากนี้แล้วเชื้อรายังสามารถปนเปื้อนได้ทั้งภายในและภายนอกเมล็ดถั่วเขียว โดยบริเวณ seed coat เป็นที่อยู่อาศัยของเชื้อรา ซึ่งเชื้อ *Macrophomina phaseolina* นี้สามารถมีชีวิตใน seed coat ได้เป็นเวลา 2-3 ปีมีผลทำให้ความงอกลดลง (Sinclair and Brown, 1970) ในเมล็ดถั่วเขียวจะพบการสร้าง pycnidium เมื่อสภาพแวดล้อมเหมาะสมเชื้อราจะเจริญเติบโตออกมาแล้วเข้าทำลายเมล็ดทันที