Agricultural Sci. J. 47 : 3 (Suppl.) : 55-58 (2016) ว. วิทย. กษ. 47 : 3 (พิเศษ) : 55-58 (2559)

ประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบใบมะกรูด (*Citrus hystrix* DC.) ด้วยเอทานอลในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดด่างของข้าวในสภาพห้องปฏิบัติการ

In vitro Efficiency of Ethanol Crude Extract of Kaffir Lime (*Citrus hystrix* DC.) Leaf Against Fungi Causing Dirty Panicle Disease in Rice

สุริยสิทธิ์ สมนึก[1] นคร บุญน้อย[1] และถนิมนันต์ เจนอักษร[1]

Suriyasit Somnuek[1], Nakorn Boonnoi[1] and Tanimnun Jeanaksorn[1]

Abstract

Dirty panicle disease in rice caused by multiple fungus species. In this study, 6 isolates of *Curvularia* spp, 2 isolates of *Helminthosporium* sp. and 4 isolates of *Fusarium* spp. were isolated from dirty panicle rice seeds from Suphanburi and Bangkok province and then were proven for pathogenicity on 2 popular varieties of rice namely Suphanburi 1 and Pitsanulok 2. *Curvularia* sp (C5), *Helminthosporium* sp. (H1) and *Fusarium* sp. (F2) were found to be the most virulent isolates. Then, antifungal activity of ethanol crude extract of kaffir lime (*Citrus hystrix*) was *in vitro* determined against mycelial growth and spore germination of the most virulent isolates (C5, H1 and F2) of disease causing fungi. Regarding the poisoned food assay, its ethanol crude extract at 20,000 ppm was found highly effective against all 3 tested fungi as about 63% mycelial inhibition was obtained. About 50% mycelial inhibition was obtained at the concentration of 5,000 and 10,000 ppm whereas only 10-20% was shown at 500 ppm. Regard to spore germination test, the extract was found more effective than that on mycelial growth as more than 80% spore germination inhibition was obtained even at the lowest concentration of extract (500 ppm).

Keywords: *Citrus hystrix*, Dirty panicle disease, Fungal activity

บทคัดย่อ

โรคเมล็ดด่างในข้าวเกิดจากเชื้อราสาเหตุโรคหลายชนิด จากการนำตัวอย่างเมล็ดข้าวในแปลงปลูกจากจังหวัดสุพรรณบุรีและกรุงเทพมหานคร ที่แสดงอาการโรคเมล็ดด่างมาแยกเชื้อสาเหตุ พบเชื้อรา *Curvularia* sp. จำนวน 6 ไอโซเลท, *Helminthosporium* sp. 2 ไอโซเลท และ *Fusarium* sp. 4 ไอโซเลท และนำไปทดสอบความสามารถในการก่อให้เกิดโรคบนกล้าข้าวจำนวน 2 พันธุ์ คือ สุพรรณบุรี 1 และ พิษณุโลก 2 พบว่า เชื้อรา *Curvularia* sp. (C5), *Helminthosporuim* sp. (H1) และ *Fusarium* sp. (F2) ก่อให้เกิดโรครุนแรงที่สุด จากนั้นทำการประเมินประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากใบมะกรูด ในสภาพห้องปฏิบัติการต่อการเจริญของเส้นใยและการงอกของสปอร์เชื้อรา C5, H1 และ F2 พบว่า ในการทดสอบโดยวิธี Poisoned food technique สารสกัดหยาบดังกล่าวที่ระดับความเข้มข้น 20000 ppm มีประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราทดสอบทุกไอโซเลทได้ดีที่สุด โดยมีการยับยั้งร้อยละ 63 และที่ระดับความเข้มข้น 5000 และ 10000 ppm ยับยั้งได้ร้อยละ 50 ในขณะที่ความเข้มข้น 500 ppm ยับยั้งได้อยู่ในช่วงร้อยละ 10-20 ซึ่งแตกต่างจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สำหรับการทดสอบการงอกของสปอร์ พบว่าประสิทธิภาพในการยับยั้งสูงกว่าที่ทดสอบกับเส้นใย โดยที่ความเข้มข้นต่ำที่ทดสอบ (500 ppm) ยับยั้งการงอกของสปอร์ได้สูงถึงร้อยละ 80

คำสำคัญ: *Citrus hystrix,* โรคเมล็ดด่าง, ฤทธิ์ต้านเชื้อรา

บทนำ

ข้าว เป็นพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศไทย โดยเกษตรกรจะปลูกข้าวไว้เพื่อบริโภค รวมทั้งขายภายในและต่างประเทศ โดยมีพื้นที่ปลูกข้าวคิดเป็นครึ่งหนึ่งของพื้นที่เพาะปลูกพืชทั้งประเทศ ในการเพาะปลูกข้าวนั้น เกษตรกรมักพบการเข้าทำลายของเชื้อราสาเหตุโรคข้าวซึ่งเป็นปัญหาที่สำคัญ ทำให้ข้าวเกิดความเสียหายทางเศรษฐกิจทั้งด้านปริมาณและคุณภาพ โดยเชื้อรานั้นจะทำให้เกิดโรคกับข้าวหลายโรคด้วยกัน เช่น โรคกาบใบไหม้ โรคถอดฝักดาบ โรคใบจุด โรคไหม้ รวมทั้งโรคเมล็ดด่าง ก็เป็นหนึ่งในโรคที่สำคัญของข้าว ก่อให้เกิดความเสียหายตั้งแต่ ช่วงดอกข้าวเริ่มโผล่จากกาบหุ้มรวงจนถึงระยะเมล็ดข้าวเริ่มเป็นน้ำนม และอาการเมล็ดด่างจะปรากฏเด่นชัดในระยะใกล้เก็บเกี่ยว ส่งผลให้เมล็ดพันธุ์เสื่อมคุณภาพเมล็ดข้าว

[1] คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร 10520

[1]Faculty of Agricultural Technology, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrbang, Bangkok 10520

ลีบไม่เหมาะต่อการบริโภค ยิ่งไปกว่านั้นเชื้อราปนเปื้อนหรือติดไปกับเมล็ดข้าวสามารถอยู่ข้ามฤดูได้ หากนำเมล็ดพันธุ์ที่มีเชื้อราติดมากับเมล็ดไปเพาะปลูกจะทำให้ เกิดโรคกล้าเน่า และสร้างความเสียหายกับกล้าข้าวบริเวณใกล้เคียงได้ โรคเมล็ดด่างหรือโรคที่ติดมากับเมล็ดมีสาเหตุมาจากเชื้อรา คือ *Curvularia lunata* (Wakk) Boed., *Cercospora oryzae* I.Miyake., *Helmintrosporiuum oryzae* Breda de Haan., *Fusarium semitectum* Berk & Rav., *Trichoconis padwickii* Ganguly และ *Sarocladium oryzae* Sawada. (กรมการข้าว, 2552) ปัจจุบันนักวิจัยจึงจำเป็นต้องหาวิธีการต่างๆ ในการป้องกันกำจัดเชื้อราสาเหตุโรคดังกล่าว เพื่อหลีกเลี่ยงการใช้สารเคมีสังเคราะห์ที่เป็นอันตรายต่อเกษตรกร ผู้บริโภคและสิ่งแวดล้อม เช่นการใช้สารสกัดและน้ำมันหอมระเหยจากพืชสมุนไพร ก็ได้รับความนิยมเช่นกัน มะกรูดเป็นพืชสมุนไพรที่มีประโยชน์ที่หลากหลาย รวมทั้งมีรายงานถึงประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคสำคัญในข้าวได้หลายชนิด เช่น *Aspergillus* sp., *As. terreus*, *Alternaria brassicicola*, *Curvularia lunata*, *Pyricularia arisea*, *Penicillium* sp., *Rhizoctonia solani* และ *Rhizopus stolonifera*, (Thobunluepop *et al*., 2009; วริศรา และคณะ, 2553; ศานิต, 2555) ดังนั้นคณะผู้วิจัยจึงมีแนวความคิดที่จะนำสารสกัดหยาบจากมะกรูดมาศึกษาประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยและการงอกของสปอร์เชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดด่างของข้าวในสภาพห้องปฏิบัติการ

อุปกรณ์และวิธีการ

การเตรียมสารสกัดเอทานอล

นำใบมะกรูดมาล้างให้สะอาด จากนั้นนำไปอบให้แห้งด้วยเครื่อง Hot air oven ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส แล้วนำใบที่แห้ง แช่ในเอทานอล (ethanol) 90 เปอร์เซ็นต์ อัตราส่วน 1:9 (w/v) เป็นเวลา 3 วัน ที่อุณหภูมิห้อง หลังจากนั้นนำสารสกัดที่ได้มากรองผ่านกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 93 และนำไประเหยเอาตัวทำละลายออก ด้วยเครื่อง rotary evaporator ที่อุณหภูมิ 44 องศาเซลเซียส จนได้สารสกัดที่มีลักษณะข้นเหนียว เก็บสารสกัดไว้ในขวดแก้วสีชา เพื่อใช้ในการทดลองต่อไป โดยกำหนดเป็นความเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์

1. การแยกเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดด่างในข้าวและการทดสอบความสามารถในการเกิดโรค

การแยกเชื้อราสาเหตุโรค โดยการเก็บตัวอย่างเมล็ดที่แสดงอาการของโรค จากพื้นที่เขตภาคกลางของประเทศไทยมาแยกเชื้อราสาเหตุโรคโดยวิธี Tissue transplanting technique จนได้เชื้อบริสุทธิ์ จากนั้นนำเชื้อได้มาทำการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาพร้อมทั้งจัดจำแนกเชื้อเพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

การทดสอบความสามารถในการเกิดโรค โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 3 ซ้ำ ซ้ำละ 5 ต้น บนต้นกล้าข้าว 2 สายพันธุ์ คือ พิษณุโลก 2 และ สุพรรณบุรี 1 ซึ่งเป็นพันธุ์ข้าวที่มีความต้านทานต่อการระบาดของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลและมีให้ผลผลิตที่สูง) โดยทำการเตรียมสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรคแต่ละไอโซเลทที่แยกได้ ความเข้มข้น 10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ฉีดพ่นบนต้นกล้าข้าวอายุ 14 วัน ปริมาณ 5 มิลลิลิตรต่อซ้ำ บันทึกผลการทดลองด้วยการสังเกตความผิดปกของข้าวพร้อมกับการคำนวณเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคและความรุนแรงของโรค จากนั้นจึงคัดเลือกเชื้อราที่แสดงความรุนแรงในการก่อโรคไปทำการทดลองต่อไป

2. การศึกษาอิทธิพลของสารสกัดมะกรูดต่อการเจริญทางเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดด่าง

ศึกษาอิทธิพลสารสกัดมะกรูด ที่ระดับความเข้มข้น 5000, 10000 และ 20000 ppm ต่อการเจริญทางเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคที่ติดมากับเมล็ด ด้วยวิธี Poisoned food assay และวางแผนการทดลองแบบ Completely randomized design (CRD) จำนวน 5 ซ้ำ ด้วยการนำสารสกัดมะกรูดที่เตรียมไว้ผสมกับอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato dextrose agar (PDA) ให้ได้ความเข้มข้นของสารสกัดตามที่ระบุไว้ข้างต้น และเทลงจานอาหารเลี้ยงเชื้อ จากนั้นใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร เจาะบริเวณขอบของโคโลนีของเชื้อราสาเหตุโรคพืชทดสอบอายุ 7 วัน และย้ายชิ้นวุ้นเชื้อราไปวางกึ่งกลางจานอาหารเลี้ยงเชื้อผสมสารสกัดที่เตรียมไว้ สำหรับในชุดควบคุมจะใช้น้ำนึ่งฆ่าเชื้อ (Negative control) และสารเคมีอามูเร่ความเข้มข้น 6 ppm (Positive control) แทน บันทึกผลการทดลอง โดยวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของโคโลนีเชื้อราทดสอบทุกวันพร้อมทั้งคำนวณค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญ (Growth Inhibition : GI) ในวันสุดท้าย ตามสูตร $GI = (R_1-R_2)/R_1 \times 100$ โดย R_1 = ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของโคโลนีเชื้อราทดสอบในชุดควบคุม (0 ppm) และ R_2 = ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของโคโลนีเชื้อราทดสอบในอาหารผสมสารสกัดในแต่ละความเข้มข้น

3. การศึกษาอิทธิพลของสารสกัดมะกรูดต่อการงอกของสปอร์เชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดด่าง

ศึกษาอิทธิพลของสารสกัดมะกรูดที่ความเข้มข้นของสารสกัดเท่ากับ 0, 500, 5000, 10000 และ 20000 ppm ต่อการงอกของสปอร์ของเชื้อราทดสอบ ด้วยวิธี Spore germination assay และวางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 3 ซ้ำ โดยการ

เตรียม spore suspension ของเชื้อราทดสอบ จากนั้นดูด spore suspension ของเชื้อราทดสอบ ผสมกับสารสกัดลงหลอดทดลองขนาดเล็ก ให้ได้ความเข้มข้นของสปอร์เท่ากับ $1x10^6$ สปอร์ต่อมิลลิลิตร และความเข้มข้นของสารสกัดเท่ากับตามที่กำหนดไว้ข้างต้น นำไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง และตรวจนับเปอร์เซ็นต์การงอกของสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ที่เวลา 12, 24 และ 48 ชั่วโมง

ผลการทดลอง

1. ผลการแยกเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดด่างในข้าวและการทดสอบความสามารถในการเกิดโรค

จากการเก็บตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ข้าวที่แสดงอาการโรคในเขตจังหวัดสุพรรณบุรี และแปลงปลูกข้าว สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ มาทำการแยกเชื้อราสาเหตุโรคโดยวิธี Tissue transplanting technique พบว่า เชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดด่างที่แยกทั้งหมด 12 ไอโซเลท และจัดจำแนกเชื้อราได้ 3 ชนิด ได้แก่ เชื้อรา *Curvularia* sp. จำนวน 6 ไอโซเลท, *Fusarium* sp. จำนวน 4 ไอโซเลท และ *Helminthosporium* sp. จำนวน 2 ไอโซเลท (Table 1)

จากนั้น นำเชื้อราทั้ง 12 ไอโซเลทไปทดสอบความสามารถในการก่อโรคบนกล้าข้าว จำนวน 2 พันธุ์ คือ พิษณุโลก 2 (PL2) และ สุพรรณบุรี 1 (SP1) ซึ่งผลการทดสอบพบว่า เชื้อรา C5, F2 และ H1 แสดงความรุนแรงของโรคมากที่สุด อยู่ในช่วง 68.3-71.6, 46.6-55 และ 78.33-81.6 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ดังนั้นจึงคัดเลือกเชื้อราไอโซเลทดังกล่าว ไปทำการทดสอบต่อไป

2. ผลการศึกษาอิทธิพลของสารสกัดเอทานอลจากใบมะกรูดต่อการเจริญทางเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดด่าง

จากการศึกษาอิทธิพลสารสกัดมะกรูดที่ระดับความเข้มข้น 500, 5000, 10000 และ 20000 ppm ต่อการเจริญทางเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดด่าง ด้วยวิธี Poisoned food assay พบว่า สารสกัดเอทานอลจากใบมะกรูดทุกความเข้มข้นสามารถยับยั้งการเจริญทางเส้นใยของเชื้อราทุกชนิดที่ทดสอบได้ กล่าวคือ สารสกัดดังกล่าวทุกความเข้มข้นสามารถยับยั้งการเจริญทางเส้นใยของเชื้อรา *Helminthosporium* sp. (H1) ได้ดีที่สุด อยู่ในช่วง 22.2-63.7 เปอร์เซ็นต์ เชื้อรา *Curvularia* sp. (C5) ถูกสารสกัดความเข้มข้น 5000-20000 ppm ยับยั้งอยู่ในช่วง 38.8-59.5 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่เชื้อรา *Fusarium* sp. (F2) ถูกยับยั้งอยู่ในช่วง 10-31.3 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งแตกต่างจากชุดควบคุม (0 ppm) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Figure 1)

3. ผลการศึกษาอิทธิพลของสารสกัดเอทานอลจากมะกรูดต่อการงอกของสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดด่าง

การศึกษาอิทธิพลของสารสกัดเอทานอลจากใบมะกรูด 4 ความเข้มข้น ต่อการงอกของสปอร์เชื้อสาเหตุโรคเมล็ดด่าง พบว่า สารสกัดดังกล่าวที่ระดับความเข้มข้น 5000, 10000 และ 20000 ppm สามารถยับยั้งการงอกของเชื้อราที่ทดสอบทุกไอโซเลทได้เป็นอย่างดี อยู่ในช่วง 75.5-100 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งแตกต่างจากชุดควบคุม (Negative control) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในขณะที่สารสกัดที่ระดับความเข้มข้น 500 ppm สามารถยับยั้งการงอกของเชื้อราเพียง 2 ชนิด (F2 และ H1) ถูกยับยั้งอยู่ในช่วง 22.4-95.9 เปอร์เซ็นต์ และจะสังเกตได้ว่าสารสกัดที่ระดับความเข้มข้นที่สูง (10000 และ 20000 ppm) มีประสิทธิภาพในการยับยั้งไม่แตกต่างทางสถิติจากการใช้สารเคมีอามูเล่เลย (Figure 1)

วิจารณ์ผลการทดลอง

จากการแยกเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดด่างได้เชื้อรา *Curvularia* sp. 6 ไอโซเลท, *Helminthosporium* sp. 2 ไอโซเลท และ *Fusarium* sp. 4 ไอโซเลท จากนั้นนำไปทดสอบความสามารถในการก่อโรคบนกล้าข้าว 2 พันธุ์ (สุพรรณบุรี 1 และ พิษณุโลก 2) พบว่า เชื้อรา *Curvularia* sp. (C5), *Fusarium* sp. (F2) และ *Helminthosporium* sp. (H1) แสดงความรุนแรงของโรคมากที่สุด ในการแยกเชื้อราสาเหตุโรคนั้น สอดคล้องกับการรายงานของสิทธิ์ และสมศิริ (2553) ที่ระบุว่า เชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดด่างข้าวที่แยกจากข้าวจำนวน 4 พันธุ์ในประเทศไทย ได้แก่ *Alternaria padwickii*, *Bipolaris oryzae*, *Curvularia* spp. และ *Fusarium moniliforme* สำหรับการทดสอบอิทธิพลของสารสกัดเอทานอลจากใบมะกรูดที่ระดับความเข้มข้น 5000, 10000 และ 20000 ppm ต่อการเจริญของเชื้อราไอโซเลท C5, F2 และ H1 พบว่า สารสกัดทั้ง 3 ระดับความเข้มข้นสามารถยับยั้งการเจริญทางเส้นใยและการงอกของสปอร์เชื้อราทุกไอโซเลทได้ อยู่ในช่วง 12.6-63.7 และ 62.3-100 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ น่าจะมีผลมาจาก สาร Limonene ซึ่งเป็นสารสำคัญที่พบได้ในใบมะกรูด (ณัฏฐา และคณะ, 2552; Wungsintaweekul *et al*., 2010) และมีการรายงานว่า สารดังกล่าวมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา เนื่องจากสาร Limonene ส่งผลให้เส้นใยของเชื้อราเสื่อมสภาพ เสียหาย แตก ไซโตพลาสซึมรั่วไหล และไม่สามารถเจริญต่อได้ (Sharma and Tripathi, 2006) อีกทั้งยังสอดคล้องการรายงานที่ระบุว่า สารสกัดเอทานอลจากใบมะกรูดมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืชหลายชนิด ตัวอย่างเช่น *Aspergillus fumigatus*, *Colletotrichum* sp., *Curvularia lunata* ได้เป็นอย่างดี (ศานิต, 2555; Chanthaphon *et al*., 2007)

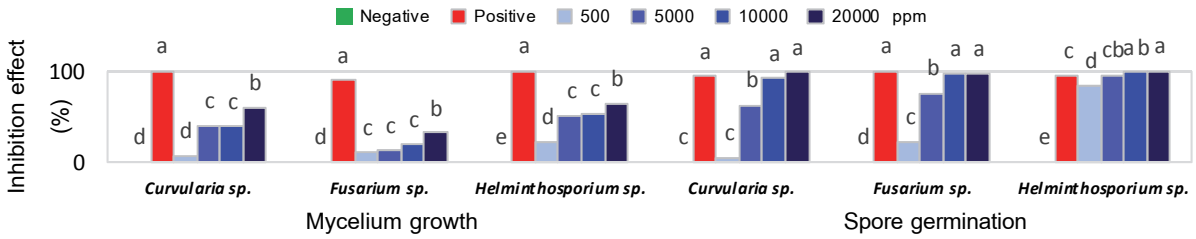

Figure 1 Effect of ethanol crude extract of kaffir lime on growth of fungi causing dirty panicle disease in rice; Values in each column bar within each pathogen indicated with the same letter are not significantly different according to Duncan's Multiple Range Test (P≤ 0.05)

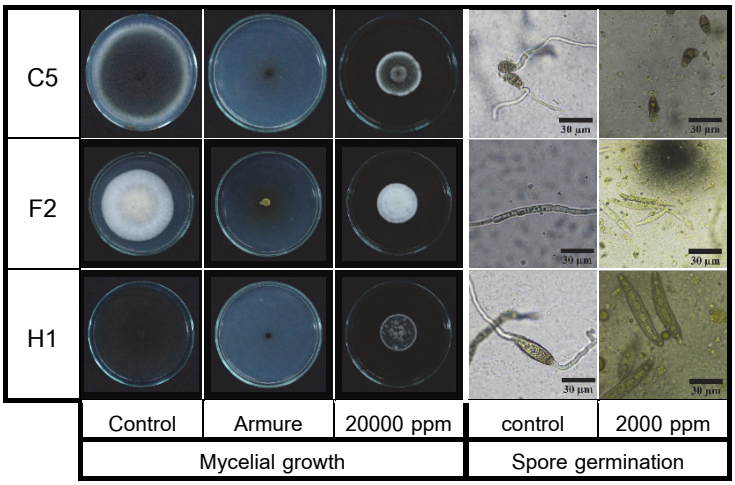

Figure 2 Effect of ethanol crude extract of kaffir lime on growth of fungi causing dirty panicle disease in rice; C5= *Curvularia* sp., F2= *Fusarium* sp., H1 = *Helminthosporium* sp.

สรุปผลการทดลอง

จากการแยกเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดด่างได้เชื้อราสาเหตุโรคทั้งหมด 14 ไอโซเลท และเชื้อราจำนวน 3 ไอโซเลท ได้แก่ *Curvularia* sp. (C5), *Fusarium* sp. (F2) และ *Helminthosporium* sp. (H1) แสดงความสามารถในการก่อโรคบนต้นกล้าข้าวรุนแรงที่สุด จากการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดเอทานอลจากใบมะกรูดต่อการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดด่าง พบว่าสารสกัดสามารถยับยั้งการเจริญทางเส้นใยและการงอกของสปอร์เชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดด่างได้ อยู่ในช่วง 12.6-63.7 และ 62.3-100 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ดังนั้นพอจะสรุปได้ว่า สารสกัดเอทานอลจากใบมะกรูดมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดด่างได้และควรทำการทดลองในสภาพไร่ เพื่อเป็นแนวทางการใช้สารสกัดดังกล่าวในการป้องกันกำจัดเชื้อสาเหตุโรคต่อไป

เอกสารอ้างอิง

กรมการข้าว. 2552. โรคเมล็ดด่าง. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา: http://phon.khonkaen.doae.go.th/data/rice.pdf. (26 มกราคม 2559).

ณัฐฐา เลาหกุลจิตต์, อรพิน เกิดชูชื่น, ศศธร สิงขรอาจ และอาภาพรรณ ชัฏไพศาล. 2552. น้ำมันหอมระเหยพืชวงศ์ส้มที่สกัดโดยการกลั่นพร้อมสกัด.วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร 40 (1 พิเศษ): 79-82.

วริศรา ชื่นอารมณ์, อรพิน เกิดชูชื่น, ณัฏฐา เลาหกุลจิตต์ และ ศิริวรรณ ตั้งแสงประทีป. 2553. การใช้น้ำมันหอมระเหยเพื่อยับยั้งเชื้อราที่เจริญบนวัสดุที่มีเซลลูโลสเป็นองค์ประกอบสูง. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร 41(3/1พิเศษ): 625-628.

ศานิต สวัสดิกาญจน์. 2555. ประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากพืช 10 ชนิดต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Curvularia lunata* สาเหตุโรคเมล็ดด่างของข้าว. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร 43 (3 พิเศษ): 528-531.

สิทธ์ ใจสงฆ์ และ สมศิริ แสงโชติ. 2553. การตรวจเชื้อราที่ติดมากับเมล็ดข้าวและการประยุกต์ใช้ข้อมูลเพื่อสร้างจุดตัดสินใจเพื่อการปรับปรุงเมล็ดพันธุ์ด้วยสารเคมี. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 100 หน้า.

Chanthaphon, S., S. Chanthachum and T. Hongpattarakere. 2007. Antimicrobial activities of essential oils and crude extracts from tropical *Citrus* spp. against food-related microorganisms. Songklanakarin J. Sci. Technol. 30 (Suppl.1): 125-131.

Sharma N. and A. Tripathi. 2006. Effects of *Citrus sinensis* (L.) Osbeck epicarp essential oil on growth and morphogenesis of *Aspergillus niger* (L.) Van Tieghem. Microbiological Research 163: 337-344.

Thobunluepop P., J. Udomsilp, A. Piyo and P. Khaengkhan. 2009. Screening for the antifungal activity of essential oils from bergamot oil (*Citrus hystrix* DC.) and tea tree oil (*Melaleuca alternifolia*) against economically rice pathogenic fungi: a driving force of organic rice cv. KDML 105 production. As. J. Food Ag-Ind Special issue: 374-380.

Wungsintaweekul J., W. Sitthithaworn, W. Putalun, H. W. Pfeifhoffer and A. Brantner. 2010. Antimicrobial, antioxidant activities and chemical composition of selected Thai spices. Songklanakarin J. Sci. Technol. 32(6): 589-598.