Agricultural Sci. J. 42 : 1 (Suppl.) : 425-428 (2011) ว. วิทย. กษ. 42 : 1 (พิเศษ) : 425-428 (2554)

ผลของการเคลือบเมล็ดด้วยน้ำมันหอมระเหยผสมต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อราที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ข้าวโพด

Effect of Mixed Essential Oils Coating on Growth Inhibition of Seed-borne Fungi of Maize Seeds

รุ่งอรุณ กันธะปา[1] เกวลิน คุณาศักดากุล[2] สุชาดา เวียรศิลป์[1,3] และ สงวนศักดิ์ ธนาพรพูนพงษ์[1, 3]

Rungaroon Kantapa[1], Kaewalin Kunasakdakul[2], Suchada Vearsilp[1,3] and Sa-nguansak Thanapornpoonpong[1,3]

Abstract

Effect of coating maize seed coated with essential oils for controling seed-borne fungi were studied. The essential oil using were clove (CO), basil (BO), peppermint (PO), CO+BO, CO+PO and BO+PO at ratio 1:4, 2:3, 3:2 and 4:1 respectively. The coated seeds were assayed by blotter method to determine fungal inhibition and seed germination. After incubated at ambient temperature for 7 days, the treated seeds were inspected. Results showed that seeds coated with CO could inhibit the growth of *Aspergillus flavus* (60.87%), *Aspergillus niger* (83.92%) and *Rhizopus* sp. (81.25%). Seed coated with BO and PO showed the highest efficiency on growth inhibition of *Rhizopus* sp. at 90.63% and 59.38% respectively. The efficiency of fungal inhibition increased when they were coated with mixed essential oils at the ratio of 2:3 and 3:2 using CO as the main portion. The mixture of CO and BO at the ratio of 2:3 was the best formula that could promote the highest growth inhibition of *A. flavus* and *A. niger* at 82.61% and 95.98% respectively. While growth of *Rhizopus* fungus was inhibited at 84.38% in seed treated with the mixture of CO and BO at the ratio 3:2. Overall, the coated seeds with the mixture of BO and PO at ratio 2:3 had higher root rate only percentage than the uncoated seed. The above results showed that the mixed essential oils could facilitate seed germination and inhibited fungal growth on treated maize seed.

Keywords: Essential oils, maize, seed coating

บทคัดย่อ

ทดสอบผลของการเคลือบเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ด้วยน้ำมันหอมระเหยต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ โดยเคลือบเมล็ดพันธุ์ด้วยน้ำมันหอมระเหยกานพลู, โหระพา, สะระแหน่, กานพลูร่วมกับโหระพา, กานพลูร่วมกับสะระแหน่ และโหระพาร่วมกับสะระแหน่ ในอัตราส่วน 1:4, 2:3, 3:2 และ 4:1 ตรวจสอบผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา และความงอกของเมล็ดด้วยวิธีเพาะบนกระดาษชื้นหลังจากเพาะเมล็ดไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน ผลการทดลองพบว่าน้ำมันหอมระเหยกานพลูมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อรา *Aspergillus flavus, Aspergillus niger* และ *Rhizopus* sp. โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 60.87, 83.92 และ 81.25 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ น้ำมันหอมระเหยโหระพาและสะระแหน่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อรา *Rhizopus* sp. สูงสุดโดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 90.63 และ 59.38 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ สำหรับการเคลือบเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดด้วยน้ำมันหอมระเหยสองชนิดที่ผสมเข้าด้วยกันในอัตราส่วน 2:3 และ 3:2 โดยมีน้ำมันหอมระเหยกานพลูเป็นส่วนผสมหลักทำให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสูงขึ้น โดยน้ำมันหอมระเหยกานพลูร่วมกับโหระพาอัตราส่วน 2:3 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อรา *A. flavus* และ *A. niger* ดีที่สุด โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งสูงสุดคือ 82.61 และ 95.98 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ และน้ำมันหอมระเหยกานพลูร่วมกับโหระพาอัตราส่วน 3:2 มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อรา *Rhizopus* sp. เท่ากับ 84.38 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้เมล็ดที่เคลือบด้วยน้ำมันหอมระเหยกานพลูและโหระพาอัตราส่วน 2:3 มีเปอร์เซ็นต์ความงอกสูงกว่าชุดควบคุม ดังนั้นการเคลือบเมล็ดด้วยน้ำมันหอมระเหยที่ผสมกันจะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการยังยั้งการเจริญของเชื้อรา และทำให้เมล็ดมีเปอร์เซ็นต์ความงอกสูงขึ้นด้วย

คำสำคัญ: น้ำมันหอมระเหย ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ การเคลือบเมล็ดพันธุ์

[1] ภาควิชาพืชศาสตร์และทรัพยากรธรรมชาติ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

[1]Department of Plant Science and Natural Resources, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University

[2] ภาควิชาโรคพืชและกีฏวิทยา คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

[2] Department of Entomology and Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University

[3] สถาบันวิจัยเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว / ศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังเก็บเกี่ยว มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

[3]Postharvest Technology Research Institute/ Postharvest Technology Innovation Center, Chiang Mai University

คำนำ

การปนเปื้อนของเชื้อราที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์เป็นสาเหตุสำคัญอย่างหนึ่งที่ทำให้เกิดโรคในแปลงปลูก ส่งผลให้ปริมาณและคุณภาพของผลผลิตข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ลดลง ซึ่งเชื้อราสามารถติดปะปนมากับเมล็ดพันธุ์ได้โดยการฝังตัวอยู่ภายในเนื้อเยื่อของเมล็ดพันธุ์หรือติดมากับส่วนนอกของเมล็ดพันธุ์ การป้องกันกำจัดเชื้อราที่ติดมากับเมล็ดนั้นส่วนใหญ่นิยมใช้สารเคมีกำจัดเชื้อราคลุกเมล็ดพันธุ์ก่อนนำไปปลูกในแปลง ซึ่งสารเคมีหลายชนิดมีพิษตกค้าง และเป็นอันตรายต่อคนและสัตว์ อีกทั้งอาจทำให้เชื้อราสาเหตุโรคสามารถเกิดความต้านทานต่อสารเคมีที่ใช้ได้ (De Waard, 1996; Meyer *et al*., 1991) จึงทำให้มีการคิดค้นหาวิธีที่จะนำมาใช้ทดแทนการใช้สารเคมีกำจัดเชื้อรา สารสกัดจากพืชเป็นทางเลือกหนึ่งที่ถูกนำมาใช้ในการป้องกันกำจัดเชื้อรา Szczerbanik *et al*. (2007) ทำการทดลองใช้น้ำมันหอมระเหยควบคุมเชื้อราหลังการเก็บเกี่ยวบางชนิด พบว่าน้ำมันหอมระเหยสเปียร์มินต์และซา สามารถควบคุมการเจริญของเชื้อ *Botrytis cinerea*, *Fusarium solani*, *Colletotrichum* sp., *Geotrichum candidum*, *Rhizopus oryzae*, *Aspergillus niger* และ *Cladosporium cladosporiodes* เช่นเดียวกับ Hadizadeh *et al*., (2009) ได้ทำการทดสอบน้ำมันหอมระเหยกับเชื้อรา *Alternaria alternate* พบว่า น้ำมันหอมระเหยเนทเทิลที่ 1500 ppm สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ 100 เปอร์เซ็นต์ และน้ำมันหอมระเหยไทม์ที่ 2000 ppm สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ 75 เปอร์เซ็นต์ สารสกัดจากพืชถูกนำมาใช้ในการทดลองอย่างกว้างขวาง เนื่องจากในสารสกัดจากพืชนั้นมีสารประกอบที่สำคัญหลายชนิด เช่น eugenol, cinnamaldehyde, thymol เป็นต้น (Mondal and Khalequzzaman, 2010) สารประกอบเหล่านั้นออกฤทธิ์ต่อเชื้อรา โดยจะทำปฏิกิริยากับเยื่อหุ้มเซลล์ ทำให้เกิดการรั่วไหลของโปรตีนภายในเซลล์ และการเจริญและการงอกของสปอร์ช้าลง ส่งผลทำให้เชื้อราตาย (Di Pasqua *et al*., 2007) ดังนั้นในการทดลองครั้งนี้จึงใช้น้ำมันหอมระเหยผสมกันแล้วนำไปเคลือบเมล็ดพันธุ์ เพื่อทดสอบประสิทธิภาพการออกฤทธิ์ร่วมกันของน้ำมันหอมระเหยต่อการควบคุมการเจริญเติบโตของเชื้อราบนเมล็ดพันธุ์

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การเตรียมสารเคลือบเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์

เตรียมน้ำมันหอมระเหยจากพืช คือ กานพลู (clove essential oil: CO), โหระพา (basil essential oil: BO) และสะระแหน่ (peppermint essential oil: PO) ทำการผสมน้ำมันหอมระเหย 2 ชนิดเข้าด้วยกัน คือ กานพลูร่วมกับโหระพา, กานพลูร่วมกับสะระแหน่ และโหระพาร่วมกับสะระแหน่ ใช้น้ำมันหอมระเหยร่วมกันทั้งหมด 2 มิลลิลิตร ของอัตราส่วนต่าง ๆ ดังนี้ 1:4, 2:3, 3:2 และ 4:1 ไปเคลือบเมล็ดพันธุ์ 1 กิโลกรัมต่อแต่ละอัตราส่วนน้ำมันหอมระเหย

2. การทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา

นำเมล็ดที่ผ่านการเคลือบแล้วมาตรวจสอบความงอกของเมล็ดและตรวจหาชนิดและปริมาณของเชื้อรา โดยวิธีการเพาะเมล็ดบนกระดาษชื้น (Blotter method) ทำการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design; CRD) โดยแต่ละกรรมวิธีทวนซ้ำ 4 ครั้ง หลังจากที่ทำการเพาะเมล็ดไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน จากนั้นนำมาตรวจสอบหาชนิดและปริมาณเชื้อราที่เจริญบนเมล็ดภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ทำการบันทึกผลโดยนับจำนวนเมล็ดที่งอกและเมล็ดที่ติดเชื้อราและนำไปทำการคำนวณเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อและเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง จากสมการดังต่อไปนี้

$$\text{เปอร์เซ็นต์การติดเชื้อ (\%)} = \frac{\text{จำนวนเมล็ดที่ติดเชื้อ}}{\text{จำนวนเมล็ดทั้งหมด}} \times 100$$

$$\text{เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง (\%)} = \frac{(\text{เปอร์เซ็นต์การติดเชื้อชุดควบคุม} - \text{เปอร์เซ็นต์การติดเชื้อชุดทดสอบ})}{\text{เปอร์เซ็นต์การติดเชื้อชุดควบคุม}} \times 100$$

ผลการทดลองและวิจารณ์

จากการตรวจสอบชนิดของเชื้อราบนเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดชุดควบคุม พบเชื้อรา 3 ชนิด คือ A. flavus, A. niger และ Rhizopus sp. โดยมีเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อเฉลี่ยเท่ากับ 57.50, 62.20 และ 80.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในการทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ข้าวโพด พบว่า CO มี

ประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อรา A. niger ใกล้เคียงกับเชื้อรา Rhizopus sp. โดยมีเปอร์เซ็นต์การยังยั้งคือ 83.92 และ 81.25 ตามลำดับ ส่วน BO และ PO มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา A. flavus และ A. niger ต่ำแต่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา Rhizopus sp. โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งสูงสุด คือ 90.63 และ 59.38 ตามลำดับ ผลการศึกษาการผสมน้ำมันหอมระเหย 2 ชนิดเข้าด้วยกัน พบว่า อัตราส่วนในการผสม คือ 2:3 และ 3:2 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสูงสุด โดย CO ร่วมกับ BO และ CO ร่วมกับ PO อัตราส่วน 2:3, 3:2 มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อรา A. flavus อยู่ในช่วง 70 – 83 เปอร์เซ็นต์ โดยไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (Table 1) CO ร่วมกับ BO อัตราส่วน 2:3 มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อรา A. niger สูงสุด คือ 95.98 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ยังพบว่า CO ร่วมกับ BO อัตราส่วน 2:3, 3:2 และ 4:1, CO ร่วมกับ PO อัตราส่วน 3:2 และ BO ร่วมกับ PO อัตราส่วน 2:3 มีเปอร์เซ็นต์การยังยั้งการเจริญของเชื้อรา Rhizopus sp. อยู่ในช่วง 75-84 เปอร์เซ็นต์ โดยไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (Table 1) และเมล็ดที่ผ่านการเคลือบด้วยน้ำมันหอมระเหยส่วนใหญ่มีเปอร์เซ็นต์ความงอกไม่แตกต่างกันทางสถิติ และไม่แตกต่างจากชุดควบคุม ยกเว้น CO และ BO อัตราส่วน 2:3 มีเปอร์เซ็นต์ความงอกแตกต่างจากชุดควบคุม (Table 1) CO ร่วมกับ BO อัตราส่วน 2:3 ให้ผลการยับยั้งเชื้อดีที่สุด และเมล็ดมีเปอร์เซ็นต์ความงอกสูงสุด คือ 98.00 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจาก CO และ BO มียูจีนอลเป็นสารประกอบ แต่ PO ไม่มี จึงทำให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อต่างกัน (Orav and Kann, 2001; Trotel et al., 2006)

Table 1 Inhibition of fungal growth on maize seed coated with different essential oils.

Treatment	Vol. of essential oil per kg seed	Percent of germination[1]	Percent of fungi inhibition[2]		
			A. flavus	*A. niger*	*Rhizopus* sp.
control	0 ml	80.00 b	0 f	0 f	0 f
CO	2 ml	83.00 ab	60.87 abc	83.92 ab	81.25 ab
BO	2 ml	85.00 ab	15.22 ef	11.58 ef	90.63 a
PO	2 ml	83.00 ab	15.22 ef	17.85 ef	59.38 de
CO+BO (1:4)	0.4 ml + 1.6 ml	83.00 ab	65.22 abc	15.60 ef	71.88 bcd
CO+BO (2:3)	0.8 ml + 1.2 ml	98.00 a	82.61 a	95.98 a	78.13 abc
CO+BO (3:2)	1.2 ml + 0.8 ml	88.00 ab	78.26 ab	67.85 bc	84.38 ab
CO+BO (4:1)	1.6 ml + 0.4 ml	88.00 ab	45.66 cd	59.81 c	75.00 abcd
CO+PO (1:4)	0.4 ml + 1.6 ml	86.00 ab	56.53 bc	31.67 de	50.00 e
CO+PO (2:3)	0.8 ml + 1.2 ml	88.00 ab	78.26 ab	71.87 bc	62.50 cde
CO+PO (3:2)	1.2 ml + 0.8 ml	88.00 ab	69.57 ab	71.87 bc	81.25 ab
CO+PO (4:1)	1.6 ml + 0.4 ml	83.00 ab	69.57 ab	51.77 cd	62.50 cde
BO+PO (1:4)	0.4 ml + 1.6 ml	80.00 b	30.44 de	18.33 ef	53.13 e
BO+PO (2:3)	0.8 ml + 1.2 ml	83.00 ab	32.61 de	19.62 ef	75.00 abcd
BO+PO (3:2)	1.2 ml + 0.8 ml	90.00 ab	26.09 de	20.10 ef	59.38 de
BO+PO (4:1)	1.6 ml + 0.4 ml	78.00 b	15.22 ef	27.65 e	62.50 de
CV (%)		17.44	23.67	22.93	18.14

[1, 2] Means in column followed by the same letter are not significantly different ($P<0.05$)

CO = clove essential oil

BO = basil essential oil

PO = peppermint essential oil

สรุป

การเคลือบเมล็ดพันธุ์ด้วยน้ำมันหอมระเหยเพียงชนิดเดียว พบว่า น้ำมันหอมระเหยกานพลูมีประสิทธิภาพดีที่สุดในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา A. flavus, A. niger และน้ำมันหอมระเหยโหระพามีประสิทธิภาพดีที่สุดในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา Rhizopus sp. สำหรับการเคลือบเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดด้วยน้ำมันหอมระเหยสองชนิดที่ผสมเข้าด้วยกันสามารถนำมาใช้ในการควบคุมการเจริญเติบโตของเชื้อราได้ โดยน้ำมันหอมระเหย CO ร่วมกับ BO อัตราส่วน 2:3 มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา A. flavus, A. niger มีประสิทธิภาพดีในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา Rhizopus sp. และไม่มีผลต่อความงอกของเมล็ดพันธุ์

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณบริษัทพืชพันธุ์ตะวันเหนือ ที่อนุเคราะห์เมล็ดพันธุ์ข้าวโพดในการทำงานวิจัย ขอขอบคุณบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่สนับสนุนทุนในการทำงานวิจัย และขอขอบคุณสถาบันวิจัยเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว/ ศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังเก็บเกี่ยว มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่สนับสนุนอุปกรณ์ในการทำวิจัยนี้

เอกสารอ้างอิง

De Waard M. A. 1996. Molecular genetics of resistance in fungi to azole fungicides. *ACS Symposium Series* 645(7): 62-71.

Di Pasqua R., G. Betts, N. Hoskins, M. Edwards, D. Ercolini and G. Mauriello. 2007. Membrane toxicity of antimicrobial compounds from essential oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55(12): 4863-4870.

Hadizadeh I., B. Peivastegan and H. Hamzehzarghani. 2009. Antifungal activity of essential oils from some medicinal plants of Iran against *Alternaria alternate*. *American Journal of Applied Sciences* 6(5): 857-861.

Meyer S. L. F., R. M. Sayre and R. N. Huettel. 1991. Benomyl tolerance of ten fungi antagonistic to plant-parasitic nematodes. *Journal of Nematology* 23(4): 402-408.

Mondal M. and M. Khalequzzaman. 2010. Toxicity of naturally occurring compounds of plant essential oil against *Tribolium castaneum* (Herbst). *Journal of Biological Sciences* 10: 10-17.

Orav, A. and J. Kann. 2001. Determination of peppermint and orange aroma compounds in food and beverages. *Proc. Estonian Acad. Sci. Chem.* 50(4): 217-225.

Szczerbanik M., J. Jobling, S. Morris and P. Holford. 2007. Essential oil vapours control some postharvest fungal pathogens. *Australian Journal of Experimental Agriculture* 47(1): 103-109.

Trotel, A. P., M. Couderchet, G. Vernet and A. Aziz. 2006. Chitosan stimulates defense reactions in grapevine leaves and inhibits development of *Botrytis cinerea*. *European Journal of Plant Pathology* 114: 405-413.