



รายงานผลการวิจัย

เรื่อง

สารสกัดสมุนไพรไทยยับยั้งเชื้อราที่สำคัญในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ

Thai Herb Extracts to Inhibit Particular Aquatic Fungi in Aquaculture

โดย

จิราพร โรจน์ทินกรและ จูติพร หลาวประเสริฐ

มหาวิทยาลัยแม่โจ้

2557

รหัสโครงการวิจัยมจ.1-56-006



รายงานผลการวิจัย

เรื่อง สารสกัดสมุนไพรไทยยับยั้งเชื้อราสำคัญในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ
Thai Herb Extracts to Inhibit Particular Aquatic Fungi in Aquaculture

ได้รับการจัดสรรงบประมาณวิจัย ประจำปี 2556
จำนวน 350,000 บาท

หัวหน้าโครงการ นางจิราพร โรจน์ทินกร
ผู้ร่วมโครงการ นางฐิติพร หลาวประเสริฐ

งานวิจัยเสร็จสิ้นสมบูรณ์
30มิถุนายน2557

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยเรื่อง สารสกัดสมุนไพรไทยยับยั้งเชื้อราที่สำคัญในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ (Thai Herb Extracts to Inhibit Particular Aquatic Fungi in Aquaculture) ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจาก สำนักวิจัยและส่งเสริมวิชาการการเกษตรมหาวิทยาลัยแม่โจ้ปีงบประมาณ 2556

ขอขอบพระคุณ Prof.Dr. Kishio Hatai Division of Fish Diseases, Faculty of Veterinary Medicine Nippon Veterinary and Animal Science University ที่ได้สนับสนุนเชื้อรา

ขอขอบคุณ คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ที่ให้การสนับสนุนสถานที่ อุปกรณ์การวิจัย และสาธารณูปโภคในการทำวิจัย

ขอขอบคุณ นักศึกษาช่วยงาน และบุคลากรในคณะฯ ทุกท่านที่มีส่วนร่วมในงานวิจัยนี้ให้สำเร็จลุล่วงด้วยดี

คณะผู้วิจัย

สารบัญ

	หน้า
สารบัญตาราง	ข
สารบัญภาพ	ค
บทคัดย่อ	1
Abstract	3
คำนำ	5
วัตถุประสงค์ของการวิจัย	6
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	6
การตรวจเอกสาร	7
อุปกรณ์และวิธีการ	32
ผลการวิจัยและวิจารณ์	36
สรุปผลการวิจัย	79
เอกสารอ้างอิง	81

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1	การออกฤทธิ์ของสารประกอบเคอร์คูมินจากขมิ้นชันและอนุพันธ์
23	
ตารางที่ 2	ประสิทธิภาพของสารสกัดกระเทียมยับยั้งการเจริญของ <i>A. bisexualis</i>
41	
	zoospores
ตารางที่ 3	ประสิทธิภาพของสารสกัดมังคุดยับยั้งการเจริญของ <i>A. bisexualis</i>
46	
	zoospores
ตารางที่ 4	ประสิทธิภาพของสารสกัดกระเทียมยับยั้งการเจริญของ <i>A.</i>
58	
	<i>piscicidazoospores</i>
ตารางที่ 5	ประสิทธิภาพของสารสกัดมังคุดยับยั้งการเจริญของ <i>A.</i>
63	
	<i>piscicidazoospores</i>
ตารางที่ 6	ความเป็นพิษของสารสกัดสมุนไพรไทยต่อไข่และลูกปลานิล
71	
ตารางที่ 7	อัตราเพาะฟักไข่ปลานิลในการแช่สารสกัดหุ้มเห็ดเทศ-น้ำ
76	
	และซุสเปอร์ของ <i>A. bisexualis</i> zoospores
ตารางที่ 7	อัตราเพาะฟักไข่ปลานิลในการแช่สารสกัดมังคุด-เอทานอล-ต้ม
78	
	และซุสเปอร์ของ <i>A. invadans</i>

สารบัญภาพ

	หน้า
ภาพที่1	วงชีวิตของเชื้อรา Oomycetes 7
ภาพที่2	เส้นใยเชื้อราน้ำ <i>Achlya bisexualis</i> 8
ภาพที่3	เส้นใยเชื้อราน้ำ <i>Aphanomyces piscicida</i> NJM9510 10
ภาพที่4	เส้นใยเชื้อราน้ำ <i>Lagenidium thermophilum</i> NJM731 13
ภาพที่5	ตำแหน่งที่เก็บสารสำคัญในโครงสร้างเซลล์ของกระเทียม 18
ภาพที่6	สูตรโครงสร้างสารที่พบในกระเทียม 19
ภาพที่7	การเจริญของ <i>A. bisexualis</i> zoospores หลังแช่ด้วยสารสกัดกระเทียม-น้ำ ที่เวลาต่างๆ 37
ภาพที่8	การเจริญของ <i>A. bisexualis</i> zoospores หลังแช่ด้วยสารสกัดกระเทียม-น้ำ-ดม ที่เวลาต่างๆ 38
ภาพที่9	การเจริญของ <i>A. bisexualis</i> zoospores หลังแช่ด้วยสารสกัดกระเทียม-เอทานอล ที่เวลาต่างๆ 39
ภาพที่10	การเจริญของ <i>A. bisexualis</i> zoospores หลังแช่ด้วยสารสกัดกระเทียม-เอทานอล-ดม ที่เวลาต่างๆ 40
ภาพที่11	การเจริญของ <i>A. bisexualis</i> zoospores หลังแช่ด้วยสารสกัดมังกุค-น้ำ ที่เวลาต่างๆ 42
ภาพที่12	การเจริญของ <i>A. bisexualis</i> zoospores หลังแช่ด้วยสารสกัดมังกุค-น้ำ-ดม ที่เวลาต่างๆ 43
ภาพที่13	การเจริญของ <i>A. bisexualis</i> zoospores หลังแช่ด้วยสารสกัดมังกุค-เอทานอล ที่เวลาต่างๆ 44
ภาพที่14	การเจริญของ <i>A. bisexualis</i> zoospores หลังแช่ด้วยสารสกัดมังกุค-เอทานอล-ดม ที่เวลาต่างๆ 45
ภาพที่15	ลักษณะสัณฐานวิทยาของ <i>A. bisexualis</i> zoospores ปกติ 48
ภาพที่16	ลักษณะสัณฐานวิทยาของ <i>A. bisexualis</i> zoospores ที่แช่ด้วยสารสกัดกระเทียม-น้ำนาน 4 และ 24 ชั่วโมง 49
ภาพที่17	ลักษณะสัณฐานวิทยาของ <i>A. bisexualis</i> zoospores ที่แช่ด้วยสารสกัดกระเทียม-น้ำ-ดมนาน 4 และ 24 ชั่วโมง 49

	หน้า
ภาพที่ 18 ลักษณะสัณฐานวิทยาของ <i>A. bisexualis</i> zoospores ที่แช่ด้วยสารสกัด กระเทียม-เอทานอลนาน 4 และ 24 ชั่วโมง	50
ภาพที่ 19 ลักษณะสัณฐานวิทยาของ <i>A. bisexualis</i> zoospores ที่แช่ด้วยสารสกัด กระเทียม-เอทานอล-ต้มนาน 4 และ 24 ชั่วโมง	50
ภาพที่ 20 ลักษณะสัณฐานวิทยาของ <i>A. bisexualis</i> zoospores ที่แช่ด้วยสารสกัด มังกุด-น้ำนาน 4 และ 24 ชั่วโมง	52
ภาพที่ 21 ลักษณะสัณฐานวิทยาของ <i>A. bisexualis</i> zoospores ที่แช่ด้วยสารสกัด มังกุด-น้ำ-ต้มนาน 4 และ 24 ชั่วโมง	52
ภาพที่ 22 ลักษณะสัณฐานวิทยาของ <i>A. bisexualis</i> zoospores ที่แช่ด้วยสารสกัด มังกุด-เอทานอลนาน 4 และ 24 ชั่วโมง	53
ภาพที่ 23 ลักษณะสัณฐานวิทยาของ <i>A. bisexualis</i> zoospores ที่แช่ด้วยสารสกัด มังกุด-เอทานอล-ต้มนาน 4 และ 24 ชั่วโมง	53
ภาพที่ 24 การเจริญของ <i>A. invadans</i> zoospores หลังแช่ด้วยสารสกัดกระเทียม-น้ำ ที่เวลาต่างๆ	54
ภาพที่ 25 การเจริญของ <i>A. invadans</i> zoospores หลังแช่ด้วยสารสกัดกระเทียม-น้ำ- ต้ม ที่เวลาต่างๆ	55
ภาพที่ 26 การเจริญของ <i>A. invadans</i> zoospores หลังแช่ด้วยสารสกัดกระเทียม-เอ ทานอล ที่เวลาต่างๆ	56
ภาพที่ 27 การเจริญของ <i>A. invadans</i> zoospores หลังแช่ด้วยสารสกัดกระเทียม- เอทานอล-ต้ม ที่เวลาต่างๆ	57
ภาพที่ 28 การเจริญของ <i>A. invadans</i> zoospores หลังแช่ด้วยสารสกัดมังกุด-น้ำ ที่เวลาต่างๆ	59
ภาพที่ 29 การเจริญของ <i>A. invadans</i> zoospores หลังแช่ด้วยสารสกัดมังกุด-น้ำ-ต้ม ที่เวลาต่างๆ	60
ภาพที่ 30 การเจริญของ <i>A. invadans</i> zoospores หลังแช่ด้วยสารสกัดมังกุด- เอทานอล ที่เวลาต่างๆ	61
ภาพที่ 31 การเจริญของ <i>A. invadans</i> zoospores หลังแช่ด้วยสารสกัดมังกุด- เอทานอล-ต้ม ที่เวลาต่างๆ	62
ภาพที่ 32 ลักษณะสัณฐานวิทยาของ <i>A. invadans</i> zoospore ปกติ	65

	หน้า
ภาพที่ 33 ลักษณะสัณฐานวิทยาของ <i>A. invadans</i> zoospore ที่แช่ด้วยสารสกัด กระเทียม-น้ำนาน 4 และ 24 ชั่วโมง	66
ภาพที่ 34 ลักษณะสัณฐานวิทยาของ <i>A. invadans</i> zoospore ที่แช่ด้วยสารสกัด กระเทียม-น้ำ-ต้ม นาน 4 และ 24 ชั่วโมง	66
ภาพที่ 35 ลักษณะสัณฐานวิทยาของ <i>A. invadans</i> zoospore ที่แช่ด้วยสารสกัด กระเทียม-เอทานอล นาน 4 และ 24 ชั่วโมง	67
ภาพที่ 36 ลักษณะสัณฐานวิทยาของ <i>A. invadans</i> zoospore ที่แช่ด้วยสารสกัด กระเทียม-เอทานอล-ต้ม นาน 4 และ 24 ชั่วโมง	67
ภาพที่ 37 ลักษณะสัณฐานวิทยาของ <i>A. invadans</i> zoospore ที่แช่ด้วยสารสกัดมังคุด- น้ำนาน 4 และ 24 ชั่วโมง	69
ภาพที่ 38 ลักษณะสัณฐานวิทยาของ <i>A. invadans</i> zoospore ที่แช่ด้วยสารสกัด มังคุด-น้ำ-ต้ม นาน 4 และ 24 ชั่วโมง	69
ภาพที่ 39 ลักษณะสัณฐานวิทยาของ <i>A. invadans</i> zoospore ที่แช่ด้วยสารสกัดมังคุด- เอทานอล นาน 4 และ 24 ชั่วโมง	70
ภาพที่ 40 ลักษณะสัณฐานวิทยาของ <i>A. invadans</i> zoospore ที่แช่ด้วยสารสกัด มังคุด-เอทานอล-ต้ม นาน 4 และ 24 ชั่วโมง	70
ภาพที่ 41 ความเป็นพิษของสารสกัดสมุนไพรต่อไข่ปลานิล	72
ภาพที่ 42 ความเป็นพิษของสารสกัดสมุนไพรต่อลูกปลานิลอายุ 1 วัน	73
ภาพที่ 43 ความเป็นพิษของสารสกัดสมุนไพรต่อลูกปลานิลอายุ 7 วัน	74
ภาพที่ 44 ไข่ปลานิลระยะ eyed egg ติดเชื้อรา <i>A. bisexualis</i>	76
ภาพที่ 45 ไข่ปลานิลระยะ eyed egg ติดเชื้อรา <i>A. invadans</i>	78

สารสกัดสมุนไพรไทยยับยั้งเชื้อราที่สำคัญในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ

Thai Herb Extracts to Inhibit Particular Aquatic Fungi in Aquaculture

จิราพร โรจน์ทินกร¹ และฐิติพร หลาวประเสริฐ²

Jiraporn Rojtinnakorn¹ and Thitiporn Laoprasert²

¹คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้

²สถาบันวิจัยสุขภาพสัตว์น้ำจืด กรมประมง กระทรวงเกษตรและสหกรณ์

บทคัดย่อ

การเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำมีความสำคัญต่อเศรษฐกิจทั้งในประเทศและส่งออก สามารถสร้างรายได้ให้กับประชากรได้ทั้งระดับครัวเรือน อุตสาหกรรมขนาดกลาง จนถึงขนาดใหญ่ การเกิดโรคระบาดจากเชื้อราเป็นปัญหาที่สำคัญปัญหาหนึ่งโดยเฉพาะในโรงเพาะฟัก อย่างไรก็ตามยังไม่มีการรักษาที่ปลอดภัยและได้ผลดี การรักษาวิธีดั้งเดิมเป็นการใช้มาลาไคท์กรีน ซึ่งเป็นสารเคมีก่อมะเร็ง ซึ่งมีผลต่อผู้ปฏิบัติงาน และตกค้างในสิ่งแวดล้อมน้ำ

งานวิจัยนี้ได้ศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดสมุนไพรไทย ได้แก่ หัวกระเทียม (*Allium sativum*) เหง้าขมิ้นชัน (*Curcuma longa*) ใบชุมเห็ดเทศ (*Cassia alata*) เปลือกผลมังคุด (*Garcinia mangostana*) และใบสาบเสือ (*Eupatorium odoratum*) ในการต่อต้านเชื้อราก่อโรค 3 ชนิดพันธุ์ ได้แก่ *Achlya bisexualis* *Aphanomyces piscicida* และ *Lagenidium thermophilum* โดยทำการสกัดด้วยน้ำและเอทานอล ที่อุณหภูมิห้อง 1 คืน และเพิ่มการสกัดด้วยอุณหภูมิสูง (60 °C นาน 2 ชั่วโมง)

การศึกษากิจกรรมยับยั้งเชื้อรา (fungistatic test) ในระยะ zoospore ด้วยวิธี immersion ที่ความหนาแน่น 1×10^4 zoospores/ml พบว่า สารสกัดสมุนไพรไทยมีฤทธิ์ดีต่อ zoospore ของ *Achlya bisexualis* และ *Aphanomyces piscicida* ดังนั้น สารสกัดสมุนไพรที่สามารถยับยั้งการงอกของ *A. bisexualis* zoospore แบ่งได้ 3 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ (1) สารสกัดสมุนไพรทุกชนิด ที่ความเข้มข้น 500 และ 1,000 ppm แช่ 24 ชั่วโมง กลุ่มที่ (2) ชุมเห็ดเทศ-น้ำ ที่ความเข้มข้น 500 ppm แช่ 4 ชั่วโมง และกลุ่มที่ (3) กระเทียม-เอทานอล-ต้ม ชุมเห็ดเทศ-น้ำ และ เอทานอล-ไม่ต้ม-ต้ม ที่ความเข้มข้น 1,000 ppm แช่ 4

ชั่วโมง สารสกัดสมุนไพรที่สามารถยับยั้งการงอกของ *A. piscicida* zoospore แบ่งได้ 3 กลุ่มเช่นกัน คือ กลุ่มที่ (1) สารสกัดสมุนไพรเกือบทุกชนิด ที่ความเข้มข้น 500 และ 1,000 ppm แช่ 24 ชั่วโมง ยกเว้น กระเทียม-น้ำ-ไม่ดัม-ดัม ที่ความเข้มข้น 500 ppm กลุ่มที่ (2) มังคุด-เอทานอล ที่ความเข้มข้น 1,000 ppm แช่ 1 ชั่วโมง กลุ่มที่ (3) กระเทียม-เอทานอล-ดัม ชุมเห็ดเทศ-เอทานอล มังคุด-น้ำ-ดัม ที่ความเข้มข้น 1,000 ppm แช่ 4 ชั่วโมง

จากการศึกษาลักษณะพื้นฐานวิทยาของ zoospore ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด (SEM) โดยนำ zoospore แช่สารสกัดสมุนไพรทั้ง 12 ชนิด ที่ความเข้มข้น 1,000 ppm นาน 4 และ 24 ชั่วโมง พบว่า *A. bisexualis* และ *A. piscicida* zoospore มีลักษณะเหี่ยว โดยเฉพาะที่เวลา 24 ชั่วโมง zoospore มีรูปร่างบิดเบี้ยว และนิ่มขาดหรือเป็นรูอย่างเห็นได้ชัด

การทดสอบความเป็นพิษต่อไข่ปลาและลูกปลาอายุ 1 และ 7 วัน พบว่าความเป็นพิษของสารสกัดสมุนไพรแต่ละชนิดมีแนวโน้มไปในทางเดียวกันทั้งสกัดด้วยน้ำและเอทานอล สารสกัดสมุนไพรที่มีความเป็นพิษสูง เรียงตามลำดับจากมากไปน้อย ดังนี้ มังคุด กระเทียม ชุมเห็ดเทศ และสาบเสือ โดยสารสกัดมังคุดทุกความเข้มข้น ทำให้ไข่ปลาและลูกปลาดายหมดภายใน 48 ชั่วโมง

จากการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดสมุนไพรต่อการติดเชื้อราในไข่ปลานิล พบว่า สารสกัดสมุนไพรที่ความเข้มข้น 250 และ 500 ppm สามารถป้องกันการติดเชื้อราทั้ง 2 ชนิด ได้ดี สำหรับ *A. bisexualis* zoospore ใช้สารสกัดชุมเห็ดเทศ-น้ำ และสำหรับ *A. piscicida* zoospore ใช้สารสกัดมังคุด-เอทานอล-ดัม

จะเห็นได้ว่าสารสกัดสมุนไพรไทยทั้ง 5 ชนิด มีผลต่อต้านเชื้อราที่ก่อโรคได้ โดยมีฤทธิ์ยับยั้งและชะลอการเจริญ จากผลการวิจัยนี้ สามารถนำไปศึกษาพัฒนาให้สารสกัดสมุนไพรเป็นทางเลือกสำคัญในการรักษาและป้องกันโรคเชื้อรา

คำสำคัญ: สมุนไพรไทย, เชื้อรา, การเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ, Saporlegniasis, Lagenidium

Abstract

Aquacultures is been important for local economy and export that effort to incomes of household level till industry. Fungal epizootic is one of particular problems, especially in hatchery. However there is no safe and effective treatment. The past method was use of malachite green which is carcinogen effecting to labor and water residue.

This research investigated for efficiacy of Thai herb extracts against 3 fugal pathogens; i.e. *Achlya bisexualis*, *Aphanomyces piscicida* and *Lagenidium thermophilum*. Applied Thai herbs were garlic bulb (*Allium sativum*), turmeric rhizome (*Curcuma longa*), ringworm bush leaf (*Cassia alata*), mangosteen pericarp (*Garcinia mangostana*) and bitter bush leaf (*Eupaporium odoratum*). Thai herbs were extracted by distilled water and ethanol at room temperature overnight and added boil at 60 °C for 2 hours.

For fungicidal effect of zoospore stage of *Achlya bisexualis* and *Aphanomyces invadan*, each of 1×10^4 zoospores /ml was exposure with herbal extracts at concentration of 500 and 1,000 ppm for 10 min, 1, 4 and 24 h. It result that herbal extracts showed fungicidal activity against zoospores *A. bisexualis* in to 3 group i.e. (1) all herbal extracts at concentration of 500 and 1,000 ppm for 24 h, (2) candle bush extract with water at concentration of 500 ppm for 4 h, and (3) garlic extract with ethanol-boiled and candle bush extract with water and ethanol (not boiled-boiled) at concentration of 1,000 ppm for 4 h. And fungicidal activity against *A. ivandans* zoospores, they were divided in to 3 group i.e. (1) all herbal extracts at concentration of 500 and 1,000 ppm for 24 h, except garlic extract with water-not boiled and boiled had no fungicidal effects at concentration of 500 for 24 h, (2) mangosteen extract with ethanol at concentration of 1,000 ppm for 1 h, (3) mangosteen extract with water-boiled at concentration of 500 for 24 h, and (4) garlic extract with ethanol-boiled, candle bush extract with ethanol (not boiled-boiled) at concentration of 1,000 ppm for 4 h.

Zoospore morphology was observed by scanning electron microscope (SEM). zoospore of both fungi that were exposure with herbal extracts at concentration of 1,000 ppm for 4 and 24 h. It obviously showed that zoospores were destroyed, shrink, distorted and rive.

For toxicity test, the experiments were performed to tilapia egg, 1- and 7-day fry. It showed that the toxicity of each herbal extracts with the same trend in both water and ethanol

extracted with. The ordering of high toxicity were mangosteen, garlic, ringworm bush and bitter bush, subsequently. Obviously, mangosteen extracts effected eggs and larvae died within 48 hours.

The efficacy of herbal extracts against fungal infection in tilapia eggs (*Oreochromis niloticus* eggs). It revealed that herbal extracts at concentration 250 and 500 ppm of can prevent both water mold. Candle bush extract with water for *A. bisexualis* zoospore and mangosteen extract with 95% ethanol-boiled for *A. piscicida* were considered.

It was illustrated that Thai herb extracts have well antifungal activities against all 3 aquatic fungal pathogens by growth inhibition and retardation. As these result, it might be further studied for development Thai herb extracts to be particular choice for treatment and prevention of fungal diseases.

Keywords: Thai-herbs, aquatic fungi, aquaculture, Saporlegniasis, Lagenidium

คำนำ

อุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ มีความสำคัญต่อเศรษฐกิจของเมืองไทย ทั้งในระดับประเทศและระดับท้องถิ่น ยกตัวอย่างผลิตภัณฑ์ประมงจากการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืด ได้แก่ ปลานิล ปลาดุกบิ๊กอุย ปลาสวาย และกุ้งก้ามกราม เฉพาะในเขตจังหวัดเชียงใหม่มีปริมาณการผลิตกุ้งและปลาไม่น้อยกว่า 3,000 ตันต่อปี (ประมง จังหวัดเชียงใหม่) อีกทั้งเป็นที่ทราบกันดีว่าอาหารจานปลาเป็นอาหารที่ดีต่อสุขภาพ เนื่องจากเป็นแหล่งโปรตีนคุณภาพสูง มีไขมันอิ่มตัวต่ำ

ปัญหาของการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำที่สำคัญ คือ การเกิดโรคเชื้อราในสัตว์น้ำที่สำคัญของเมืองไทย ได้แก่ กลุ่ม Saprolegniaceae (*Achlya* spp. และ *Aphanomyces* spp.) ก่อให้เกิดโรค Saprolegniasis ในไข่และตัวอ่อนปลาน้ำจืดน้ำกร่อย และ *Lagenidium* spp. ก่อให้เกิดโรค shrimp mycosis ในลูกกุ้งน้ำเค็ม โรคเชื้อราในสัตว์น้ำก่อให้เกิดโรคได้ในทุกระยะอายุของสัตว์น้ำ และพบได้มากในการเพาะพันธุ์ ไข่และตัวอ่อนระยะแรกของปลาและกุ้งมีโอกาสสูงมากต่อการติดเชื้อรา ในขณะที่เพาะฟัก ทำให้อัตราการเพาะฟักต่ำหรือตายหมด เมื่อเกิดในโรงเรือนอนุบาล จะทำให้สัตว์น้ำวัยอ่อนตายหมด และเมื่อเกิดในบ่อเลี้ยงทำให้สัตว์น้ำโตช้า ทนตาย และอัตราการรอดต่ำ ได้เนื่อคุณภาพต่ำ

การรักษาโรคเชื้อราในสัตว์น้ำที่ได้ผล คือ การใช้มาลาไคท์กรีน ซึ่งสารเคมีชนิดนี้ตกค้างและเป็นสารก่อมะเร็งระดับสูง ทำให้ผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำไม่ปลอดภัยในการบริโภคและมีคุณภาพต่ำสำหรับการส่งออก ได้มีการวิจัยเพื่อใช้สารเคมีชนิดอื่น เช่น ไตรฟูราลิน โซเดียมไฮโปคลอไรท์เพื่อใช้แทนมาลาไคท์กรีน อย่างไรก็ตามสารเคมีเหล่านี้ก็ต้องมีการนำเข้าจากต่างประเทศ ทำให้ประเทศไทยเสียดุลการค้าได้

ทั้งๆที่มีรายงานว่าสมุนไพรไทยหลายชนิดมีฤทธิ์กำจัดเชื้อราในมนุษย์และพืชได้ แต่การวิจัยนี้ในสัตว์น้ำของเมืองไทยยังมีน้อยมาก งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อสำรวจหาสมุนไพรไทยที่มีฤทธิ์ต่อต้านเชื้อราก่อโรคของสัตว์น้ำได้ โดยใช้สารสกัดจากสมุนไพรไทยที่หาง่าย ราคาไม่แพง และนำไปหาแนวทางของโปรแกรมการใช้สารสกัดสมุนไพรทดแทนสารเคมีในการรักษาและกำจัดเชื้อราน้ำเหล่า นี้ ผลจากงานวิจัยนี้จะช่วยสนับสนุนการผลิตผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำที่ปลอดภัยปราศจากสารตกค้าง และมีคุณภาพสูง และเพิ่มมูลค่าแก่ผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำส่งออกได้เช่นกัน

วัตถุประสงค์ของการวิจัย
(ระยะเวลา 2 ปี : 2555-2556)

1. ศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดสมุนไพรต่อเชื้อราสาเหตุโรคที่สำคัญในสัตว์น้ำของไทย 3 ชนิด คือ *Achlya bisexualis* *Aphanomyces piscicida* และ *Lagenidium thermophilum* ในระยะ mycelium โดยหาค่า fungistatic effect และ fungicidal effect
2. ศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดสมุนไพรต่อเชื้อราสาเหตุโรคที่สำคัญดังกล่าวทั้ง 3 ชนิด ในระยะ zoospore โดยหาค่า MIC/MLC
3. ศึกษาความเป็นพิษของสารสกัดสมุนไพรไทยจากข้อ 1. และ 2. ต่อสัตว์น้ำ
4. ศึกษาแนวทางการใช้สารสกัดสมุนไพรไทยในการรักษาเชื้อราสาเหตุโรคที่สำคัญในสัตว์น้ำของไทย 3 ชนิด คือ *Achlya bisexualis* *Aphanomyces piscicida* และ *Lagenidium thermophilum*

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. องค์ความรู้ใหม่เกี่ยวกับสมุนไพรไทยที่มีฤทธิ์ต่อต้านเชื้อราสำคัญกลุ่ม Saprolegniaceae และ *Lagenidium* spp. ทดแทนยาและสารเคมีในสัตว์น้ำ
2. องค์ความรู้ใหม่เกี่ยวกับการใช้สารสกัดสมุนไพรไทยในการรักษาเชื้อราสำคัญกลุ่ม Saprolegniaceae และ *Lagenidium* spp. ทดแทนยาและสารเคมีในสัตว์น้ำ
3. ส่งเสริมการผลิตสัตว์น้ำคุณภาพสูง ปลอดภัยต่อผู้บริโภค และรักษาสิ่งแวดล้อม เช่น ระบบ GAP CoC และ ระบบอินทรีย์ เป็นต้น
4. ช่วยลดการนำเข้ายาและสารเคมีที่ใช้ในการรักษาโรคเชื้อราในสัตว์น้ำ
5. ส่งเสริมการประมงแบบเศรษฐกิจพอเพียง อนุรักษ์สิ่งแวดล้อม และระบบเกษตรยั่งยืน
6. เกษตรกรและผู้สนใจทั่วประเทศไทยสามารถนำไปประยุกต์ใช้ได้

หน่วยงานที่สามารถนำผลการวิจัยไปใช้ประโยชน์ ได้แก่

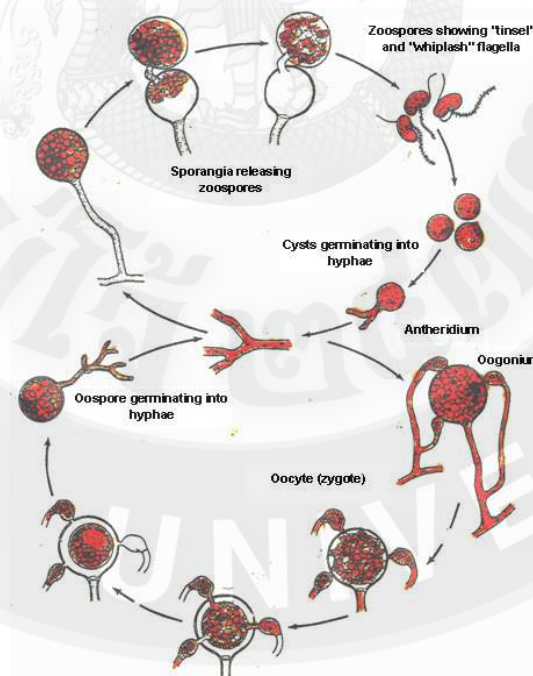
1. มหาวิทยาลัยแม่โจ้ และคณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ
2. เกษตรกรผู้เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ นักวิชาการ เกษตรกร อุตสาหกรรมและธุรกิจที่เกี่ยวข้องด้านการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ

การตรวจเอกสาร

1. เชื้อราน้ำ

เชื้อราที่ก่อโรคในสัตว์น้ำ จัดอยู่ในชั้น Oomycetes ซึ่งเป็นเชื้อราเทียม หรืออาจเรียกว่า “เชื้อราน้ำ” zoospores ของสมาชิกในชั้นนี้ มีเส้น (flagellum) 2 เส้น คือ “tinsel flagellum และ whiplash flagellum”

องค์ประกอบทางเคมีของผนังเซลล์ของราแต่ละชนิดจะแตกต่างกันไป บางชนิดมีองค์ประกอบของเซลลูโลส (cellulose) สูงมาก บางชนิดมีปริมาณของพวกลไคติน (chitin) สูง นอกจากนี้ยังมีพวกลโลส (callose) ซึ่งเป็น complex carbohydrate สารคล้ายลิกนิน (lignin) และอินทรีย์สารอื่นๆ ปะปนอยู่ด้วย องค์ประกอบทางเคมีต่างๆ เหล่านี้จะเปลี่ยนแปลงไปตามอายุของรา สำหรับราที่ไฮฟาไม่มีผนังกัน (non-septa) จะมีนิวเคลียส (nuclei) กระจายอยู่ทั่วไปในโปรโทพลาสซึม และไฮฟาแบบนี้เรียกว่า “coenocytic” ไฮฟาที่อยู่รวมกันหลายๆ เรียกว่าไมซีเลียม (mycelium) ซึ่งไมซีเลียมนี้เจริญมาจาก germ tube เป็นผลจากการที่สปอร์งอกแล้วขยายออกไปโดยรอบเป็นรัศมีทำให้มองเห็นเป็นโคโลนี (colony) (สิริพงศ์, 2506)



ภาพที่ 1 วงชีวิตของเชื้อรา Oomycetes

ที่มา : <http://schaechter.asmblog.org/schaechter/2009/11/fiv-1.html>

1.1 *Achlya bisexualis*

Johson (1956) ได้จัดจำแนกเชื้อรา *Achlya bisexualis* ตามอนุกรมวิธาน ดังนี้

Kingdom Stramenopila/Chromista

Phylum Oomycota

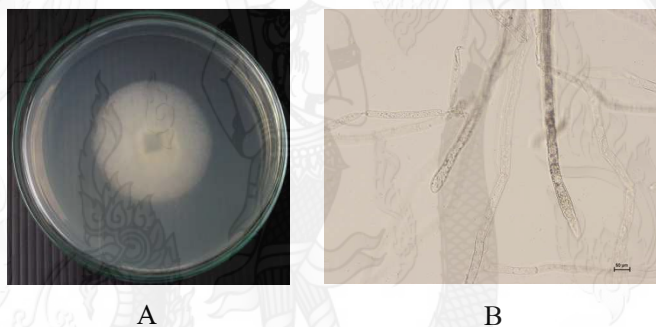
Class Oomycetes

Order Saprolegniaceae

Family Saprolegniaceae

Genus *Achlya*

Scientific *Achlya bisexualis*



ภาพที่ 2 เส้นใยเชื้อราน้ำ *Achlya bisexualis*

A บนอาหารเลี้ยงเชื้อ

B ลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (bar = 50 μ m)

ชีววิทยาบางประการ

พบเชื้อรา *A. bisexualis* ได้มากในช่วงเดือนพฤศจิกายน สามารถเจริญเติบโตได้ในอุณหภูมิช่วง 15-35 °C และเจริญเติบโตได้ดีที่อุณหภูมิ 35 °C pH 6.9-7.3 ความเป็นด่างในช่วง 46-123 mg/l ความกระด้างในช่วง 69-136 mg/l ปริมาณออกซิเจนละลายในช่วง 1.4-4.8 mg/l ปริมาณไอออนไนซ์แอมโมเนียในช่วง 0.0023-0.1009 mg/l ปริมาณคลอโรฟิลล์-เอ ในช่วง 0.83-50 mg/m³ และทนต่อความเค็มของโซเดียมคลอไรด์ได้ถึง 10 ppt อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการสร้าง zoospore คือ 25 °C และสามารถแพร่กระจายได้รวดเร็ว (จารุวัลย์, 2547)

ระบาดวิทยา

มีรายงานว่า *Achlya* ติดเชื้อในโรงเพาะฟัก เกิดได้ในไข่ปลาทุกชนิด ทำให้เกิดความเสียหาย ไข่ปลาที่มีเชื้อราเจริญสีขาวฟู มีอัตราการเพาะฟักต่ำ โดยส่วนใหญ่จะตายหมด และทำให้เกิดโรคเชื้อราในตัวปลาได้เช่นกัน

จารุวัลย์ (2547) รายงานว่า *Achlya* sp. สายพันธุ์ MHSK 06 ที่ความหนาแน่น 1×10^4 zoospores/ml สามารถชักนำให้ไข่ปลาตุกรัสเซียเกิดการติดเชื้อราได้สูง และทำให้มีอัตราการตายของไข่ปลาสูง มีอัตราการฟักเป็นตัวต่ำ

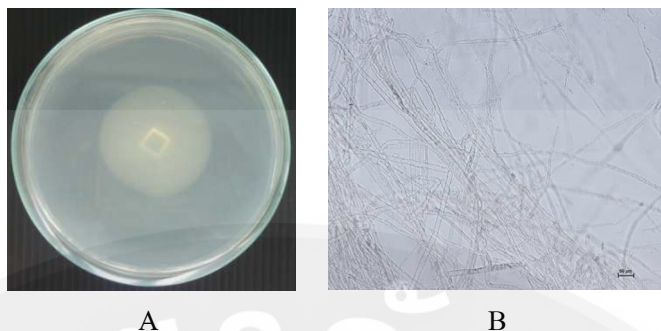
Panchai et al. (2007) ทำการแยกเชื้อราน้ำจากไข่ปลานิล จากโรงเพาะฟักในเขตจังหวัดกาฬสินธุ์ ขอนแก่น และสกลนคร พบว่าชนิดที่พบมากที่สุด คือ *A. bisexualis* เมื่อศึกษาการเจริญเติบโตของเส้นใย พบว่า สภาวะที่เหมาะสม คือ อุณหภูมิ $15-35^\circ\text{C}$ และ pH 4-11 โดยเส้นใยราสามารถเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งที่มีโซเดียมคลอไรด์ได้สูงถึง 15 ppt

จุฑารัตน์ และคณะ (ม.ป.ป.) รายงานว่า *Achlya* sp. สายพันธุ์ 4503 มีความรุนแรงในการก่อโรคในปลาแพลงก์ (Xiphophorus maculatus) ทำให้มีอัตราการตาย ร้อยละ 16.67 เห็นเส้นใยราเจริญสีขาวฟูบนตัวปลาที่ติดเชื้อ เมื่อศึกษาลักษณะพยาธิสภาพทางเนื้อเยื่อ พบว่ามีเส้นใยเจริญภายในเนื้อเยื่อกล้ามเนื้อ และทำให้เนื้อเยื่อบริเวณติดเชื้อตาย

1.2 *Aphanomyces piscicida*

Patterson and Sogin (1992) ได้จัดจำแนกเชื้อรา *Aphanomyces piscicida* ตามอนุกรมวิธาน ดังนี้

Kingdom	Stramenopila/Chromista
Phylum	Oomycota
Class	Oomycetes
Order	Saprolegniaceae
Family	Saprolegniaceae
Genus	<i>Aphanomyces</i>
Species	<i>invadans</i> / <i>piscicida</i>



ภาพที่ 3 เส้นใยเชื้อรา *Aphanomyces piscicida* NJM9510

A บนอาหารเลี้ยงเชื้อ

B ลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (bar = 50 μ m)

ชีววิทยาบางประการ

เชื้อราสกุล *Aphanomyces* พบได้ทั้งที่เป็นพวกย่อยสลาย (saprobe) ในดิน และเป็นปรสิตของสัตว์น้ำ อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของเส้นใย ที่อุณหภูมิ 30 °C pH 8-10 เส้นใยของรา *Aphanomyces* มีขนาดเล็กกว่าของรา *Achlya* มาก การสร้าง zoosporangium ลักษณะเป็นท่อยาวคล้ายเส้นใย ภายในเป็นที่เกิดของ zoospore ซึ่งเรียงตัวอยู่เป็นแถวเดียว ในการปล่อยของ zoospore นั้น zoospore แต่ละตัวจะค่อยๆเคลื่อนที่ออกมาทางปากเปิดของ zoosporangium ทีละตัว โดยมี cytoplasmic เชื่อมโยง และสภาวะแวดล้อมมีส่วนควบคุมการเกิด zoospore การเข้าชีวิตของ primary zoospore สามารถเข้าชีวิตได้ทันที (วิชัย, 2551)

คุณสมบัติเฉพาะของเชื้อรา *A. invadans* คือ เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 26-30 °C (Hatai and Egusa, 1978; Fraser et al., 1992; Lilley and Roberts, 1997)

ระบาดวิทยา

มีรายงานว่า เชื้อราสกุล *Aphanomyces* มักทำให้เกิดโรคกับปลาในเขตร้อน ได้แก่

เชื้อรา *A. laevis* ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่ไม่พบการสร้างโครงสร้างสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ จากปลาแพลทตี้ (Vishniae and Nigrelli, 1957; Shanor and Saslow, 1944)

เชื้อรา *A. astaci* ถูกแยกได้จาก European crayfish (*Astacus astacus*) ที่เป็นโรค crayfish plague และ (Unestam, 1965)

A. piscicida สามารถเจริญได้ในก้ามเนื้อปลาช่อนที่อุณหภูมิระหว่าง 19-31 °C และเจริญได้ดีในปลาช่อนที่อุณหภูมิระหว่าง 26-30 °C แต่ไม่สามารถเจริญในปลาช่อนที่อุณหภูมิต่ำกว่า 19 °C (Chinabut et al., 1995) *Aphanomyces* sp. NJM 9201 ที่ความหนาแน่น 2.5×10^4 zoospore/ml สามารถก่อโรคในปลาในปลาทอง (*Carassius auratus*) และปลาตายหลังจากได้รับเชื้อ (Hatai et al., 1994) ส่วนเชื้อ *A. piscicida* ทำให้เกิดโรค mycotic granulomatosis (MG) ในปลาทอง ซึ่งได้ตรวจสอบเพื่อยืนยันชนิดเชื้อราโดยใช้เทคนิค PCR (Phadee et al. 2004)

เส้นใยเชื้อราและสปอร์ที่ลอยในน้ำ จะลอยหาแหล่งอาหาร เมื่อปลาที่มีผิวหนังถลอกหรือเป็นแผล สามารถติดเชื้อราได้ง่าย ทำให้เชื้อรา *Aphanomyces* sp. มาเกาะอาศัยและเจริญอยู่เป็นกลุ่มสีขาว คล้ายลำลีหรือปุยฝ้าย เส้นใยเชื้อราสามารถแทรกเข้าในก้ามเนื้อ ก่อให้เกิดความรุนแรง และพบแผลมีลักษณะเป็นหลุม ท้องบวม ทำให้เกิดติดเชื้อมาร่วมกับแบคทีเรียได้ ระดับความอันตรายขึ้นอยู่กับปริมาณการติดเชื้อ หากเป็นบริเวณกว้าง จะทำให้ปลาเสียอิลคโตรไลต์และตายได้ (Wada, 1994)

Aphanomyces sp. สายพันธุ์ MHSK 12 ที่ระดับความหนาแน่น 1×10^4 zoospores/ml มีผลทำให้ไข่ปลาครกตเสียติดเชื้อมาน้ำได้ และทำให้ไข่ปลาที่มีอัตราการตายสูง มีอัตราการฟักเป็นตัวต่ำ เมื่อทำการตรวจสอบลักษณะพยาธิสภาพวิทยาของไข่ปลาที่ติดเชื้อรา พบว่ามีรูพรุนจำนวนมากเกิดขึ้นที่เยื่อหุ้มไข่ เนื่องจากเส้นใยราแทรกผ่านทะลุเยื่อหุ้มไข่และไปสะสมที่ไซโตพลาสซึม (Hanjavanit et al., 2008)

การเกิดโรคระบาดในปลาจากเชื้อรานี้ มีลักษณะเฉพาะทางเนื้อเยื่อ คือ เกิด mycotic granuloma บริเวณแผลและอวัยวะภายใน ได้ส่งผลกระทบต่อปลาน้ำจืดและน้ำกร่อย ในหลายประเทศแถบเอเชียและออสเตรเลีย โดยมีผู้ตั้งชื่อไว้หลายชื่อ ได้แก่ mycotic granulomatosis (MG) ในประเทศญี่ปุ่น (Egusa and Masuda, 1971) red spot disease (RSD) ในประเทศออสเตรเลีย (Mckenzie and Hall, 1976) ulcerative mycosis (UM) ในประเทศสหรัฐอเมริกา (Blazer et al., 1999) และ epizootic ulcerative syndrome (EUS) ในประเทศแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ (FAO, 1986) ทั้ง MG RSD UM และ EUS ในอดีตมีผู้อธิบายว่าเกิดจากหลายสาเหตุ แต่ในปัจจุบันมีการศึกษาพบว่าสาเหตุของโรคคือเชื้อราในชนิด *A. invadans* (Lilley et al., 1998) โดย zoospore ของเชื้อราชนิดนี้ที่เกาะผิวหนังปลาสามารถแตกหน่อ (germinated) และแทรกเข้าผิวหนังปลา เป็นตัวทำให้เกิดโรคอันดับที่หนึ่ง (primary pathogen) ในปลา menhaden (*Brevoortia tyrannus*) ได้ (Kiryu et al., 2003)

สำหรับโรคระบาด mycotic granulomatosis (MG) ในปลา มีรายงานครั้งแรกในฤดูร้อน ปี ค.ศ. 1971 ที่ฟาร์มเลี้ยงปลา ayu (*Plecoglossus altivelis*) ที่เมืองโออิตะ ประเทศญี่ปุ่น (Egusa and Masuda, 1971) อาการภายนอก คือ มีแผลเป็นจุดแดงบนผิวหนังมากกว่าหนึ่งตำแหน่ง มีเส้นใยของเชื้อราแทรกเข้าไปในชั้นกล้ามเนื้อ ปลาบางตัวที่มีอาการรุนแรง จะพบแผลบวมพอง ผิวหนังแห้ง

เป็นหลุม ปลามีการตอบสนองด้วยการสร้าง mycotic granuloma บริเวณแผล (Miyazaki and Egusa, 1972) มีรายงานการแพร่กระจายของโรคนี้ไปยังเมืองที่อยู่ใกล้เคียง และเกิดกับปลาหลายชนิด แต่ที่พบมาก คือ ปลาอะยู ปลาทอง (*Carassius auratus*) และ ปลาช่อน (*Channa maculata*) ในปลาธรรมชาติที่บริเวณเกาะได้หวั่นพบปลาหลายชนิดที่มีอาการของโรคนี้ เช่น ปลาดุก (Lepomis macrochirus) และปลากระบอก (*Mugil cephalus*) (Miyazaki and Egusa, 1972) แต่เป็นที่น่าสังเกตว่า ไม่พบปลาไน (*Cyprinus carpio*) ป่วยเป็นโรคนี้ (Hatai et al., 1977) เมื่อทำการแยกเชื้อราในกลุ่ม oomycete จากกล้ามเนื้อปลาป่วยและเรียกเชื้อรานี้ว่า *A. piscicida* (Hatai, 1980) ซึ่งเมื่อทำการตรวจสอบ พบว่าเชื้อราชนิดนี้เป็นชนิดเดียวกับ *A. invadans* ที่ทำให้เกิดโรค EUS (Lilley et al., 1997a, 1997b)

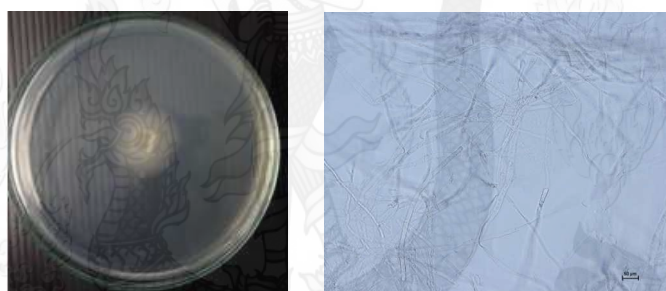
ส่วนโรค Epizootic Ulcerative Syndrome (EUS) หรือโรคแผลเน่าเปื่อยในปลา ซึ่งตั้งชื่อโดยผู้เชี่ยวชาญที่ทำการศึกษาด้านโรคสัตว์น้ำจากทั่วโลก ที่กรุงเทพฯ (FAO, 1986) พบว่าโรค EUS เกิดจากเชื้อรา *A. piscicida* หรือ *A. invadans* เป็นเชื้อสำคัญ ร่วมกับเชื้อไวรัสและแบคทีเรีย อาการของสำคัญที่ปรากฏ คือ มีแผลหลุมที่ลำตัว ทำให้ปลาน้ำจืดและปลาน้ำกร่อยเกิดการตายจำนวนมาก การระบาดเกิดขึ้นอย่างรุนแรงกับปลาน้ำจืดและน้ำกร่อยมากกว่า 100 ชนิด พบแพร่กระจายในหลายประเทศ แถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ อินเดีย และบังกลาเทศ (Frerichs et al., 1986; Lilley et al., 1992) ในปี ค.ศ.1975-1976 พบการระบาดในปลาที่แม่น้ำทางตอนใต้ของปาปัวนิวกินี (Haines, 1983) ปี ค.ศ.1981 เริ่มมีรายงานการระบาดในประเทศไทย (Menasaveta, 1985) ต่อมาปี ค.ศ.1982-1983 พบปลาน้ำจืด (*Ophieotrisaporos* และ *Oxyeleotris heterodon*) และปลากระบอก (*Mugil cephalus*) ในน้ำกร่อยทางตอนใต้ โดยมีรายงานการเกิดโรค EUS แล้วใน 18 ประเทศแถบเอเชียแปซิฟิก ช่วง 20 ปีที่ผ่านมา ซึ่งเป็นระยะแรกๆ ของการเข้าสู่ระบบการเลี้ยงแบบพัฒนา โรค EUS ถือว่าเป็นปัญหาใหญ่ต่อการประมงในแถบเอเชียใต้ เนื่องจากต้องสูญเสียพื้นที่ในการจับและเลี้ยงปลา เป็นการทำลายความเชื่อมั่นในอุตสาหกรรมเพาะเลี้ยง (Lilley et al., 1998)

การระบาดในประเทศไทย จะเริ่มขึ้นเมื่อหมดฤดูฝนและเข้าสู่ฤดูหนาว ในช่วงเดือนกันยายน - มีนาคม โดยพบการระบาดมากช่วงที่มีอากาศหนาวในเดือนธันวาคม - มกราคม เมื่อปี ค.ศ.1996 ได้พบการระบาดของ EUS ในภาคอีสาน ภาคกลาง และบางจังหวัดทางภาคใต้ของประเทศ (Lilley et al., 1998) มีรายงานการแยกเชื้อรา *A. invadans* ได้จากปลาช่อนป่วยจากจังหวัดสุพรรณบุรี (Roberts et al., 1993)

1.3 *Lagenidium thermophilum*

Whittaker et al. (1978) ได้จัดจำแนกเชื้อรา *Lagenidium thermophilum* ตามอนุกรมวิธาน ดังนี้

Domain	Eukaryota
Kingdom	Chromista
Phylum	Oomycota
Class	Oomycetes
Order	Pythiales
Family	Pythiaceae
Genus	<i>Lagenidium</i>
Species	<i>thermophilum</i>



A

B

ภาพที่ 4 เส้นใยเชื้อรา *Lagenidium thermophilum* NJM731

A บนอาหารเลี้ยงเชื้อ

B ลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (50 μm)

ชีววิทยาบางประการ

เป็นเชื้อราชั้นต่ำ ไม่มีผนังกัน มีเส้นใยขนาดใหญ่ ขนาดกว้างเส้นผ่าศูนย์กลาง 20-50 μm รูปร่างไม่แน่นอน ในตัวกึ่งเข้าบ้าน พบมีการสร้างอวัยวะสืบพันธุ์แบบไม่มีเพศ ลักษณะคล้ายอับสปอร์ ภายในมีสปอร์ขนาดเล็กๆ จำนวนมาก สปอร์มีรูปร่างคล้ายเม็ดถั่ว มีเสาด้านข้างใช้ในการเคลื่อนที่ ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางสปอร์เฉลี่ย 6-8 μm เมื่อเลี้ยงด้วยอาหาร PGYS เจริญได้ดีที่อุณหภูมิห้อง (28-30 $^{\circ}\text{C}$) ลักษณะโคโลนีเป็นเส้นใย ไม่มีสี คล้ายปุยฝ้าย แบบผิวหน้าชื้นหรือมีน้ำเป็น

เมื่อขนาดละเอียด เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี 5-6 เซนติเมตร มีการสร้างอวัยวะสืบพันธุ์คล้ายอับสปอร์ ลักษณะกลม ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 28-30 ไมโครเมตร เรียกว่า vesicle บนท้องอก ลักษณะตรง ระยะความสมบูรณ์ของอับสปอร์จะแตกต่างกัน และภายในอับสปอร์ที่สมบูรณ์ มีสปอร์ขนาดเล็กจำนวน 30-50 สปอร์ แต่ละสปอร์มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 6-9 μm เมื่ออับสปอร์เจริญเติบโตเต็มที่ ประมาณ 34 ชั่วโมง ผนังอับสปอร์ที่มีลักษณะบางๆ จะแตก และปล่อยสปอร์ว่ายน้ำออกสู่ภายนอกอย่างรวดเร็ว (องอาจ และคิชิโอะ, 2533; องอาจ และคณะ, 2546)

ระบาดวิทยา

เชื้อราชนิดนี้พบก่อโรคในสัตว์พวกกุ้งปู โดยสามารถตรวจพบได้ทั่วไป ในประเทศไทย พบโรคนี้นี้เกิดกับลูกกุ้งกุลาดำ และเป็นสาเหตุการตายของลูกกุ้งวัยอ่อนในอัตราที่สูงมาก ลูกกุ้งที่ติดเชื้อราจะแสดงอาการกล้ามเนื้อขาวขุ่น แทรกอยู่ตามอวัยวะต่างๆ เมื่อตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ที่ กำลังขยาย 40 เท่า พบการบุกรุกของเชื้อราไปตามส่วนต่างๆ ของร่างกาย ได้แก่ ก้านตา เหงือก ส่วนอก ส่วนลำตัว ระบายค้ำว่ายน้ำ ขาเดิน และแพนหาง สามารถพบเชื้อราได้ในลูกกุ้งระยะต่างๆ ทั้งระยะ นอเพลีส ซูเลีย ไมซิส และโพสลาวา เชื้อราชนิดนี้มีการติดเชื้อมาก ทำให้ลูกกุ้งตายทั้งบ่อในระยะเวลาเพียง 2-3 วันเท่านั้น (ลีลาและคณะ, 2528; องอาจและคิชิโอะ, 2533; องอาจและคณะ, 2546)

1.4 การรักษาโรคเชื้อรา

การใช้สารเคมีและยาปฏิชีวนะ

ในอดีตการรักษาโรคเชื้อราในสัตว์น้ำได้ใช้มาลาไคท์กรีน ซึ่งสารก่อมะเร็งระดับสูง และมีโอกาสตกค้างสูง ทำให้ผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำไม่ปลอดภัยในการบริโภคและมีคุณภาพต่ำสำหรับการส่งออก

ปัจจุบันได้มีการวิจัยเพื่อใช้สารเคมีชนิดอื่นหรือยาปฏิชีวนะ เพื่อการป้องกันโรคที่เกิดจากเชื้อราน้ำแทนมาลาไคท์กรีน เช่น ไตรฟูราลิน (trifuralin) โซเดียมไฮโปคลอไรท์ (sodium hypochlorite) ไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ (hydrogen peroxide) ฟอรัมาลิน (formalin) เป็นต้น อย่างไรก็ตามสารเคมีเหล่านี้ก็ต้องมีการนำเข้าจากต่างประเทศ ทำให้ประเทศไทยเสียดุลการค้าได้

Kitancharoen (1997) พบว่าสารไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ (hydrogen peroxide) สามารถยับยั้งซุสสปอร์ (zoospore) และระยะมีการเจริญ (vegetative stage) ของสปอร์ โดยมีอัตราการใช้

ไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ (hydrogen peroxide) ในการยับยั้ง zoospore ที่ 500 µg/ml เป็นเวลา 60 นาที และยับยั้งในระยะมีการเจริญ 1,000 µg/ml เป็นเวลา 60 นาที

Hanjavanit et al. (2005) รายงานว่าสารโซเดียมไฮโปคลอไรท์ (sodium hypochlorite) สามารถยับยั้งไมซีเลียมและยับยั้งการงอกของสปอร์ของ *Saprolegnia diclina* ได้ ดังนี้ พบว่า สำหรับยับยั้งไมซีเลียม ใช้ความเข้มข้น 20 มิลลิกรัม/ลิตร แช่นาน 60 นาที และสำหรับยับยั้งการงอกของสปอร์ ใช้ความเข้มข้น 2.5 mg/l แช่นาน 5 นาที

Hanjavanit et al. (2006) ได้รายงานการทดสอบใช้สารโซเดียมไฮโปคลอไรท์ (sodium hypochlorite) เพื่อป้องกันการติดเชื้อราในไข่ปลาแซลมอน โดยทดสอบการติดเชื้อราในไข่ปลาจนถึงระยะ eye stages พบว่า ไข่ปลาที่แช่โซเดียมไฮโปคลอไรท์ มีการติดเชื้อรา 33.4% ขณะที่กลุ่มควบคุม ไข่ปลาที่มีการติดเชื้อรา 98.6% ส่วนการทดสอบในระยะ eye stages พบว่า กลุ่มที่แช่มีการติดเชื้อราได้สูงสุด 59.3% ขณะที่กลุ่มควบคุมมีการติดเชื้อ 97.5% จึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $P < 0.01$ ดังนั้นโซเดียมไฮโปคลอไรท์สามารถใช้ในการป้องกันการติดเชื้อราในไข่ปลาแซลมอนได้

Thanh et al. (2006) ได้รายงานการใช้สารเคมี ไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ (hydrogen peroxide) ไอโอดีน (iodine) เจนเชียนไวโอเลต (gentian violet) โซเดียมเบนโซเอต (sodium benzoate) นิสเตติน (nystatin) กริซีโอฟลาวิน (griseofulvin) และโพแทสเซียมไดโครเมต (potassium dichromate) ในการยับยั้งการเจริญเชื้อรา *Achlya* sp. ในระยะไมซีเลียม พบว่า สารเคมีที่สามารถยับยั้งเชื้อได้ คือ เจนเชียนไวโอเลต (gentian violet) ที่ความเข้มข้น 1.5 ppm และ ไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ (hydrogen peroxide) ที่ความเข้มข้น 500 ppm

Ghomi et al. (2007) ได้เปรียบเทียบการใช้โอโซน (ozone) ที่ความเข้มข้น 0.05, 0.1 และ 0.15 ppm และ ไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ (hydrogen peroxide) ที่ความเข้มข้น 500 ppm และ 1,000 ppm เพื่อป้องกันการติดเชื้อรา โดยในระหว่างการทดลองได้มีการกำจัดไข่ปลาที่ติดเชื้อออก 5 ครั้งต่อวัน และไม่กำจัดไข่ที่ติดเชื้อออก พบว่า กลุ่มทดลองโอโซน 0.15 ppm และมีการกำจัดไข่ที่ติดเชื้อออก มีอัตราการฟักเป็นตัวสูง 76.4% และมีอัตราการเพาะฟักเพิ่ม 16.1% เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่กำจัดไข่ที่ติดเชื้อออกระหว่างทดลอง ส่วนไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ (hydrogen peroxide) 1,000 ppm ในกลุ่มทดลองที่กำจัดไข่ที่ติดเชื้อออกระหว่างทดลอง พบว่ามีอัตราการเพาะฟักสูงถึง 78%

การใช้สมุนไพร

Sundaram et al. (1983) ศึกษาคุณสมบัติการยับยั้งแบคทีเรียและเชื้อรา ของสารจากเปลือกมังคุด แอลฟา-แมงโกสติน (alpha-mangostins) แบ่งเป็นอนุพันธ์ 4 ชนิด คือ แอลฟา-แมงโกสติน ไอโซแมงโกสติน (isomangostin) 3-โอ-เมทิล แมงโกสติน (3-O-methyl mangostin) และ 3,6-ได-โอ-เมทิล แมงโกสติน (3,6-di-O-methyl mangostin) สำหรับเชื้อแบคทีเรีย พบว่า เชื้อราสามารถยับยั้งแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* *Penicillium aeruginosa* *Salmonella typhimurium* และ *Bacillus subtilis* ได้สูงที่สุด และสามารถยับยั้ง *Proteus* sp., *Klebsiella* sp. และ *Escherichia coli* ได้ปานกลาง ส่วนการยับยั้งเชื้อรา พบว่า เชื้อราสามารถยับยั้งเชื้อรา *Epidermophyton floccosum* *Alternaria solani* *Mucor* sp., *Rhizopus* sp. และ *Cunninghamella echinulata* ได้สูงที่สุด และสามารถยับยั้งเชื้อรา *Trichophyton mentagrophytes* *Microsporum canis* *Aspergillus niger* *Aspergillus flavus* *Penicillium* sp., *Fusarium roseum* และ *Curvularia lunata* ได้ปานกลาง ความเข้มข้นที่เหมาะสมที่สุดในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ คือ ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ (minimal inhibitory concentration, MIC) แอลฟา-แมงโกสตินที่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ อยู่ระหว่าง 12.5 และ 50 $\mu\text{g/ml}$ และมี MIC ต่ำสุด อยู่ระหว่าง 1 และ 5 $\mu\text{g/ml}$ เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราของอนุพันธ์ 4 ชนิด ตามลำดับจากมากไปหาน้อย ดังนี้ แอลฟา-แมงโกสติน, ไอโซแมงโกสติน, 3-โอ-เมทิล แมงโกสติน และ 3,6-ได-โอ-เมทิล แมงโกสติน

Hussein et al. (2000) ได้ศึกษาประสิทธิภาพของน้ำมันกานพลูต่อเชื้อรา *Saprolegnia parasitica*, *S. diclina*, *S. ferax*, *S. salmonis*, *Achlya klebsiana*, และ *Aphanomyces piscicida* ที่แยกได้จากปลา rainbow trout พบว่า น้ำมันกานพลูมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อราน้ำทั้งหมดได้ดี เมื่อทดสอบความเป็นพิษ พบว่า มีความเป็นพิษต่อปลาแซลมอนสูง แต่เป็นพิษต่อปลากลุ่ม cyprinids ต่ำ

Udomkusonsri et al. (2007) ศึกษากิจกรรมการยับยั้งเชื้อรา *saprolegnia parasitica* H2 ด้วยสารสกัดของ ข่า พลุทองพันชั่ง (ใบ) ว่านหอม (ใบและราก) ซึ่งสกัดด้วยเอทานอล พบว่า ความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดสมุนไพรที่สามารถยับยั้งเชื้อราได้ คือ สารสกัดใบพลู 500 mg/l สารสกัดรากว่านหอม 125 $\mu\text{g/ml}$ สารสกัดใบทองพันชั่ง 500 mg/l ส่วนสารสกัดข่า และสารสกัดใบว่านหอม 500 mg/l สามารถยับยั้งได้ต่ำสุด สำหรับความเข้มข้นที่ให้ประสิทธิภาพดีในการฆ่าเชื้อ *S. parasitica* H2 ได้แก่ สารสกัดใบพลู ที่ความเข้มข้น 500 mg/l แช่นาน 24 ชั่วโมง ใบทองพันชั่ง ที่ความเข้มข้น 5,000 mg/l แช่นาน 24 ชั่วโมง และใบของว่านหอม ที่ความเข้มข้น 50 mg/l แช่นาน 120 นาที

Borisutpeth et al. (2009) ศึกษาผลสารสกัดสมุนไพรไทย 5 ชนิด คือ ใบฝรั่ง มะขาม สารภี ใบพลู และ กุหลาบแดง ที่สกัดด้วยเมทานอล ต่อการควบคุมการติดเชื้อของเชื้อราในไข่ปลา

นิต พบว่า สารสกัดจากใบฝรั่งและใบพลู สามารถต่อต้านการเจริญเส้นใยของเชื้อรา *Saprolegnia diclina* สายพันธุ์ NJM 0208 *Achlya* sp. สายพันธุ์ NJM 0323 และ *Aphanomyces invadans* สายพันธุ์ NJM 0002 ได้ดีกว่าพืชสมุนไพรอีก 3 ชนิด เมื่อทำการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดใบฝรั่งและใบพลูต่อการกำจัด zoospore (fungicidal effect) ของเชื้อราทั้ง 3 สายพันธุ์ พบว่า ใช้สารสกัดที่ความเข้มข้น 125-250 mg/l แช่นาน 24 ชั่วโมง

นอกจากนี้ นักวิจัยบางกลุ่ม ได้ทำการศึกษาประสิทธิภาพบางประการของกระเทียม ขมิ้นชัน และสมุนไพรอื่นต่อเชื้อราในสัตว์น้ำ ซึ่งได้สรุปไว้ในหัวข้อของสมุนไพรแต่ละชนิด อย่างไรก็ตาม การศึกษาวิจัยของไทยยังมีน้อย และยังไม่มียางานการนำมาใช้ปฏิบัติได้

2. สมุนไพร

2.1 กระเทียม

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Allium sativum* Linn.

วงศ์ : Alliaceae

ชื่อท้องถิ่น : กระเทียม (ภาคกลาง), หอมขาว หอมเทียม (ภาคเหนือ), หอมขาว (ภาคอีสาน), เทียม หอมเทียม (ภาคใต้)

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

กระเทียมเป็นพืชล้มลุก มีลำต้นใต้ดินชนิดหัว หัวมีลักษณะเป็นกลีบ หลายๆ กลีบเกาะกันแน่น สีขาว ใบเดี่ยวมีลักษณะยาวแบน สีเขียวเข้มคล้ายใบหญ้า ดอกมีสีขาวออกเป็นช่อเล็กๆ ทุกส่วนของลำต้นมีกลิ่นฉุนกระเทียมเป็นพืชที่มีกลิ่นเฉพาะตัวอย่างรุนแรง เนื่องจากในกระเทียมมีสารจำพวกกำมะถันหลายชนิดเป็นส่วนประกอบ กระเทียมมีถิ่นกำเนิดในทวีปยุโรปและทวีปเอเชียตอนกลาง แต่มีการนำมาปลูกทั่วๆ ไป ส่วนที่นำมาใช้คือ หัวและใบ (วันดี, 2537)

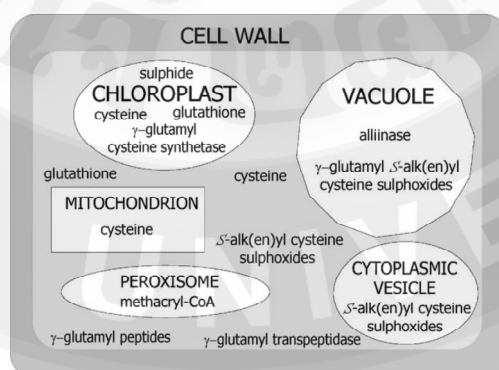
กระเทียมอยู่ในตระกูลเดียวกับหอมหัวใหญ่และหอมแดงต่างกันตรงที่หัวหอมจะเป็นบัลบ์ (bulb) ขนาดใหญ่อันเดียว ส่วนกระเทียมจะประกอบด้วยบัลบ์มีขนาดเล็กหลายอันเรียกว่า กลีบ (cloves) ซึ่งห่อหุ้มด้วยเปลือกที่มีลักษณะบางๆ หลายชั้น นอกจากส่วนของกลีบที่ใช้ในการบริโภคใบกระเทียมก็สามารถนำไปบริโภคได้ด้วย ใบกระเทียมสามารถออกดอกให้ผลและเมล็ด รวมทั้งบัลบ์เลต (bulblets) ซึ่งสามารถนำไปขยายพันธุ์ได้ แต่นิยมการขยายพันธุ์ด้วยกลีบ เพราะให้ผลดีมากกว่า

องค์ประกอบทางเคมี

กระเทียมประกอบด้วยสารสำคัญต่างๆ คือ เอนไซม์อัลลิเนส (allinase) อัจอีน (ajoene) ไวนิลไดไทอิน (vinyl dithiols) สารอินทรีย์กำมะถันอัลลิอิน (alliin) สารประกอบอินทรีย์กำมะถันอื่น (sulfides) และสารที่ไม่ระเหย non-volatile γ -glutamylcysteine peptides ที่ทำให้กระเทียมมีกลิ่นหอมฉุนเผ็ดร้อน และเมื่อนำหัวกระเทียมสดมากลั่นด้วยไอน้ำจะได้ น้ำมันกระเทียม (garlic oil) นอกจากนี้กระเทียมยังมีสารอาหารอื่นๆ ที่มีประโยชน์ ได้แก่ โปรตีน น้ำตาล คาร์โบไฮเดรต โกลโคไซด์ กรดไขมัน กรดอะมิโน วิตามินต่างๆ เช่น วิตามินเอ แคโรทีน บีหนึ่ง บีสอง และ ซี เป็นต้น และแร่ธาตุต่างๆ เช่น แคลเซียม โปแตสเซียม เหล็ก ซิลิเนียม และเซเลเนียม เป็นต้น (วิไลศรี และคณะ, 2554)

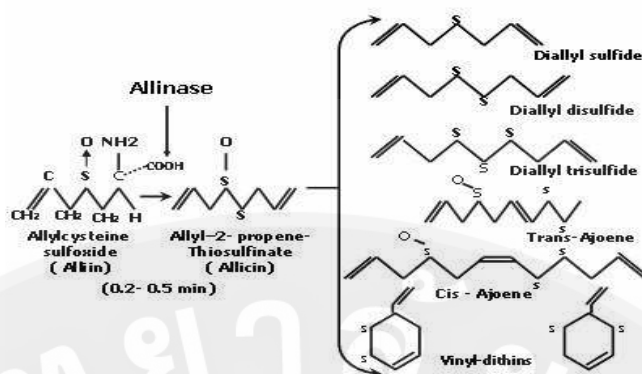
เซลล์ที่มีเอนไซม์ allinase ของกระเทียมจะอยู่ในกลุ่มเซลล์ล้อมรอบกลุ่มท่อลำเลียง ซึ่งเรียกว่า bundle sheath cell เมื่อมีการบดให้แตกออก เอนไซม์ allinase จะเปลี่ยน alliin ให้เป็นน้ำมันหอมระเหยอัลลิซิน (allicin) (Jones et al., 2004) allicin สามารถรวมตัวกับวิตามินบี 1 ได้เป็น allithiamine เมื่อเข้าสู่ร่างกายคนและสัตว์แล้วจึงแตกตัวเป็นวิตามินบี 1 และ allicin แล้ว วิตามินบี 1 จะถูกดูดซึมเข้าสู่ร่างกายและใช้ประโยชน์ต่อไป

สารสำคัญอื่นๆ ในน้ำมันกระเทียม ที่ทำให้กระเทียมมีกลิ่นเฉพาะตัว คือ กลุ่มกำมะถัน ซึ่งมีอยู่มากถึง 0.9 % ประกอบด้วย diallyl sulfide, diallyl trisulfide, *S*-allyl cysteine sulfoxide, *S*-methyl cysteine sulfoxide, *trans*-*S*-1-propenyl cysteine sulfoxide และ *S*-propyl cysteine sulfoxide ซึ่งมีฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรียหลายชนิดอย่างมีประสิทธิภาพ



ภาพที่ 5 ตำแหน่งที่เก็บสารสำคัญในโครงสร้างเซลล์ของกระเทียม

ที่มา : Jones et al. (2004)



ภาพที่ 6 สูตรโครงสร้างสารที่พบในกระเทียม

ที่มา: สิรินารถ (2554)

สรรพคุณ

สารในกระเทียมสามารถป้องกันโรคหัวใจ ลดการอุดตันของเส้นเลือด ลดการเกาะตัวของเกร็ดเลือด และโรคมะเร็ง โดยสารประกอบในกระเทียมจะไปทำหน้าที่ในการยับยั้งการเกิดสารก่อมะเร็งที่ชื่อไนโตรซามีนในร่างกาย ซึ่งช่วยป้องกันการเป็นมะเร็งได้ อีกทั้งยังช่วยเสริมสร้างภูมิคุ้มกัน โดยจะช่วยเสริมสร้างภูมิคุ้มกันของร่างกายให้เพิ่มขึ้น เช่น macrophages T-lymphocyte activity และ antibody production นอกจากนี้แล้วยังพบว่ากระเทียมมีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อโรค เชื้อไวรัส และเชื้อราอีกด้วย (พะเยาว์, 2526; วันดี, 2539)

สารอัลลิซินสกัดจากกระเทียม สามารถยับยั้งเชื้อรา *Alternaria brassicicola*, *Botrytis cinerea*, *Plectosphaerella cucumerina*, *Magnaporthe grisea* (Curtis et al., 2009) สารสกัดกระเทียมที่สกัดด้วยตัวทำละลาย น้ำ พบว่า กระเทียมมีสารอัลลิซิน และสารสามารถยับยั้งการงอกของสปอร์ *Phytophthora capsici* ได้ที่ความเข้มข้นอัลลิซิน 75 % (Khan et al., 2011) สารสกัดกระเทียมสกัดด้วยตัวทำละลายน้ำ พบว่าในกระเทียมมีสารอัลลิซิน และสารสามารถยับยั้งเชื้อ *Candida albicans*, *Candida utilis*, *Saccharomyces cerevisiae* ได้ (Kim and Kyung, 2003) และสารสกัดกระเทียมสกัดด้วยตัวทำละลาย น้ำ เอทานอล 95% สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Streptococcus agalactiae* (Rattanachakunsopon et al., 2009)

สมพร (2542) รายงานว่า สารกลุ่มกำมะถันของกระเทียม มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย ส่วน allicin มีคุณสมบัติรวมกับโปรตีนได้ คุณสมบัตินี้ทำให้กระเทียมเป็นยาปฏิชีวนะได้ เพราะ allicin จะไปรวมกับโปรตีนของเชื้อโรคซึ่งเท่ากับเป็นการทำลายหรือฆ่าเชื้อโรคนั้นๆ นอกจากนี้ allicin ยังมีฤทธิ์ในการกระตุ้นให้เกิดการหลั่งน้ำย่อยในกระเพาะที่สำคัญหลายชนิด และ

น้ำย่อยเหล่านี้บางชนิดสามารถทำลายเชื้อโรคได้ นอกจากนี้เอนไซม์ allinase ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่สามารถเปลี่ยน alliin ให้เป็น allicin ที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย

Pazewski (1978) อ้างโดย จำลอง (2534) กล่าวว่า สารสกัดจากแอลกอฮอล์ หรือผงกระเทียมแห้งไม่ได้ผลิตเอนไซม์ที่กระเทียมสด จากคุณสมบัติทางเคมีถ้าใช้กระเทียมเพื่อรักษาโรคติดเชื้อน่าจะคำนึงถึงเรื่องความคงตัวของอัลลิซิน และเลือกวิธีการเตรียมที่เหมาะสม และ Mabrouk (1981) อ้างโดย จำลอง (2534) กล่าวว่า กระเทียมสามารถฆ่าเชื้อราได้ แต่ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียได้เท่านั้น นอกจากนี้กระเทียมยังสามารถยับยั้งการสร้าง mycelium และป้องกันการผลิต aflatoxin

Ankri and Mirelman (1999) อัลลิซินสารที่พบในกระเทียม มีคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ เช่น ฤทธิ์ต้านแบคทีเรียทั้งแกรมลบและแกรมบวก รวมทั้งสายพันธุ์ที่ดื้อต่อยาปฏิชีวนะต้านเชื้อราโดยเฉพาะ *Candida albicans* รวมถึงปรสิตโปรโตซัวในลำไส้ของมนุษย์ เช่น เชื้อบิดอะมีบา *Giardia lamblia* และด้านไวรัส

Ghahfarokhi et al. (2003) กระเทียมสกัดด้วยน้ำสามารถยับยั้งเชื้อรา *Trichophyton mentagrophytes* ซึ่งความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อ 0.62 % v/v ยับยั้งได้ 35 % และความเข้มข้น 10 % v/v ยับยั้งได้ 100 %

Benkeblia (2004) ศึกษาผลกระทบการยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัดน้ำมันหอมระเหย (essential oil) จากหัวหอมและกระเทียม โดยทดสอบการยับยั้งเชื้อรา *Aspergillus niger*, *Penicillium cyclopium* และ *Fusarium oxysporum* ที่สารสกัดมีความเข้มข้น 50, 100, 200, 300 และ 500 ml/l พบว่าสารสกัดน้ำมันหอมระเหยจากหอมเขียวและหอมเหลือง ที่ความเข้มข้น 50, 100 ml/l สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยรา *A. niger* ได้ ส่วนน้ำมันหอมระเหยจากหอมแดงและกระเทียม ที่ทุกความเข้มข้นสามารถต่อต้านเชื้อรา *A. niger* ได้ดี อย่างไรก็ตามเมื่อวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติแล้วพบว่า น้ำมันหอมระเหยจากหอมเขียวและหอมเหลืองที่ความเข้มข้น 50 และ 100 ml/l กับกลุ่มควบคุมไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนน้ำมันหอมระเหยจากหอมเขียวและหอมเหลืองที่ความเข้มข้น 200, 300 และ 500 ml/l และน้ำมันหอมระเหยจากหอมแดงและกระเทียม ทุกความเข้มข้น มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

Hannah et al. (2004) ศึกษาการออกฤทธิ์ของสารอัลลิซิน (allicin) ที่สกัดได้จากกระเทียมในการต่อต้านแบคทีเรีย เชื้อรา และ oomycetes ซึ่งก่อโรคในพืช พบว่า สามารถลดการเกิดโรคในพืชได้อย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งการเกิดโรคในพืชนั้นมีสาเหตุมาจากเชื้อ *Magnaporthe grisea* ก่อโรคในข้าว *Hyaloperonospora parasitica* ก่อโรคใน *Arabidopsis thaliana* และ *Phytophthora infestans* ก่อโรคในหัวมันฝรั่ง และสารอัลลิซิน มีผลทำให้ประสิทธิภาพการงอกสปอร์ของเชื้อ *Phytophthora infestans* ลดลงด้วย

Hughes and Lawson (2006) ได้อัลลิลไทโอซัลไฟเนต (*diallyl thiosulfinate*) หรืออัลลิซิน พบในกระเทียมสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราในหลอดทดลองได้ และสารประกอบในกระเทียมเป็นสารมีขั้วรวมทั้งอัลลิซิน

2.2 ขมิ้นชัน

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Curcuma longa* L.

วงศ์ : Zingiberaceae

ชื่อท้องถิ่น : ขมิ้น (กลาง) ขมิ้นแกง ขมิ้นหยอก (เชียงใหม่) ขมิ้นหัว ขมิ้น หมิ้น (ภาคใต้) ตายอ (กะเหรี่ยง-กำแพงเพชร) สะยอ (กะเหรี่ยง-แม่ฮ่องสอน) เข้มัน (พายัพ) ขมิ้นแดง (เชียงใหม่ กำแพงเพชร)

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ลักษณะล้มลุกมีเหง้าอยู่ใต้ดิน มีลำต้นสูง 50-70 เซนติเมตร เนื้อในมีสีเหลืองอมส้มและมีกลิ่นหอม ใบมีลักษณะเป็นใบเดี่ยวขนาดใหญ่ รูปหอกแกมรูปขอบขนาน กว้าง 8-10 เซนติเมตร และยาว 30-40 เซนติเมตร กาบใบแคบมีร่องแผ่กริบออกเล็กน้อย ดอกมีลักษณะเป็นช่อใหญ่ ก้านช่อดอกนั้นยาวพุ่งออกมาจากใต้ดิน มีความยาว 5-8 เซนติเมตร ส่วนใบประดับมีสีเขียวอ่อนๆ หรือสีขาว ตรงปลายช่อดอกจะมีสีชมพูอ่อนจัดเรียงซ้อนกันอย่างเป็นระเบียบ กลีบรองกลีบดอกจะเชื่อมติดกันเป็นรูปท่อ กลีบดอกมีสีขาวตรงโคนเชื่อมติดกันเป็นท่อยาวปลายของมันจะแยกเป็น 3 ส่วน เกสรตัวผู้มีลักษณะคล้ายกลีบดอกมีขน ส่วนอับเรณูอยู่ใกล้ๆ ปลายท่อ เกสรตัวเมียเล็กและยาว

องค์ประกอบทางเคมีในขมิ้น

Ciamician and Silber (1897) ได้เสนอสูตรโมเลกุลของเคอร์คิวมิน คือ $C_{21}H_{20}O_6$ และองค์ประกอบของสารให้สีนี้คือ diferuloyl Methane สารสกัดที่มีสี (pigment extract) จากขมิ้นชันประกอบด้วยสารผสม 3 ชนิด คือ เคอร์คิวมิน (curcumin) ดีเมทอกซีเคอร์คิวมิน (demethoxy curcumin) และบิส-ดีเมทอกซีเคอร์คิวมิน (bis-demethoxy curcumin) เรียกสารประกอบที่ให้สีทั้งสามชนิดดังกล่าวโดยรวมว่าเคอร์คิวมินอยด์ (curcuminoid) โดยสูตรโครงสร้างทางเคมีของเคอร์คิวมินประกอบด้วยหมู่ orthomethoxylated phenols 2 หมู่มาเชื่อมกันด้วย β -diketon สารประกอบเคอร์คิวมิน (curcumin) จะไวต่อกรดและด่างโดยจะเปลี่ยนจากสีเหลืองเป็นสีแดงเมื่ออยู่ในสภาพเป็นกรด และสี

น้ำตาลแดงเมื่ออยู่ในสภาวะเป็นด่าง มีจุดหลอมเหลว 176-177 องศาเซลเซียส สารประกอบเคอร์คิวมินละลายในน้ำได้น้อยแต่จะละลายได้ในเอทานอล เมทานอล กรดอะซิติกเข้มข้น และโพรไพลีนไกลคอล (Araujo and Leon, 2001) สมบัติทางเคมีและทางกายภาพของสารประกอบเคอร์คิวมินอยด์ headings มีชั้นประกอบด้วยน้ำมันหอมระเหย (volatile oil) มีสีเหลืองอ่อน มีสารสำคัญคือเทอร์เมอร์โรน (turmerone) และซิงจีเบอรีน (zingiberene) นอกจากนี้ยังมีสารกลุ่มเซสควิเทอร์ปีน (sesquiterpenes) และโมโนเทอร์ปีน (monoterpenes) นอกจากนี้ยังพบสารต่างๆ หลายชนิด ได้แก่ sabinene borneol cineol termerol curcumone phellandrene camphene และ zingerene เป็นต้น

สรรพคุณของขมิ้น

ขมิ้นเป็นสมุนไพรที่มีสรรพคุณเป็นยา เหน้ใช้รักษาแผลในลำไส้ เป็นยาลดกรด ขับลม คลายกล้ามเนื้อเรียบในลำไส้ที่เกร็งตัวบรรเทาอาการวิงเวียน รักษาโรคผิวหนัง ผื่นคัน เป็นยาบำรุงผิว รักษากลากเกลื้อนรักษาแผลในกระเพาะอาหารและลำไส้เล็ก มีสรรพคุณรักษาโรคท้องอืดท้องเฟ้อ แน่น จุกเสียดได้ดีเท่ากับยาแผนปัจจุบัน นอกจากนี้ยังมีการใช้ขมิ้นชันเป็นเครื่องเทศเพื่อช่วยปรุงแต่งรสชาติและกลิ่นของอาหารให้ดีขึ้นและมีการใช้สีเหลืองของขมิ้นสำหรับย้อมผ้า

Lutomoski (1974) ได้พบว่าสารสกัดด้วยแอลกอฮอล์ น้ำมันหอมระเหย และเคอร์คิวมินอยด์มีฤทธิ์ต่อต้านแบคทีเรียโดยเคอร์คิวมินอยด์สามารถฆ่าเชื้อได้ แต่สารสกัดและน้ำมันหอมระเหยเพียงแต่หยุดการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย ต่อมาเมื่อผู้ค้นพบว่าน้ำมันขมิ้นชันจะยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคลำไส้บางชนิด ในขณะที่เคอร์คิวมินอยด์จะไม่มีผลยกเว้นต่อเชื้อ *Staphylococcus aureus* และ *Bacillus cereus*

เต็มดวงและสุริยันต์ (ม.ป.ป.) ศึกษาผลของการใช้สารสกัดขมิ้นชันผสมในอาหารสำเร็จรูปให้กิ้งกูดดำกินเป็นเวลา 3 สัปดาห์ พบว่าอัตราการรอดของลูกกิ้งกูดดำไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) จากนั้นนำกิ้งกูดดำไปทดสอบกับเชื้อแบคทีเรีย *Vibrio harveyi* และเชื้อไวรัสตัวแดงดวงขาว โดยการหาค่า LC 50 ในระยะเวลา 96 ชั่วโมง พบว่าอัตราการรอดของลูกกิ้งกูดดำที่กินอาหารสำเร็จรูปผสมขมิ้นชัน 3 สัปดาห์ มีอัตราการรอดสูงกว่าลูกกิ้งกูดดำที่ไม่ได้กินอาหารผสมขมิ้นชันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

ปาริยา และคณะ (2545) ได้ศึกษาในระดับห้องปฏิบัติการเกี่ยวกับผลของสารสกัดขมิ้นชันต่อการเจริญเติบโตของเชื้อราที่ก่อโรคในปลา เตรียมสารสกัดหยาบของขมิ้นชันด้วยเอทานอล ซึ่งละลายใน DMSO 1% ทำการทดสอบการยับยั้งเชื้อราก่อโรค 4 ชนิด ได้แก่ *Saprolegnia diclina*, *S. parasitica* H2, *Achyla channae* และ *Aphanomyces piscicida* ซึ่งเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Glucose Yeast Extract (GY) พบว่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดขมิ้นชันที่ยับยั้งการเติบโตของเชื้อ

รา (fungistatic effect) ทั้ง 4 ชนิดข้างต้น เท่ากับ 2,500 2,500 1,250 และ 62.5 $\mu\text{g/ml}$ ตามลำดับ ส่วนความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดขมิ้นชันที่ออกฤทธิ์ทำลายเชื้อรา (fungicidal effect) เท่ากับ 5,000, 5,000, 5,000 และ 625 $\mu\text{g/ml}$ ตามลำดับ ดังนั้นสารสกัดขมิ้นชันมีฤทธิ์ต้านเชื้อราที่ก่อโรคในปลาทั้ง 4 ชนิดได้ดี

ตารางที่ 1 การออกฤทธิ์ของสารประกอบเคอร์คูมินจากขมิ้นชันและอนุพันธ์

สารประกอบที่สำคัญ	โครงสร้างทางเคมี	การออกฤทธิ์
Curcumin		ต้านเชื้อแบคทีเรีย ต้านเชื้อ HIV ต้านอนุมูลอิสระ ด้านการอักเสบ ด้านการเกิดเนื้องอก
Ar-turmerone		รักษาบาดแผลที่เกิดจากงูกัด
Methylcurcumin		ต้านเชื้อแบคทีเรีย
Demethoxy curcumin		ต้านอนุมูลอิสระ
Bisdemesethoxy curcumin		ต้านอนุมูลอิสระ
Sodium curcumin		ด้านการอักเสบ

ที่มา : มัลลิกา (2547)

2.3 ชุมเห็ดเทศ

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Cassia alata* Linn .

วงศ์ : Leguminosae

ชื่อท้องถิ่น : ชุมเห็ดใหญ่ ชุมเห็ด (ภาคกลาง), ถับมันหลวง จี้คาก จี้เหล็กสาร หมากกะลิงเทศ (ภาคเหนือ), ส้มเห็ด (เชียงราย), ดีสีพอ (กระเหรี่ยง - แม่ฮ่องสอน) (วันดี, 2537)

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

เป็นพรรณไม้พุ่มขนาดเล็กที่มีเนื้ออ่อน ลำต้นสูงประมาณ 10 ฟุต ใบเป็นใบประกอบ มีใบย่อยออกเป็นคู่ตรงกันข้ามเรียงตามก้านใบ ใบหนาแข็งและสาก ลักษณะใบย่อยเป็นรูปไข่ ขอบเรียบขนาน ปลายใบมน ขนาดกว้าง 5 ซม. ยาว 10 ซม. ดอกเป็นช่อชูตั้งขึ้นไปตามปลายกิ่ง แต่ละช่อจะประกอบด้วยดอกหลายดอก และทยอยกันบาน ช่อดอกหนึ่งยาวประมาณ 2 ฟุต ดอกสีเหลืองสด ผลเป็นฝักมีก้านติดแก่จะมีสีน้ำตาลเข้มเกือบดำ พบขึ้นอยู่ทั่วไปตามที่ชุ่มชื้น (วิทย์, 2531; นันทวัน, 2534; พร้อมจิต, 2535; ภูมิพิชญ์, 2536; วันดี, 2537)

องค์ประกอบทางเคมี

ใบของชุมเห็ดเทศประกอบด้วยสารจำพวกแอนทราควิโนนหลายชนิด เช่น อะโล - อีโมดิน (aloe - emodin) อีโมดิน (emodin) เรอีน (rhein) กรดคริสโซฟานิก (chrysophanic acid) เป็นต้น นอกจากนี้ยังมีสารแทนนิน (tannin) ซึ่งมีฤทธิ์ฝาดสมานอยู่ด้วย

สรรพคุณ

สรรพคุณทางการแพทย์แผนไทย มีดังนี้

- ใบ : ใบจะมีกลิ่นฉุน ดมน้ำกินเป็นยาระบาย อมบัวปากและใช้เป็นยาฆ่าพยาธิตามผิวหนัง รักษากลากเกลื้อน ผิวหนังอักเสบเป็นผื่นคันเส้นประสาทอักเสบ รักษาหูดคัน ขับ ปัสสาวะและรักษากระเพาะอาหารอักเสบ
- ดอก : ใบสดหรือแห้ง เป็นยาระบาย ยาถ่าย ถ่ายพยาธิได้
- เมล็ด : ขับพยาธิ เป็นยาระบายอ่อน
- ทั้งต้น : ใช้ขับพยาธิในลำไส้ ถ่ายพิษตานซาง รักษาซาง โรคผิวหนัง ถ่ายเสมหะ รักษาฟกบวม รักษาริดสีดวง ดีซ่าน และฝี
- เปลือกต้น : ขับน้ำเหลืองเสีย
- ราก : แก้หิดและสิว แก้โรคผิวหนัง แก้กลากเกลื้อน ยาระบาย ขับปัสสาวะ ขับเสมหะ

สำหรับเชื้อรากลุ่มกลากเกลื้อน มีรายงานว่า สารสกัดชุมเห็ดเทศมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ และใช้ในการรักษาโรคกลากได้และให้ผลการรักษาดี สารสกัดใบชุมเห็ดเทศด้วยปิโตรเลียมอีเทอร์ ที่ความเข้มข้น 20% w/v สามารถยับยั้งเชื้อราชนิดที่ก่อโรคกลาก (dermatophytes) ได้แก่ *Trichophyton mentagrophytes*, *T. rubrum*, *Microsporum gypseum* และ *Epidermophyton floccosum* ได้ดีกว่าเชื้อราอีกกลุ่ม ได้แก่ *Fusarium solani*, *Aspergillus niger*, *Cladosporium werneckii* และ *Penicillium* sp. และพบว่าสารสกัดชุมเห็ดเทศด้วยน้ำ ที่ความเข้มข้น 5% w/v สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *T. mentagrophytes* ได้เช่นกัน (นันทวัน, 2534; Palanichamy and Nagarajan, 1990; Ibrahim and Osman, 1995)

สารสำคัญของสารสกัดใบชุมเห็ดเทศที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อราก่อโรคกลาก คือ chrysophanol และ anthraquinone (Palanichamy and Nagarajan, 1990; Hennebelle et al., 2009)

Crockett et al. (1992) รายงานว่าสารสกัดจากใบชุมเห็ดเทศ ที่ความเข้มข้น 60 mg/ml สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Escherichia coli* และ *candida albicans* ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคติดเชื้อฉวยโอกาสในคนไข้โรคเอดส์ได้

Owoyale et al. (2005) ได้ศึกษาสารสกัดใบชุมเห็ดเทศสกัดด้วยเอทานอล พบว่ามีสารแอนทราควิโนนไกโคไซด์ เป็นสารที่มีในใบชุมเห็ดเทศ และสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Salmonella typhi*, *Pseudomonas aeruginosa*, *S. aureus*, และเชื้อรา *Mucor*, *Rhizopus*, *Aspergillus niger*, *Candida albicans* และ *Saccharomyces* muj ที่ความเข้มข้น 0.125 g/ml

Rattanachaikunsopon et al. (2009) ได้ศึกษาสารสกัดชุมเห็ดเทศสกัดด้วยตัวทำละลายน้ำ และเอทานอล 95% พบว่าสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. agalactiae* และมีค่า MIC เท่ากับ 500 µg/ml 250 µg/ml

เสาวลักษณ์ (2543) ได้ทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเส้นใยจากสารสกัดชุมเห็ดเทศ พบว่าสารสกัดที่ความเข้มข้น 1, 10 และ 100 mg/ml มีผลต่อการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Trichophyton rubrum*, *Microsporum gypseum* และ *Penicillium marneffe* โดยที่ความเข้มข้น 1 mg/ml ยับยั้ง *T. rubrum* และ *M. gypseum* ได้ 31.05–71.38% และ *P. marneffe* ได้ 3.27–53.84% เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารเป็น 10 และ 100 mg/ml พบว่า สารสกัดชุมเห็ดเทศสามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราได้เพิ่มมากขึ้น โดยที่ระดับความเข้มข้น 10 mg/ml สามารถยับยั้ง *T. rubrum* และ *M. gypseum* ได้สมบูรณ์ ที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิตรสามารถยับยั้ง *P. marneffe* ได้สมบูรณ์ และได้มีการทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดชุมเห็ดเทศต่อการงอกของ macroconidia ของ *M. gypseum* ที่ความเข้มข้นสารสกัด 0.1 1 และ 10 mg/ml พบว่าสามารถยับยั้งการงอกของ macroconidia ของ *M. gypseum* ได้สมบูรณ์

2.4 มังคุด

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Garcinia mangostana* Linn

วงศ์ : Guttiferanceae

ชื่อท้องถิ่น : -

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ราก : เป็นระบบรากแก้ว มีจำนวนรากแขนงไม่มาก และที่บริเวณปลายรากมีขนรากน้อย

ลำต้น : ลำต้นตรง เปลือกภายนอกมีสีน้ำตาลเข้มจนถึงดำ ภายใต้อ่อนนุ่มประกอบไปด้วยฟองน้ำยางมีลักษณะสีเหลือง

ใบ : ใบมีรูปไข่รี มีความยาวประมาณ 9-25 ซม. กว้างประมาณ 4.5-10 ซม. ด้านบนมีลักษณะเป็นมันสีเขียวเข้ม ส่วนด้านล่างสีเขียวปนเหลือง แผ่นใบโค้งเล็กน้อย มีตาข้างอยู่บริเวณซอกใบ และมีตาขอดอยู่บริเวณซอกใบคู่สุดท้าย

ดอก : เป็นแบบเดี่ยวและบางสภาพอาจเป็นดอกกลุ่ม ซึ่งดอกจะปรากฏที่บริเวณปลายยอดของกิ่งแขนง ที่มีช่อดอกตัวผู้และดอกตัวเมียอยู่ในดอกเดียวกันดอกจัดเป็นดอกสมบูรณ์เพศ แต่เกสรตัวผู้จะเป็นหมัน ดอกมังคุดประกอบด้วยกลีบเลี้ยง 4 กลีบ มีกลีบดอกค่อนข้างหนา 4 กลีบ ดอก เกสรอยู่พื้นฐานรอบๆ ของรังไข่

ผล : เป็นแบบเบอร์รี่ มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 3.4-7.5 ซม. มีเปลือกหนา 6-10 มม. เนื้อสีขาวขุ่นลักษณะของผลอ่อนเปลือกนอกจะมีสีเขียวปนเหลือง มียางสีเหลืองอยู่ภายใน ผลหนึ่งๆ จะมีเมล็ดอยู่ประมาณ 1-6 เมล็ด เมล็ดมีความยาวประมาณ 2.5 มม. และกว้างประมาณ 1.6 มม.

องค์ประกอบทางเคมี

การศึกษาองค์ประกอบของเปลือกมังคุด ซึ่งเป็นแหล่งของแมงโกสติน (mangostin) แทนนิน (tannin) ไครแซนทีมิน (chrysanthemin) การ์ซิโนน (garcinone) การ์ทานิน (gartanin) วิตามินบี1 บี2 และ วิตามินซี

สารสำคัญอีกกลุ่มหนึ่ง คือ แซนโทน (xanthone) ชนิดที่สำคัญ ได้แก่ แอลฟา-แมงโกสติน (α -mangostin) และเบต้า-แมงโกสติน (β -mangostin) (Farworth and Bunyapraphatsara, 1992; Chairungsrilerd, 1996) แซนโทนเป็นสารที่พบมากในพืชวงศ์ Gentianaceae และ Gutterferae โดยที่มังคุดจะมีแซนโทนในปริมาณสูงที่สุด (Suksamrarn et al., 2002) และมีคุณสมบัติในการยับยั้ง เชื้อรา

ยับยั้งแบคทีเรีย (Chaverri et al., 2008) พบว่าตัวทำละลายน้ำและเอทานอล สามารถสกัดสาร แทนนิน และแซนโทนได้ (Cowan, 1999)

นอกจากนี้ในเปลือกมังคุด ยังมีสารจำพวก เพ็คติน แทนนิน เรซิน และยางสีเหลือง ซึ่งใช้ประโยชน์ในการย้อมสีด้วย

สรรพคุณ

ในตำรายาแผนโบราณ มังคุดมีสรรพคุณมากมาย โดยมีการใช้ส่วนต่างๆ ของมังคุดทั้ง ใบ ราก และเนื้อไม้ สรรพคุณ ได้แก่ ได้ เปลือกมังคุดซึ่งมีรสฝาดสามารถใช้ในการรักษาโรคหัดคัดจมูก ภาวะปัสสาวะอักเสบ ท้องเสีย โรคบิด โรคผิวหนังเป็นผื่นแดง และโรคเกี่ยวกับระบบลำไส้ รักษาโรคบิดมูกเลือด (ต้น ใบ ดอก) แก้แผลเป็นหนอง แผลเปื่อย ช่วยสมานแผล และยาแก้บิด รักษาอาการท้องร่วง (เปลือกผล) เป็นยารักษาแผลน้ำกัดเท้า และแผลพุพอง แผลเน่าเปื่อย มีรายงานว่าสารจากเปลือกมังคุดยังเป็นสารที่มีความปลอดภัยสูง และพบว่ามีผลดีต่อระบบภูมิคุ้มกัน และยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราและแบคทีเรียบางชนิด เช่น เชื้อวัณโรค, *S. enteritidis* และ HIV (พิเชษฐ, 2531; เทพนม และคณะ, 2533)

Shankaranarayan et al. (1979) รายงานว่าในส่วนของเปลือกมังคุดมีสารสำคัญพวก แซนโทน ได้แก่ แลงโกสดิน ซึ่งมีฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย และเชื้อราได้หลายชนิด เช่น แบคทีเรียอันเป็นสาเหตุของท้องเสียได้แก่ *Shigella dysenteriae*, *Shigella flexneri*, *Shigella sonnei*, *Shigella boydi*, *Escherichia coli*, *Streptococcus faecalis* และ *Vibrio cholerae*

Gopalakrishnan et al. (1997) ศึกษาสารสกัดจากเปลือกมังคุดพบว่า แอลฟา-แมงโกสดิน และ เบต้า-แมงโกสดิน การ์ทานิน การ์ซิโนน ดี แซนโทน และยูแซนโทน (euxanthone) สามารถยับยั้งเชื้อ *Fusarium oxysporum vasinfectum*, *Alternaria tenuis* และ *Dreschlera oryzae* ได้ที่ความเข้มข้น 1, 10, 100, และ 1,000 ppm สามารถยับยั้งเชื้อรา

Sakagami et al. (2005) ได้ศึกษาความเป็นสารต้านแบคทีเรียของแซนโทนจากเปลือกของต้น *Garcinia mangostana* L. หรือมังคุด ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ โดยนำเปลือกของต้น *G. mangostana* มาบดเป็นผงละเอียด แล้วสกัดด้วยตัวทำละลาย คือ เฮกเซน เมทิลลีนคลอไรด์ และ เมทานอล ตามลำดับ แล้วใช้ซิลิกาเจลโครมาโทกราฟีในการแยกสารที่ต้องการ ซึ่งได้แซนโทนหลายชนิด ส่วนที่สกัดด้วยเมทิลลีนคลอไรด์ สามารถสกัดได้แซนโทนตัวหลัก 2 ชนิด คือ แอลฟา-แมงโกสดิน และเบต้า-แมงโกสดิน จากนั้นนำแซนโทนที่ แยกได้ไปทดสอบความสามารถในการต้านแบคทีเรีย โดยใช้เชื้อจุลินทรีย์ vancomycin resistant enterococci (VRE) จำนวน 5 สายพันธุ์ เชื้อ

vancomycin sensitive Enterococci (VSE) จำนวน 3 สายพันธุ์ เชื้อ methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) จำนวน 9 สายพันธุ์ และเชื้อ methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus* (MSSA) จำนวน 3 สายพันธุ์ พบว่า แอลฟา-แมงโกสติน มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของ vancomycin resistant Enterococci (VRE) และ methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) ซึ่งความเข้มข้นต่ำสุดของสารที่สามารถยับยั้ง เชื้อได้เป็น 6.25 และ 6.25-12.5 µg/ml

Kaomongkolgit et al. (2009) ศึกษาอิทธิพลของการยับยั้งเชื้อราของ แอลฟา-แมงโกสติน ต่อเชื้อรา *Candida albicans* โดยดูจากค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ (minimum inhibition concentration, MIC) ค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการฆ่าเชื้อ (minimum fungicidal concentration, MFC) ซึ่งพิจารณาโดยใช้วิธี broth dilution และ ผลการฆ่าเชื้อของ แอลฟา-แมงโกสติน ต่อเชื้อรา *Candida albicans* พบว่า ค่า MIC และค่า MFC ที่สามารถต่อต้านเชื้อราได้ คือ 1,000 µg/ml และ 2,000 µg/ml ส่วนผลการฆ่าเชื้อรา *Candida albicans* ของ แอลฟา-แมงโกสติน ซึ่งใช้ความเข้มข้น 4,000 µg/ml และ 8,000 µg/ml ระยะเวลาแช่ 10 20 และ 30 นาที พบว่า ที่ระดับความเข้มข้น 4,000 µg/ml และ 8,000 µg/ml ระยะเวลาแช่ 10 นาที ลดความมีชีวิตของเซลล์ และเมื่อแช่เป็นเวลา 20 นาที พบว่าสามารถฆ่าเชื้อรา *Candida albicans* ได้ 99.9 %

Pothitirat and Gritsanapan (2009) ศึกษาสารสกัดจากเปลือกมังคุดซึ่งสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล 95% พบว่า ในเปลือกมังคุดมีสาร แอลฟา-แมงโกสติน

นริศรา และคณะ (2556) ศึกษาฤทธิ์ต้านไมโครแบคทีเรียของพรีนิลแซนโทนจากผลมังคุด พบว่า สารประกอบพรีนิลแซนโทนซึ่งแยกได้จากเปลือกผล เนื้อและเมล็ดของมังคุด มีฤทธิ์ในการต้านวัณโรค แอลฟา-แมงโกสติน และเบต้า-แมงโกสตินและ การ์ซิโนน B มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อ *Mycobacterium tuberculosis* โดยมีค่า MIC 6.25 µg/ml ไตร- และเตตระ-ออกซิเจนเตแซนโทนที่มีหมู่ C₅ สองหมู่ หรือ มี C₅ หนึ่งหมู่ รวมกับหมู่ C₅ ที่ปรับเปลี่ยนไป เป็นส่วนสำคัญของการออกฤทธิ์ที่สูง การแทนที่ของหมู่ต่าง ๆ ในวง A และ C มีผลต่อฤทธิ์ทางชีวภาพของสาร

พยอม (2521) สารสกัดจากเปลือกมังคุดมีสรรพคุณในการรักษาโรคผิวหนังที่เกิดจากเชื้อรา เช่น เชื้อกลาก อ่อนกฟุต และแบคทีเรียสาเหตุของการเกิดหนอง ได้แก่ *Staphylococcus aureus*

จำลอง (2534) สารแซนโทนในเปลือกมังคุดซึ่งสกัดด้วยเบนซิน พบว่ามีผลต่อต้านเชื้อ *Staphylococcus aureus* ซึ่งทำให้เป็นหนอง เมื่อทดสอบในอาหารเลี้ยงเชื้อ (argar plate)

นุสวดี และสมใจ (2553) ศึกษาสารสกัดจากเปลือกมังคุด พบว่า เอทานอล 95% สามารถสกัดสารแซนโทนจากเปลือกมังคุดได้

ปานตา และคณะ (2555) ศึกษาผลของสารสกัดโพลีฟีนอลจากเปลือกมังคุดต่อการยับยั้งเชื้อ สเตรปโตคอคคัสมีวแทนส์ ในห้องปฏิบัติการ โดยเตรียมสารสกัดมังคุดที่สกัดเอทานอล 95% แล้วตรวจสอบองค์ประกอบทางเคมีวิธี TLC จากนั้นวิเคราะห์หาปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดด้วยวิธี folin-ciocalteu colorimetric และทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของ *S. mutans* สายพันธุ์ ATCC 25175 ด้วยวิธี broth dilution (2-fold serial dilution) โดยทำใน microtiter 96-well plate และวิธี drop plate แสดงผลที่ได้เป็นค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญเติบโต (MIC) และความเข้มข้นต่ำสุดในการฆ่าเชื้อ (MBC) จากผลการศึกษาพบว่า สารสกัดจากเปลือกมังคุดมีแอลฟา-แมงโกสตินเป็นองค์ประกอบ มีปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด 25.88 $\mu\text{g/ml}$ ของสารสกัดที่สมมูลกับ gallic acid แสดงฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของ *S. mutans* สายพันธุ์ ATCC 25175 โดยมีความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญเติบโต คือ 0.25 mg/ml และความเข้มข้นต่ำสุดในการฆ่าเชื้อ คือ 1 mg/ml

2.5 สาบเสือ

ชื่อวิทยาศาสตร์: *Eupatorium odoratum* L.

ชื่อวงศ์: Asteraceae (Compositae)

ชื่อพื้นเมือง: สาบเสือ, (ท้าวไป); หญ้าเมืองวาย, หญ้าเมืองฮ้าง, (เหนือ); หญ้าเหม็น (อีสาน)

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

เป็นไม้พุ่ม สูง 1-3 เซนติเมตร อาจทอดยาวถึง 7 เมตร กิ่งก้านมาก มีขนทั่วใบ ใบเดี่ยว ออกตรงข้าม รูปไข่แกมสามเหลี่ยม ขนาดกว้าง 2-8 เซนติเมตร ยาว 4-14 เซนติเมตร ปลายใบเรียวแหลม โคนใบแหลมกว้างถึงเกือบตัด ขอบใบจักใหญ่ มีขนทั้งสองด้าน ก้านใบยาวถึง 6 เซนติเมตร มีขน ดอกช่อออกที่ปลายกิ่ง ก้านช่อดอกแตกแขนงย่อย มีใบประดับขนาดเล็ก 5-6 แถว เรียงชิดซ้อนกัน รูปขอบขนาน สีเขียว มีขน ก้านช่อดอกยาว 1-2 เซนติเมตร ดอกออกเรียงกันแน่นเป็นกระจุกที่ปลาย ก้านช่อดอกย่อย มี 10-35 ดอก รูปขอบขนานแกมรูปไข่ ขนาดกว้าง 0.3-0.4 เซนติเมตร ยาว 0.7-0.9 เซนติเมตร รังประดับรอบดอกย่อยเรียง 3-4 ชั้น รอบนอก ขนาดสั้นกว่ารอบใน ยาว 0.3-0.7 เซนติเมตร มีแถบตามยาวสีเขียวพื้นขาวใส 3-4 แถบ ขอบขาวใส มีขน กลีบดอกโคนเชื่อมติดกันเป็นหลอด ขนาดกว้าง 0.2 เซนติเมตร ยาว 0.5-0.6 เซนติเมตร ปลายแยก 5 หยักแหลม สีม่วงอ่อน ปลายรังไข่มีรยางค์ ยาวเรียงรอบกลีบดอก ยาว 0.5 เซนติเมตร สีนํ้าตาลอ่อน เกสรเพศผู้ มี 5 อัน ขอบอับเรณูชิดกัน ก้านเกสรยาว 0.3 เซนติเมตร อับเรณูยาว 0.2 เซนติเมตร สีนํ้าตาลอ่อน เกสรเพศเมีย ก้านเกสร

ยาว 0.4 เซนติเมตร สีขาว ยอดเกสรปลายแยก 2 แฉก ยาว 0.5-0.6 เซนติเมตร สีขาว รั้งไข่ รูปกรวย แฉกยาวรี ยาว 0.4-0.5 เซนติเมตร สีน้ำตาลอ่อน เมื่อแก่สีเข้มจนเกือบดำ ผลแบบผลแห้งเมล็ดค่อนข้างกลม รูปคล้ายกรวยสี่เหลี่ยมถึงห้าเหลี่ยมแฉกยาวรี ขนาดกว้าง 0.02-0.03 เซนติเมตร ยาว 0.4-0.5 เซนติเมตร พื้นสีดำ ตรงมุมเหลี่ยมสีน้ำตาล ปลายมีรยางค์ยาวเรียงหนึ่งรอบ ยาว 0.4-0.6 เซนติเมตร สีน้ำตาลอ่อน

องค์ประกอบทางเคมี

สารสำคัญในสาบเสือ ได้แก่ กรดอะนิลิก ไอโซชาทรานติน โอโดราติน ยูพาทอล คูมาริน ฟีนิน เนบโซควิโนน ลิโมนีน ลูพิออล ฟาโวน คาโคอิรแกมเฟอร์

Owolabi et al. (2010) พบว่า น้ำมันหอมระเหยจากใบแห้งของ *Chromolaena odorata* (L.) R.M. King & H. Rob ที่ได้จากการต้มกลั่นและวิเคราะห์โดย gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) ได้ส่วนประกอบที่สำคัญคือ α -pinene (42.2%), β -pinene (10.6%), germacrene D (9.7%), *beta-copaen-4-alpha-ol* (9.4%), (*E*)-caryophyllene (5.4%), และ geijerene/pregeijerene (7.5%) และมีฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย *Bacillus cereus* (MIC = 39 μ g/mL) และฤทธิ์ต้านเชื้อรา *Aspergillus niger* (MIC = 78 μ g/mL)

Sukanya et al. (2011) กล่าวว่า ตัวทำละลายเช่นเมทานอล เอทานอล เอทิลอะซิเตส เฮกเซน, และคลอโรฟอร์มด้วยสารสกัดจาก *Chromolaena odorata* มีโครงสร้างของสารประกอบต่อต้านจุลินทรีย์พบว่าเป็นกลุ่มฟีนอล

Avlessi et al. (2012) พบว่า น้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากใบของ *Chromolaena odorata* ด้วยวิธี gas chromatography (GC) และ gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS) ส่วนประกอบที่สำคัญที่พบในน้ำมันเป็น α -pinene (20.7%), pregeijerene (14.6%), geijerene (12.0%), β -pinene (10.3%), germacrene-D (9.7%)

Suwaibah et al. (2012) น้ำมันหอมระเหยจากใบและลำต้น *Eupatorium odoratum* จากเทคนิคการสกัดโดยการต้มกลั่นและการวิเคราะห์โดยใช้ gas chromatography-mass spectroscopies (GC-MS) คู่กับ retention indices (RI) พบว่าสารประกอบเด่น ได้แก่ β -Cubebene (32%), δ -Cadinene (18%) และ Caryophyllene (11%)

สรรพคุณ

รุ่งนภา (2546) ได้ศึกษาฤทธิ์ต้านมาลาเรียและองค์ประกอบทางเคมีของใบสาบเสือ โดยสกัดใบสาบเสือด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด คือ เฮกเซน คลอโรฟอร์ม และ เอทานอล พบว่าสารสำคัญที่

ได้ คือ isosakuranetin, kaemferide และ tamarixetin ซึ่งมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อมาลาเรีย พัลซิพารัม และยังช่วยเพิ่มฤทธิ์ของยารักษามาลาเรียได้อีกด้วย

ใบสาบเสือเป็นยาแผนโบราณมาช้านาน มีการใช้เพื่อห้ามเลือดสมานแผล จิตรดาและคณะ (2554) ได้ศึกษาพัฒนาใช้สารสกัดใบในรูปแบบเจลแผ่นแปะ โดยสกัดด้วยเอทานอล 95% สามารถใช้ห้ามเลือดได้ และผลสำรวจความพึงพอใจต่อแผ่นแปะสาบเสือห้ามเลือดในภาพรวม อยู่ในระดับมาก

นันทวันและอรนุช (2543) อ้างโดย จรูญและคณะ (2551) พบว่า สารสกัดสาบเสือที่ได้จากการสกัดด้วยคลอโรฟอร์ม และอะซิโตนมีผลยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* และ *Bacillus subtilis* ซึ่งเป็นสาเหตุให้เกิดหนอง โดยมีวิธีการใช้คือใช้ใบสด หรือใช้ทั้งใบและต้นสด ล้างสะอาด ตำละเอียด คั้นน้ำใส่แผล

Yasmin et al. (2008) รายงานว่า สารสกัดจากใบ *Eupatorium odoratum* ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Fusarium moniliforme* ได้ 18.18 %

Pierangeli and Windell (2009) รายงานว่า สารสกัดเอทานอลจากใบของ *Chromolaena odorata* สามารถยับยั้งเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* และ *Salmonella typhimurium* ได้

สนธยาและศศิธร (2552) พบว่า สารสกัดจากสาบเสือที่ด้วย เอทานอล 95% สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อ *Fusarium oxysporum* และ *Colletotrichum capsici* ได้สูงสุด 52.92% และ 64.02% ตามลำดับ

Chakraborty et al. (2010) พบว่า สารสกัดจากใบของพืช *Eupatorium odoratum* ที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอลจากการประเมินผลมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ สารสกัดทั้งสองแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระอย่างมากในการใช้ DPPH, ไนตริกออกไซด์และไฮดรอกซิล ชักนำ ในวิธีการทดสอบแบบ *Invitro*

Naidoo et al. (2011) รายงานว่า สารสกัดที่ได้จากใบสาบเสือด้วยเอทิล อะซิเตด (ethyl acetate) สามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกทั้งหมดได้ ยกเว้น *Staphylococcus aureus* ส่วนสารสกัดจากใบสาบเสือด้วยเมทานอล สามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกทั้งหมดและรวมทั้งแบคทีเรียแกรมลบ *E. coli* แต่สารสกัดสาบเสือน้ำไม่มีผลยับยั้งทั้งแบคทีเรียแกรมบวกและแบคทีเรียแกรมลบ

Umedum (2013) รายงานว่า สารสกัดจากสาบเสือน้ำด้วยเอทานอลมีเส้นผ่าศูนย์กลางยับยั้งสูงสุดโซนบน *Xylohypha bantiana* (23 ± 0.81) และ *Alternaria alternata* (23 ± 0.81) ตามลำดับ สารสกัดเอทานอลมีฤทธิ์ต่อเชื้อมากกว่าสารสกัดด้วยน้ำ

อุปกรณ์และวิธีการ

1. สิ่งมีชีวิตที่ใช้ในงานวิจัย

เชื้อรา

ได้รับเชื้อราน้ำสายพันธุ์ต่างๆ ได้แก่ *Achlya bisexualis* (Ab) และ *Aphanomyces invadans* (Ap) จาก Prof. Dr. Kishio Hatai มหาวิทยาลัย Nippon Veterinary and Life Science โตเกียว ประเทศญี่ปุ่น

การเลี้ยงเชื้อรา

- สำหรับเชื้อ Ab และ Ap ใช้อาหารสูตร GY (glucose + yeast extract) อาหารแบบเหลว (GY broth) ประกอบด้วย กลูโคส 1 g ยีสต์เอ็กซ์แทร็ค 0.25 g และ น้ำกลั่น 100 ml ส่วนอาหารเลี้ยงเชื้อแบบแข็ง (GY agar) ให้เติมวุ้น 1.5 g / 100 ml
- สำหรับเชื้อ Lt ใช้อาหารสูตร PGYS อาหารแบบเหลว (PGYS broth) ประกอบด้วย meat peptone 0.125 g, yeast extract 0.125 g, sea salt 4 g, D-glucose 0.3 g และ น้ำกลั่น 100 ml ส่วนอาหารเลี้ยงเชื้อแบบแข็ง (PGYS agar) ให้เติมวุ้น 1.2 g/ 100 ml
- เพาะเลี้ยงเชื้อ โดยนำ cork borer ตัดเส้นใยเชื้อราน้ำวางบนอาหาร
- นำไปบ่มที่ตู้บ่ม 20 °C สำหรับเชื้อ *A. bisexualis* และที่อุณหภูมิ 25 °C สำหรับเชื้อ *A. piscicida* และ *L. thermophilum*

สมุนไพร

พืชสมุนไพรที่ใช้ กระเทียม ขมิ้นชัน และมะงคุด ได้ซื้อจากตลาดท้องถิ่น ส่วนชุมเห็ดเทศและสาบเสือ ได้จากการเก็บในป่ารก

2. การเตรียมสารสกัดสมุนไพร

ทำการเตรียมสารสกัดหยาบของสมุนไพร ดังนี้

- ล้างสมุนไพรให้สะอาด ทิ้งไว้ให้สะเด็ดน้ำ หั่นให้เป็นชิ้นเล็ก
- ชั่งน้ำหนักสมุนไพร คำนวณสมุนไพร : ตัวทำละลาย (น้ำหรือเอทานอล) ในอัตราส่วน 1:2
- บรรจุสมุนไพรกับสารละลายในขวดรูปชมพู่ ปิดปากขวดด้วยฟอยล์ นำไปเขย่าที่ 150 รอบ/นาที่ อุณหภูมิ 25 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
- นำสารสกัดมากรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 4 ด้วยเครื่อง filtration vacuum pump
- ทำสารสกัดให้แห้ง โดยวิธี freeze drying

3. การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดสมุนไพรในการยับยั้ง (fungistatic effect) ไม่ซีเลียม

ใช้เทคนิค fungistatic test ด้วยวิธี agar plate dilution ทำการทดลองโดยเลี้ยงเชื้อราบนอาหารวุ้นที่มีสารสกัดสมุนไพรละลายอยู่ที่ความเข้มข้นต่างๆ สังเกตขนาดโคโลนีเป็นเวลา 7 วัน

- เตรียมสารสกัด ที่มีความเข้มข้นต่างๆ โดยทำ 2 – fold dilution จาก stock สมุนไพรที่ระดับความเข้มข้น 20,000 ppm
- เตรียม plate และสารสกัด โดยใช้สารสกัดแต่ละความเข้มข้น 1 มิลลิลิตร : agar 9 ml (1 plate) ทำต่อความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ ส่วน control ใช้ agar 10 ml ไม่ใส่สารสกัด
- ตัดเส้นใยเชื้อรา ด้วย cork borer (ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5.5 mm) แล้วใช้เข็มเจาะแทงวางบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมสารสกัดที่เตรียมไว้ พันด้วยเทปพันขอบ เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง
- วัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง (mm) ของโคโลนีเชื้อรา ในทุก 24 ชั่วโมง เป็นเวลา 7 วัน และบันทึกผล โดยแต่ละความเข้มข้นเลี้ยง 3 ซ้ำ (plate) และแต่ละซ้ำวัดค่าใน 3 แนวเส้นผ่านศูนย์กลาง

4. การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดสมุนไพรในการฆ่า (fungicidal effect) ไม่ซีเลียม

ใช้เทคนิค fungicidal test ด้วยวิธี immersion ทำการทดลองโดยแช่ fungal agar block ในสารสกัดสมุนไพรที่ความเข้มข้นต่างๆ ที่เวลาต่างๆ แล้วนำมาเลี้ยงบนอาหารวุ้นปกติ สังเกตขนาดโคโลนีเป็นเวลา 7 วัน

- เตรียมสารสกัดสมุนไพรที่ความเข้มข้นต่างๆ (control, 125, 250, 500 และ 1,000 ppm) ใส่ในขวดแก้วเล็ก ขนาด 10 ml พร้อมติดสลากระบุความเข้มข้น
- ตัดเส้นใยเชื้อรา ด้วย cork borer (ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5.5 mm) แช่ลงในขวดแก้วเล็ก ขวดละ 3 ชิ้น
- ทำการแช่เป็นเวลา 10, 30 นาที 1, 6, 12, 24 ชั่วโมง
- เมื่อครบตามเวลาที่กำหนดแล้วใช้ forceps คีบเชื้อขึ้นมาแล้วนำมาล้างด้วยน้ำ sterile tap water 1 ครั้ง จากนั้นนำมาเลี้ยงบนอาหารวุ้นปกติ โดยวางคว่ำ
- สังเกตและวัดขนาดโคโลนีเชื้อรา ทุก 1-2 วัน จนกระทั่งโคโลนีของ control เจริญเต็มจานเลี้ยง บันทึกผล โดยวัดค่าใน 3 แนวเส้นผ่านศูนย์กลาง

5. การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดสมุนไพรในการยับยั้ง (fungistatic test) ต่อ zoospore

5.1 การเหนี่ยวนำ zoospore

- ตัดโคโลนีของเชื้อรา *A. bisexualis* และ *A. piscicida* ด้วย cork borer No.5 นำไปเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อแบบเหลว (GY broth) บ่มที่อุณหภูมิ 25 °C 24-48 ชั่วโมง
- ตัดไมซีเลียมล้าง 3 ครั้ง ด้วยน้ำประปาที่นิ่งฆ่าเชื้อแล้ว
- นำไมซีเลียมเลี้ยงในน้ำประปาที่นิ่งฆ่าเชื้อแล้ว บ่มที่อุณหภูมิ 25 °C 16-20 ชั่วโมง
- นับจำนวน zoospore ภายใต้กล้องจุลทรรศน์โดยใช้ haemocytometer ให้ได้จำนวน 1×10^5 zoospore/ml เพื่อนำไปทดสอบสารสกัดสมุนไพร

5.2 การทดสอบ fungicidal test ด้วยวิธี immersion

ใช้เทคนิค fungicidal test ด้วยวิธี immersion ทำการทดลองโดยแช่ fungal agar block ในสารสกัดสมุนไพรที่ความเข้มข้นต่างๆ ที่เวลาต่างๆ แล้วนำมาเลี้ยงบนอาหารรุ้นปกติ สังเกตขนาดโคโลนีเป็นเวลา 7 วัน

- นำ zoospore จำนวน 1×10^5 zoospore/ml ปริมาตร 9 ml ของรอน้ำทั้ง 2 ชนิด แช่ในสารสกัดสมุนไพร มังคุด กระเทียม และขมิ้นเทศ 1 ml ที่ระดับความเข้มข้น 500 ppm และ 1,000 ppm ระยะเวลาแช่ 10 นาที 14 และ 24 ชั่วโมง ทำการทดลองการทดลอง 3 ซ้ำ
- สังเกตผล การเจริญของ zoospore วัดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนี และบันทึกผลการทดลองเป็นเวลา 7 วัน

6. การทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดสมุนไพร (toxicity)

ทดสอบความพิษของสารสกัดสมุนไพรที่สนใจ โดยใช้ไข่ปลาหรือลูกปลาชนิดต่างๆ

- ใช้ตัวอย่างจำนวน 30 หน่วยต่อ 1 ตู้ การทดลองละ 3 ซ้ำ
- ใส่ น้ำปริมาตร 500 ml/ตู้ทดลอง
- เตรียมความเข้มข้นของสารสกัดในตู้ โดยเจือจางจาก stock solution (10,000 ppm) เพื่อให้ได้ความเข้มข้นที่ทดลอง เช่น 1000, 500, 250 และ 125 ppm เป็นต้น
- นับจำนวนไข่ปลาตายที่เวลา 96 ชั่วโมง
- ทำการคำนวณค่า LC_{50} 96h (lethal concentration at 50% for 96 h)

7. การทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราในไข่ปลานิล (treatment test)

เลือกสารสกัดสมุนไพรที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อรา และมีความเป็นพิษต่อสัตว์น้ำวัยอ่อน กำหนดค่าความเข้มข้นที่จะทดลองใช้ โดยคำนวณจากค่าการยับยั้งเชื้อรา (fungistatic effect) ค่าการฆ่าเชื้อรา (fungicidal effect) และค่าความเป็นพิษต่อสัตว์น้ำ (toxicity, LC_{50} 96 h)

- เหนียวนำไปใส่ปลาติดเชื้อราโดยการแช่ปลาในเชื้อราที่ความเข้มข้น 1×10^4 spores/ml เป็นเวลา 6 ชั่วโมง
- ทดสอบการรักษาเชื้อราในสัตว์น้ำด้วยสกัดสมุนไพรร โดยการแช่ปลาที่ติดเชื้อราในน้ำที่มีสารสกัดสมุนไพรร 24 ชั่วโมง
- สังเกตอาการของปลา, อัตราเพาะฟักและอัตราการรอด บันทึกผลการรักษาเป็นเวลา 4 วัน

8. การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลมาวิเคราะห์หาค่าเฉลี่ย (average) ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard division) วิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance) และเปรียบเทียบความแตกต่าง ด้วยวิธี one way ANOVA ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% และ Tukey method

ผลการวิจัยและวิจารณ์

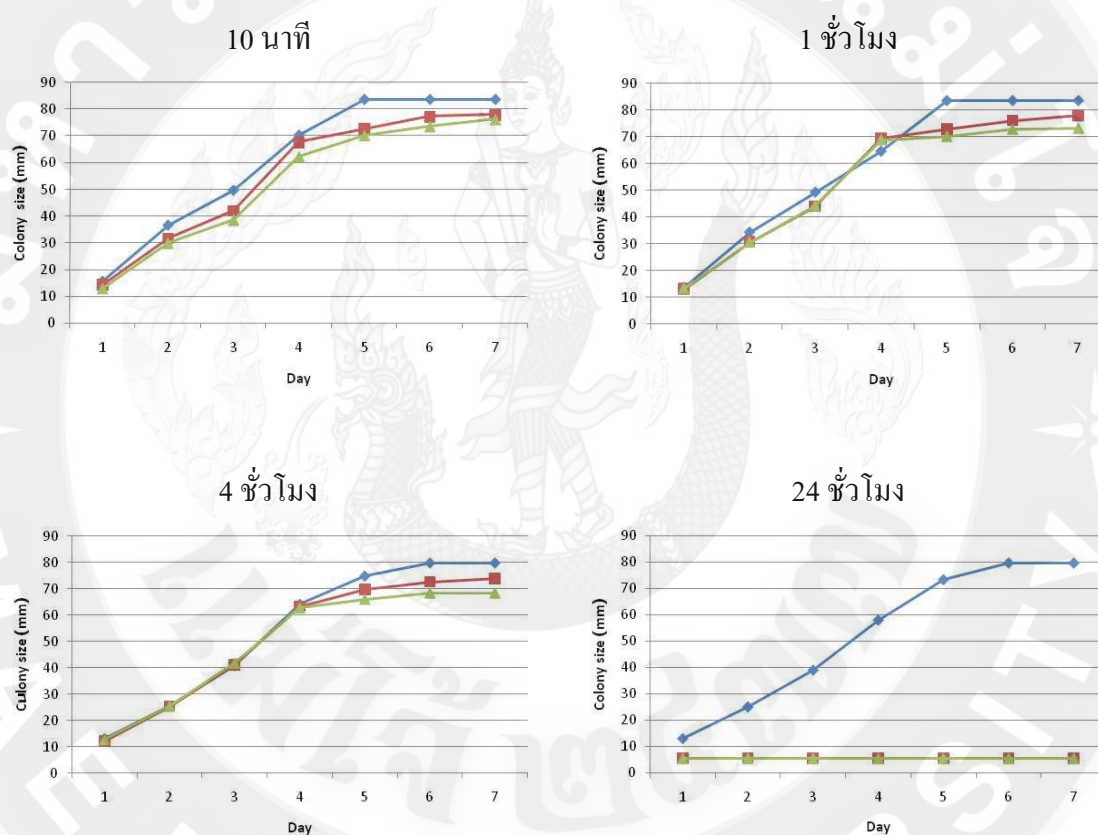
ได้ทำการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดสมุนไพรไทยต่อเชื้อรา 2 ชนิด ได้แก่ *Achlya bisexualis* และ *Aphanomyces invadans* โดยใช้สารสกัดสมุนไพรไทย 5 ชนิด ได้แก่ หัวกระเทียม เหง้าขมิ้นชัน ใบชุมเห็ดเทศ เปลือกผลมังคุด และใบสาบเสือ ซึ่งสกัดด้วยน้ำและเอทานอลที่อุณหภูมิห้อง และอุณหภูมิสูง (60 °C 2 ชั่วโมง) ทำการทดสอบการยับยั้งเชื้อราน้ำในระยะไมซีเลียม (fungistatic effect) แล้วเลือกสารสกัดสมุนไพรที่ให้ผลดีในการยับยั้งต่อเชื้อราทั้ง 2 ชนิด นำมาทดสอบประสิทธิภาพการฆ่าสปอร์ของเชื้อรา (fungicidal effect) ศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดสมุนไพรต่อสัณฐานของสปอร์ ศึกษาความเป็นพิษของสารสกัดสมุนไพรต่อไข่ปลาและลูกปลา และทดสอบประสิทธิผลของสารสกัดสมุนไพรในการยับยั้งการติดเชื้อราน้ำในลูกปลานิล

1. สารสกัดสมุนไพรต่อ zoospores ของ *Achlya bisexualis*

1.1 ประสิทธิภาพของสารสกัดสมุนไพรในการยับยั้งสปอร์ของเชื้อรา (fungistatic effect)

ทำการศึกษาประสิทธิภาพสารสกัดกระเทียมต่อการยับยั้ง สปอร์ ของเชื้อราน้ำ *A. bisexualis* ที่ความหนาแน่น 1×10^4 zoospores/ml ต่อสารสกัดสมุนไพรที่ระดับความเข้มข้น 500 และ 1,000 ppm แช่นาน 10 นาที, 1, 4 และ 24 ชั่วโมง แล้วนำมาเลี้ยงบนอาหารวุ้น สังเกตการเจริญเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

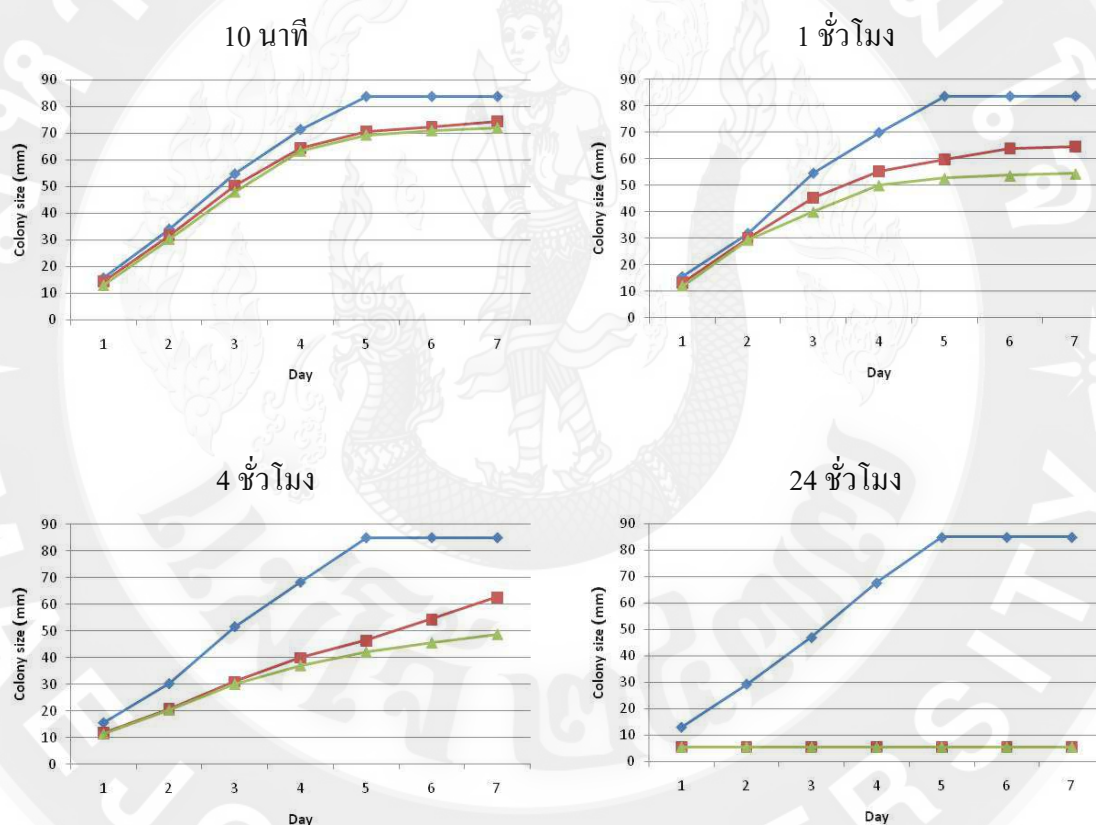
ประสิทธิภาพของสารสกัดกระเทียม-น้ำ ต่อซีสปอร์ของเชื้อรา *A. bisexualis* พบว่าที่ความเข้มข้น 500 และ 1000 ppm แช่นาน 10 นาที, 1, 4 ชั่วโมง หลังเลี้ยง 4 วัน เชื้อรามีการเจริญช้าลงเล็กน้อย แต่ไม่มีความแตกต่างกับกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) ส่วนกลุ่มที่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับกลุ่มควบคุม ($p<0.01$) ได้แก่ ทั้ง 2 ความเข้มข้น แช่นาน 24 ชั่วโมง ไม่มีการออกของซีสปอร์ ตลอด 7 วัน (ภาพที่ 7, ตารางที่ 2)



ภาพที่ 7 การเจริญของ *A. bisexualis* zoospores หลังแช่ด้วยสารสกัดกระเทียม-น้ำ ที่เวลาต่างๆ

— กลุ่มควบคุม — 500 ppm — 1,000 ppm

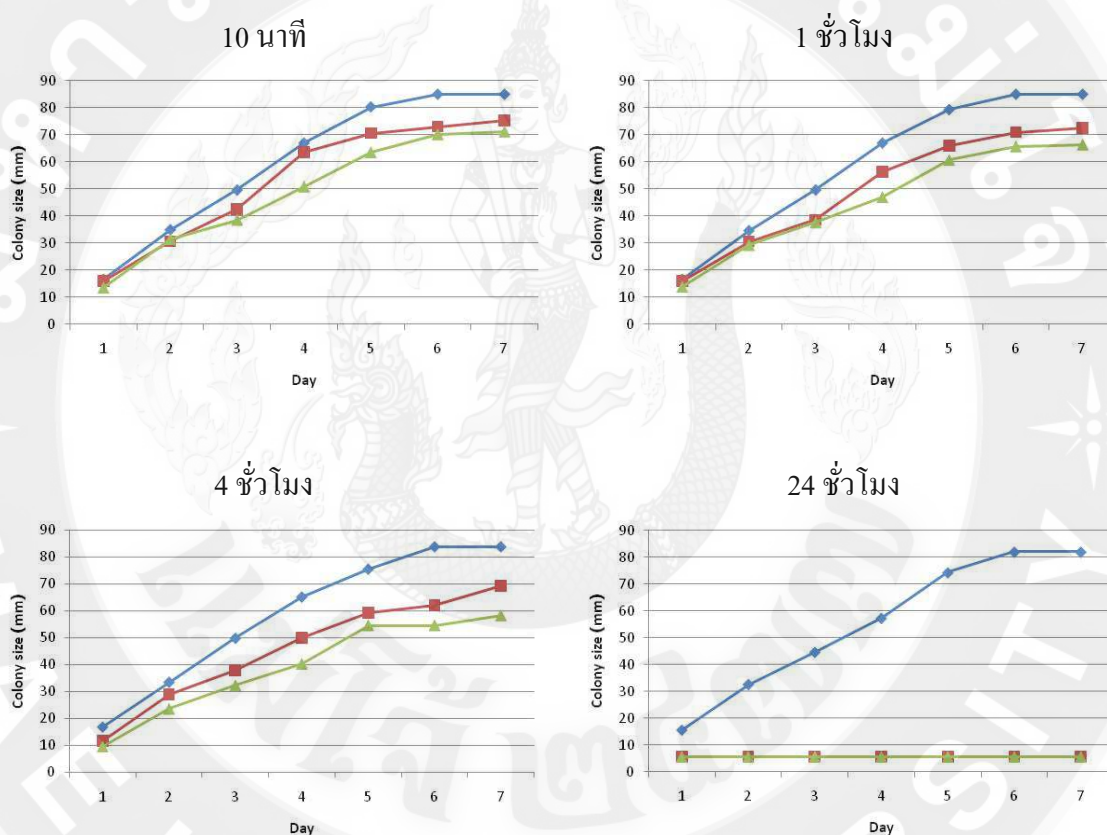
ประสิทธิภาพของสารสกัดกระเทียม-น้ำ-ต้ม ต่อซีสปอร์ของเชื้อรา *A. bisexualis* พบว่า ที่ความเข้มข้น 500 และ 1000 ppm แชนาน 10 นาที หลังเลี้ยง 4 วัน เชื้อรามีการเจริญช้าลง แต่ที่แชนาน 1 และ 4 ชั่วโมง เชื้อราจะลดการเจริญอย่างเห็นได้ชัด โดยเจริญช้ากว่ากลุ่มควบคุม ประมาณ 50% อย่างไรก็ตามที่การแชนานทั้ง 3 เวลาไม่มีความแตกต่างกับกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) ส่วนกลุ่มที่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับกลุ่มควบคุม ($p<0.01$) ได้แก่ ทั้ง 2 ความเข้มข้น แชนาน 24 ชั่วโมง ไม่มีการงอกของซีสปอร์ ตลอด 7 วัน (ภาพที่ 8, ตารางที่ 2)



ภาพที่ 8 การเจริญของ *A. bisexualis* zoospores หลังแช่ด้วยสารสกัดกระเทียม-น้ำ-ต้ม ที่เวลาต่างๆ

— กลุ่มควบคุม — 500 ppm — 1,000 ppm

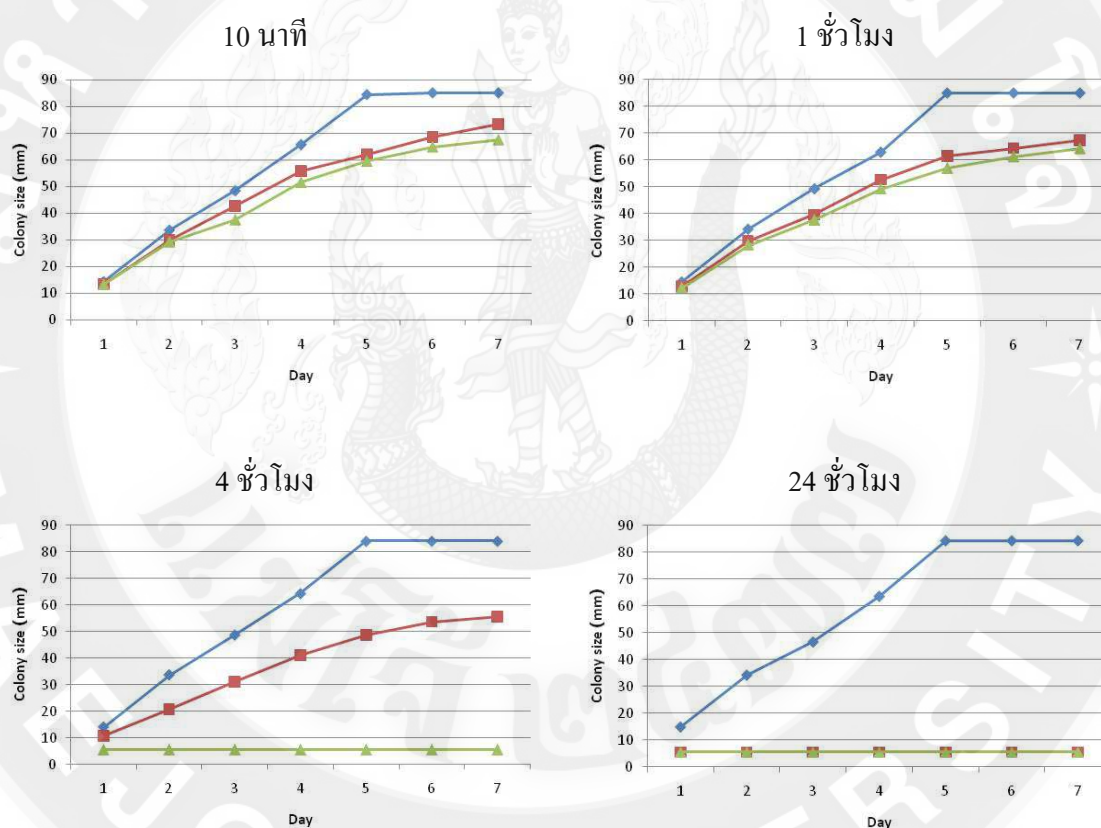
ประสิทธิภาพของสารสกัดกระเทียม-เอทานอล ต่อซุสพอร์ของเชื้อ *A. bisexualis* พบว่า ที่ความเข้มข้น 500 และ 1000 ppm แชนาน 10 นาที 1 และ 4 ชั่วโมง เชื้อรามีการเจริญช้าลง แต่ไม่มีความแตกต่างกับกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) ส่วนกลุ่มที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญกับกลุ่มควบคุม ($p<0.01$) ได้แก่ ที่ทั้ง 2 ความเข้มข้น แชนาน 24 ชั่วโมง ไม่มีการงอกของซุสพอร์ ตลอด 7 วัน (ภาพที่ 9, ตารางที่ 2)



ภาพที่ 9 การเจริญของ *A. bisexualis* zoospores หลังแช่ด้วยสารสกัดกระเทียม-เอทานอล ที่เวลาต่างๆ

— กลุ่มควบคุม — 500 ppm — 1,000 ppm

ประสิทธิภาพของสารสกัดกระเทียม-เอทานอล-ต้ม ต่อซุสสปอร์เชื้อรา *A. bisexualis* พบว่า ที่ความเข้มข้น 500 และ 1000 ppm แช่นาน 10 นาที, และ 1 ชั่วโมง เชื้อรามีการเจริญช้ากว่ากลุ่มควบคุม แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) แต่ที่ความเข้มข้น 500 ppm แช่นาน 4 ชั่วโมง เชื้อราจะลดการเจริญประมาณ 50% ส่วนกลุ่มที่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับกลุ่มควบคุม ($p<0.01$) ได้แก่ ที่ความเข้มข้น 1,000 ppm แช่นาน 4 ชั่วโมง และที่ทั้ง 2 ความเข้มข้น แช่นาน 24 ชั่วโมง ไม่มีการออกของซุสสปอร์ ตลอด 7 วัน (ภาพที่ 10, ตารางที่ 2)



ภาพที่ 10 การเจริญของ *A. bisexualis* zoospores หลังแช่ด้วยสารสกัดกระเทียม-เอทานอล-ต้ม ที่เวลาต่างๆ

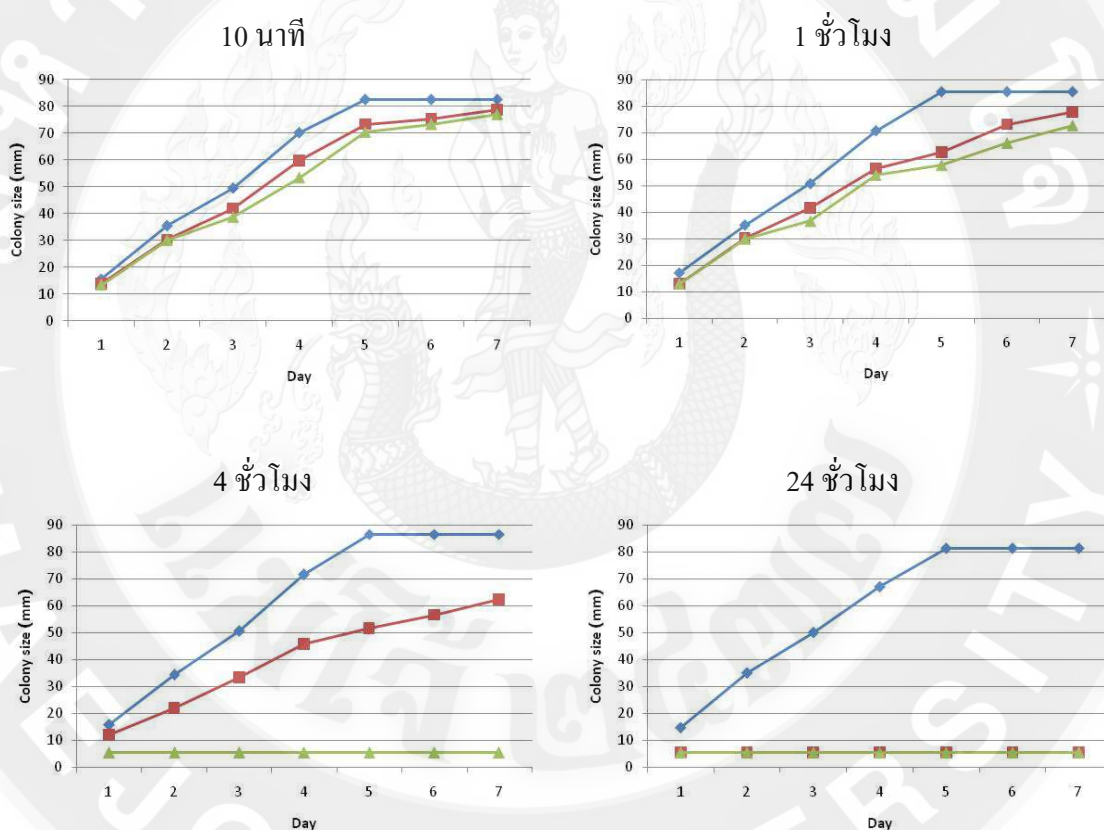
— กลุ่มควบคุม — 500 ppm — 1,000 ppm

ตารางที่ 2 ประสิทธิภาพของสารสกัดกระเทียมยับยั้งการเจริญของ *A. bisexualis* zoospores

สารสกัด	ระดับความเข้มข้นสารสกัด (ppm)			
	เวลาแช่	0	500	1,000
กระเทียม-น้ำ	10 นาที	60.47±13.23 ^a	54.81±9.59 ^a	52.05±9.37 ^a
	1 ชม.	59.81±10.48 ^a	54.81±9.72 ^a	53.43±9.15 ^a
	4 ชม.	53.86±10.38 ^a	51.14±9.49 ^a	49.29±8.67 ^a
	24 ชม.	52.54±10.28 ^b	5.50±0.00 ^a	5.50±0.00 ^a
กระเทียม-น้ำ-ต้ม	10 นาที	60.95±10.32 ^a	54.00±8.76 ^a	52.43±8.72 ^a
	1 ชม.	60.48±10.41 ^a	47.58±7.33 ^a	41.73±6.04 ^a
	4 ชม.	60.12±10.76 ^a	38.10±6.89 ^a	33.54±5.20 ^a
	24 ชม.	58.87±11.18 ^b	5.50±0.00 ^a	5.50±0.00 ^a
กระเทียม-เอทานอล	10 นาที	59.81±10.14 ^a	53.14±8.86 ^a	48.62±8.20 ^a
	1 ชม.	59.62±10.11 ^a	50.19±8.32 ^a	45.81±7.54 ^a
	4 ชม.	58.19±9.82 ^a	45.62±7.53 ^a	39.10±6.91 ^a
	24 ชม.	55.52±9.74 ^b	5.50±0.00 ^a	5.5±0.00 ^a
กระเทียม-เอทานอล-ต้ม	10 นาที	59.48±10.68 ^a	49.33±8.23 ^a	46.35±7.66 ^a
	1 ชม.	59.47±10.60 ^a	46.90±7.64 ^a	44.33±7.24 ^a
	4 ชม.	58.98±10.56 ^b	37.34±6.49 ^b	5.50±0.00 ^a
	24 ชม.	58.96±10.51 ^b	5.50±0.00 ^a	5.50±0.00 ^a

หมายเหตุ: อักษรด้วยภาษาอังกฤษแสดงถึงการวิเคราะห์หัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ในแนวนอน

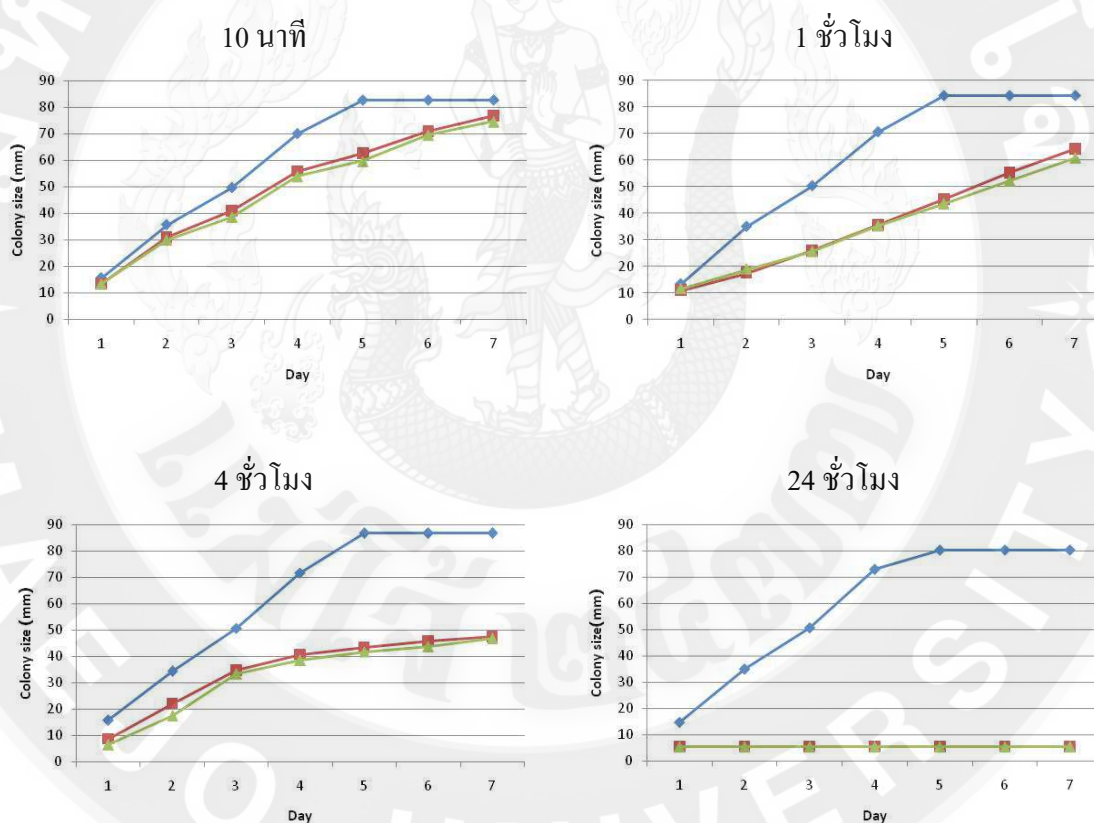
การศึกษาประสิทธิภาพสารสกัดมังคุด-น้ำ ต่อซุสพอร์ของเชื้อรา *A. bisexualis* พบว่า ที่ความเข้มข้น 500 และ 1000 ppm แช่นาน 10 นาที และ 1 ชั่วโมง เชื้อรามีการเจริญช้าลงเล็กน้อย ที่ความเข้มข้น 500 ppm แช่นาน 4 ชั่วโมง เชื้อราชะลอการเจริญ อย่างไรก็ตามที่การแช่ทั้ง 3 เวลา ไม่มีความแตกต่างกับกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) ส่วนกลุ่มที่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับกลุ่มควบคุม ($p<0.01$) ได้แก่ ที่ความเข้มข้น 1000 ppm แช่นาน 4 ชั่วโมง และทั้ง 2 แช่นาน 24 ชั่วโมง ไม่มีการออกของซุสพอร์ ตลอด 7 วัน (ภาพที่ 11, ตารางที่ 3)



ภาพที่ 11 การเจริญของ *A. bisexualis* zoospores หลังแช่ด้วยสารสกัดมังคุด-น้ำ ที่เวลาต่างๆ

— กลุ่มควบคุม — 500 ppm — 1,000 ppm

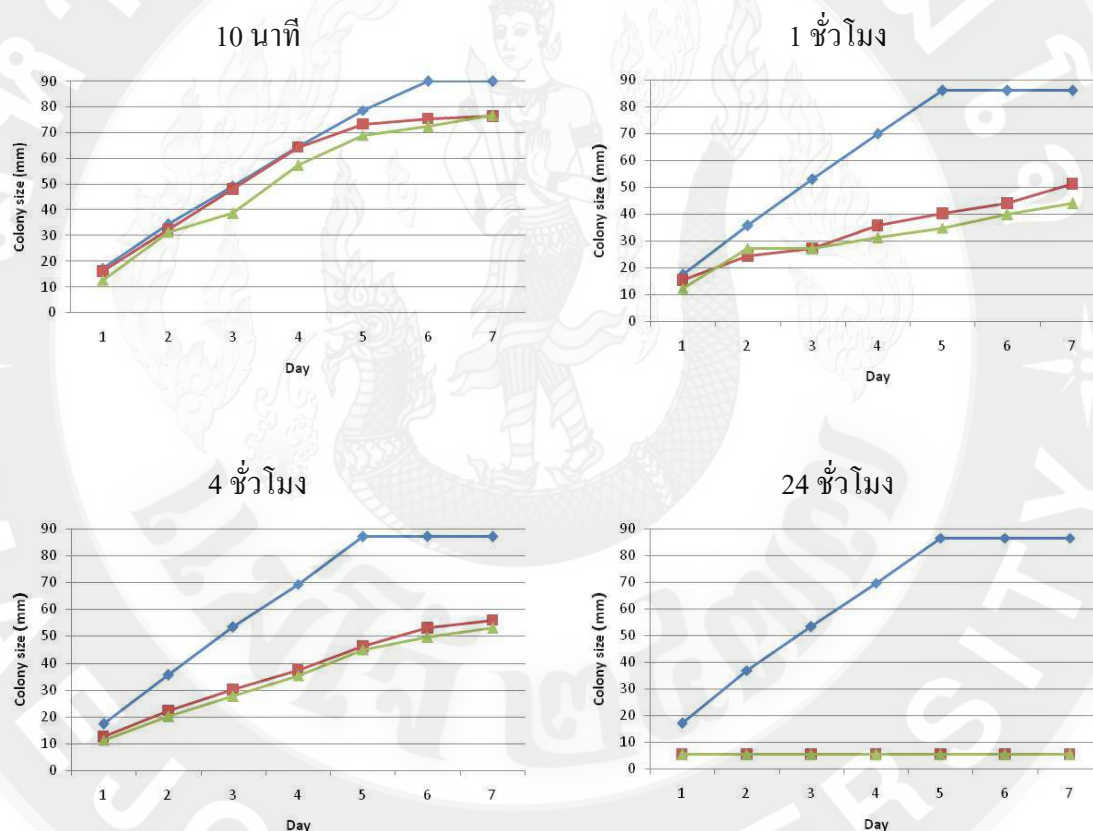
การศึกษาประสิทธิภาพสารสกัดมังคุด-น้ำ-ดื่ม ต่อซุสปอร์ของเชื้อรา *A. bisexualis* พบว่า ที่ความเข้มข้น 500 และ 1,000 ppm แชนาน 10 นาที เชื้อราเจริญช้าลง แต่ที่แชนาน 1 และ 4 ชั่วโมง เชื้อราชะลอการเจริญอย่างเห็นได้ชัด โดยเจริญช้ากว่ากลุ่มควบคุม อย่างไรก็ตามที่การแช่ทั้ง 3 เวลา ไม่มีความแตกต่างกับกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ส่วนกลุ่มที่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับกลุ่มควบคุม ($p < 0.01$) ได้แก่ ทั้ง 2 ความเข้มข้น แชนาน 4 ชั่วโมง เชื้อราชะลอการเจริญอย่างเห็นได้ และที่แชนาน 24 ชั่วโมง ไม่มีการงอกของซุสปอร์ ตลอด 7 วัน (ภาพที่ 12, ตารางที่ 3)



ภาพที่ 12 การเจริญของ *A. bisexualis* zoospores หลังแช่ด้วยสารสกัดมังคุด-น้ำ-ดื่ม ที่เวลาต่างๆ

— กลุ่มควบคุม — 500 ppm — 1,000 ppm

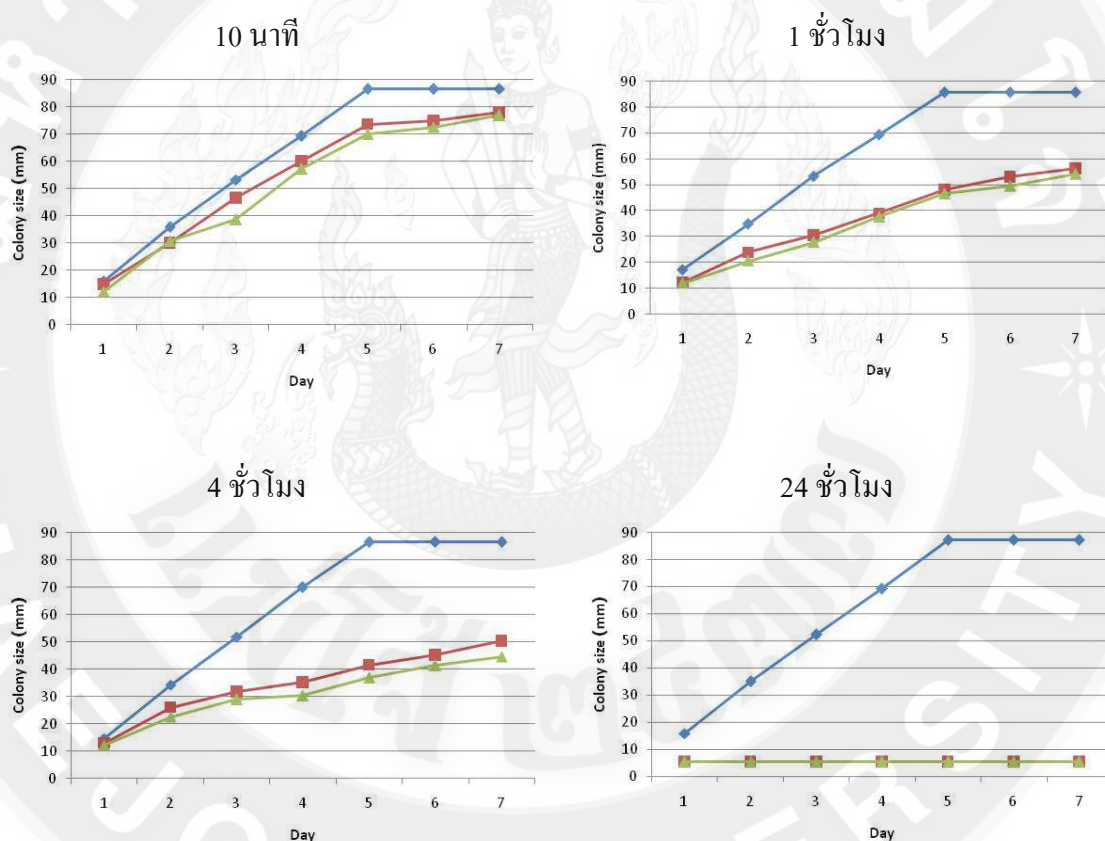
การศึกษาประสิทธิภาพสารสกัดมังคุด-เอทานอล ต่อซุสเปอร์ของเชื้อรา *A. bisexualis* พบว่า ที่ความเข้มข้น 500 และ 1,000 ppm แชนาน 10 นาที เชื้อราเจริญช้าลงเล็กน้อย แต่ที่แชนาน 1 และ 4 ชั่วโมง เชื้อราชะลอการเจริญอย่างเห็นได้ชัด โดยเจริญช้ากว่ากลุ่มควบคุม อย่างไรก็ตามที่การแชนทั้ง 3 เวลา ไม่มีความแตกต่างกับกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ส่วนกลุ่มที่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับกลุ่มควบคุม ($p < 0.01$) ได้แก่ ทั้ง 2 ความเข้มข้น แชนาน 24 ชั่วโมง ไม่มีการออกของซุสเปอร์ ตลอด 7 วัน (ภาพที่ 13, ตารางที่ 3)



ภาพที่ 13 การเจริญของ *A. bisexualis* zoospores หลังแช่ด้วยสารสกัดมังคุด-เอทานอล ที่เวลาต่างๆ

— กลุ่มควบคุม — 500 ppm — 1,000 ppm

การศึกษาประสิทธิภาพสารสกัดมังคุด-เอทานอล-ต้ม ต่อ ซูสปอร์ ของเชื้อรา *A. bisexualis* พบว่า ที่ความเข้มข้น 500 และ 1,000 ppm แชนาน 10 นาที เชื้อราเจริญช้าลงเล็กน้อย แต่ที่ แชนาน 1 ชั่วโมง เชื้อราชะลอการเจริญอย่างเห็นได้ชัด โดยเจริญช้ากว่ากลุ่มควบคุม อย่างไรก็ตามที่ การแช่ทั้ง 2 เวลา ไม่มีความแตกต่างกับกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ส่วนกลุ่มที่มีความ แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับกลุ่มควบคุม ($p < 0.01$) ได้แก่ ทั้ง 2 ความเข้มข้น แชนาน 4 ชั่วโมง เชื้อรา ชะลอการเจริญ และแชนาน 24 ชั่วโมงไม่มีการออกของ ซูสปอร์ ตลอด 7 วัน (ภาพที่ 14, ตารางที่ 3)



ภาพที่ 14 การเจริญของ *A. bisexualis* zoospores หลังแช่ด้วยสารสกัดมังคุด-เอทานอล-ต้ม ที่เวลาต่างๆ

— กลุ่มควบคุม — 500 ppm — 1,000 ppm

ตารางที่ 3 ประสิทธิภาพของสารสกัดมังคุดยับยั้งการเจริญของ *A. bisexualis* zoospores

สารสกัด	เวลาแช่	ระดับความเข้มข้นสารสกัด (ppm)		
		0	500	1,000
มังคุด-น้ำ	10 นาที	59.92±10.13 ^a	53.35±9.47 ^a	50.88±9.21 ^a
	1 ชม.	61.36±10.45 ^a	50.81±8.94 ^a	47.00±8.07 ^a
	4 ชม.	61.77±10.86 ^b	40.53±7.06 ^b	5.50±0.00 ^a
	24 ชม.	58.66±9.98 ^b	5.50±0.00 ^a	5.50±0.00 ^a
มังคุด-น้ำ-ต้ม	10 นาที	59.86±10.12 ^a	50.29±7.43 ^a	35.55±6.79 ^a
	1 ชม.	60.34±10.66 ^a	36.49±7.43 ^a	35.55±6.79 ^a
	4 ชม.	61.75±10.86 ^b	34.63±5.41 ^{ab}	32.45±5.69 ^a
	24 ชม.	59.19±9.96 ^b	5.50±0.00 ^a	5.50±0.00 ^a
มังคุด-เอทานอล	10 นาที	60.57±10.65 ^a	55.12±8.96 ^a	51.17±9.12 ^a
	1 ชม.	62.07±10.48 ^b	34.01±4.69 ^a	30.96±3.90 ^a
	4 ชม.	62.38±10.56 ^a	36.67±6.11 ^a	34.58±5.59 ^a
	24 ชม.	62.49±10.44 ^b	5.50±0.00 ^a	5.50±0.00 ^a
มังคุด-เอทานอล-ต้ม	10 นาที	62.10±10.64 ^a	54.05±9.25 ^a	51.25±9.27 ^a
	1 ชม.	61.73±10.39 ^a	37.62±6.11 ^a	35.59±5.99 ^a
	4 ชม.	61.58±10.91 ^b	34.77±4.78 ^a	31.04±4.23 ^a
	24 ชม.	62.09±10.82 ^b	5.50±0.00 ^a	5.50±0.00 ^a

หมายเหตุ : อักษรตัวภาษาอังกฤษแสดงถึงการวิเคราะห์หัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ในแนวนอน

1.2 สารสกัดสมุนไพรต่อลักษณะสัณฐานวิทยาของ *Achlya bisexualis* zoospores

จากการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของ *A. bisexualis* zoospores ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM) พบว่า ซูสปอร์ ปกติ มีลักษณะเป็นรูปไข่ พื้นผิวเรียบไม่เหี่ยว และมีการพัฒนาเป็นเส้นใย ระยะ secondary zoospore มีรูปร่างเป็นแบบ bean-shape (ภาพที่ 15 A) ลักษณะพื้นผิวขรุขระ หนูนสูง จากนั้น secondary zoospore พัฒนาเป็นเส้นใยหรือเรียกว่า germ tube (ภาพที่ 15 B) ระยะของเซลล์ที่มีลักษณะรูปร่างคล้าย dumbbell เรียกว่า dumbbell-shape (ภาพที่ 15 D) และพัฒนามากเป็นเส้นใย (ภาพที่ 15 E, F)

ส่วนลักษณะสัณฐานวิทยาของ ซูสปอร์ ที่ใช้ในสารสกัดกระเทียมชนิดต่างๆ มีผลดังนี้ ซูสปอร์ แช่ด้วยสารสกัดกระเทียม-น้ำ และ เอทานอล ที่ความเข้มข้น 1,000 ppm แช่นาน 4 และ 24 ชั่วโมง พบว่า

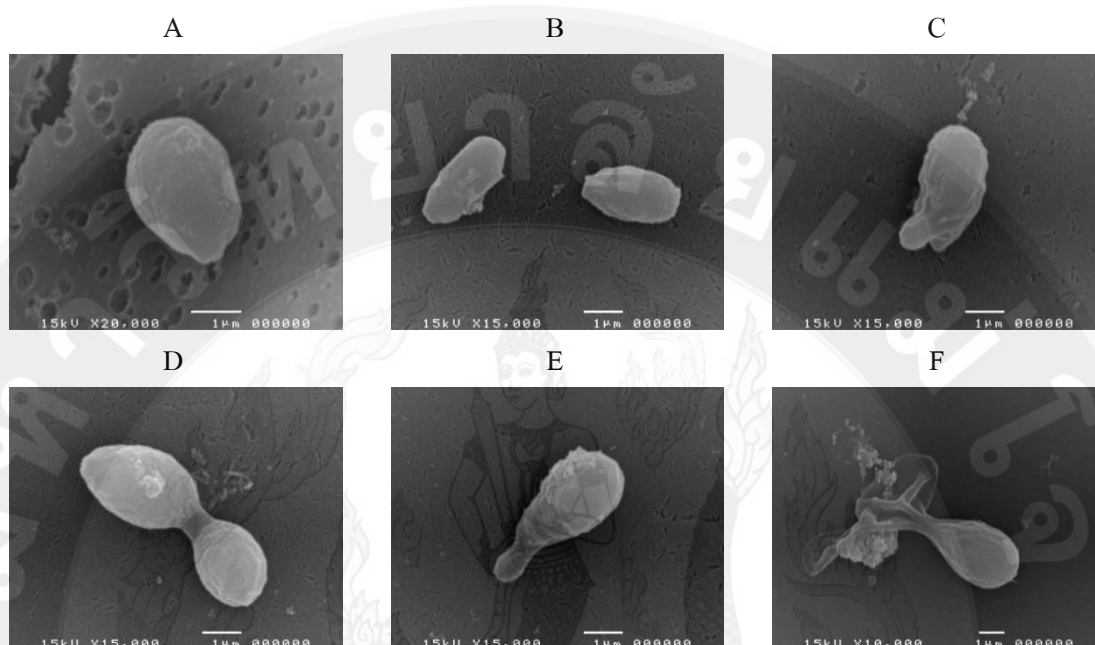
ลักษณะสัณฐานวิทยาของ ซูสปอร์ แช่กระเทียม-น้ำ มีรูปร่างบิดเบี้ยว เหี่ยวและฉีกขาด (ภาพที่ 16)

ลักษณะสัณฐานวิทยาของ ซูสปอร์ แช่กระเทียม-น้ำ-ดม มีรูปร่างบิดเบี้ยว เซลล์เหี่ยว ฉีกขาด พบระยะ dumbbell shape มีลักษณะเหี่ยวและคอดบวม (ภาพที่ 17)

ลักษณะสัณฐานวิทยาของ ซูสปอร์ แช่กระเทียม-เอทานอล มีรูปร่างบิดเบี้ยว เหี่ยว และ dumbbell-shape เริ่มเหี่ยว รวมทั้ง germ tube หรือระยะที่มีการพัฒนาเป็นเส้นใยมีรูปร่างเหี่ยวเช่นกัน (ภาพที่ 18)

ลักษณะสัณฐานวิทยาของ ซูสปอร์ แช่กระเทียม-เอทานอล-ดม มีรูปร่างบิดเบี้ยวเหี่ยว (ภาพ 19)

จะเห็นได้ว่าสารสกัดกระเทียมมีความรุนแรงของต่อโครงสร้างของ ซูสปอร์ พบว่า ซูสปอร์ แช่ที่ความเข้มข้น 1,000 ppm นาน 4 ชั่วโมง มีลักษณะเหี่ยว รูปร่างบิดเบี้ยว และแช่นาน 24 ชั่วโมง ซูสปอร์ มีลักษณะเหี่ยวมากกว่าแช่นาน 4 ชั่วโมง



ภาพที่ 15 ลักษณะสัณฐานวิทยาของ *A. bisexualis* zoospores ปกติ

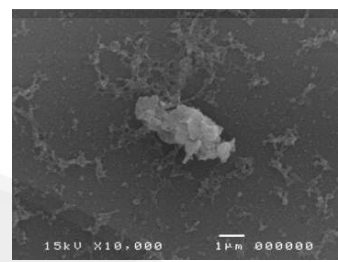
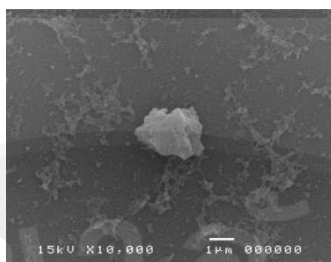
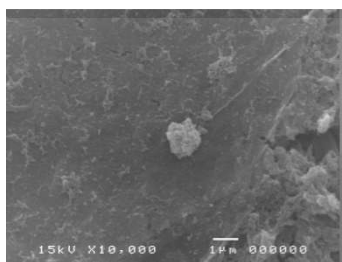
A : ระยะ secondary zoospore

B, C : ระยะ germtube กำลังงอกเป็นเส้นใยใหม่

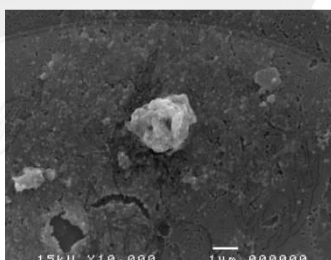
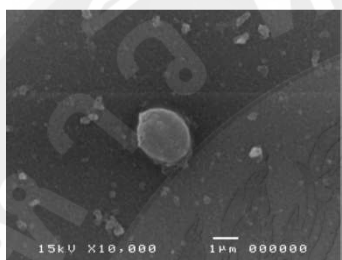
D : dumbbell-shaped

E,F : พัฒนางอกเป็นเส้นใย

แช่นาน 4 ชั่วโมง

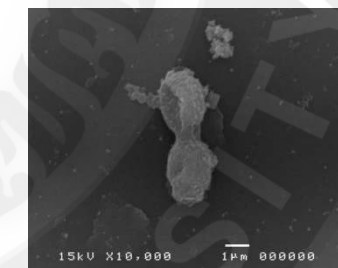
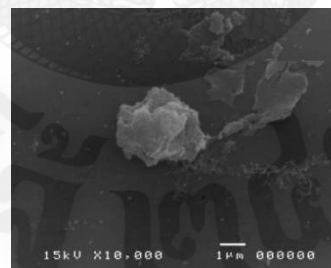
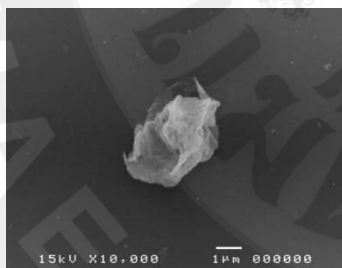


แช่นาน 24 ชั่วโมง

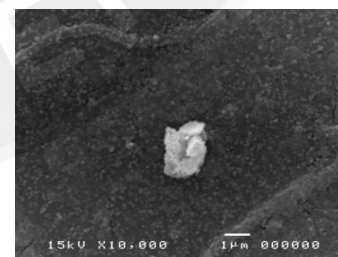
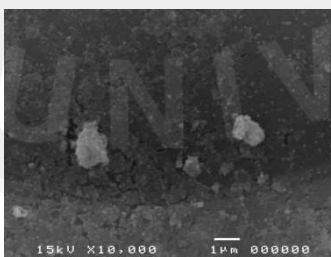
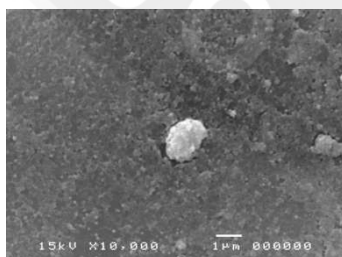


ภาพที่ 16 ลักษณะสัณฐานวิทยาของ *A. bisexualis* zoospores ที่แช่ด้วยสารสกัดกระเทียม-น้ำ
นาน 4 และ 24 ชั่วโมง

แช่นาน 4 ชั่วโมง

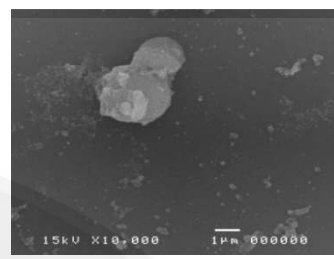
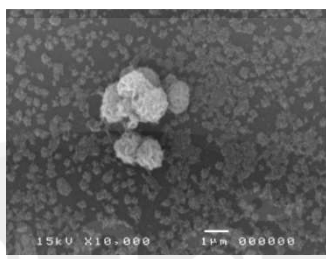
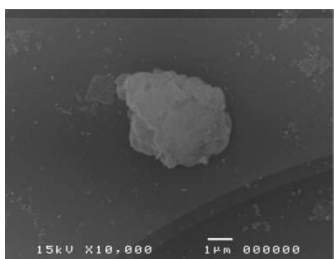


แช่นาน 24 ชั่วโมง

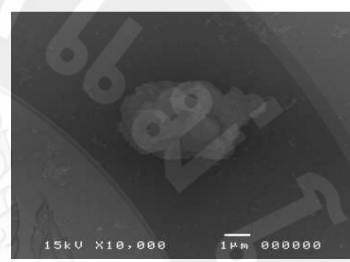
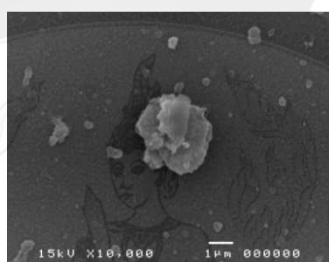
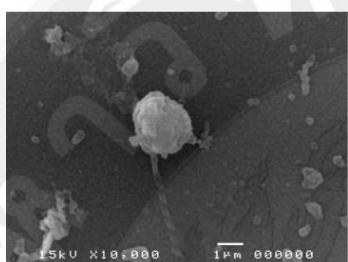


ภาพที่ 17 ลักษณะสัณฐานวิทยาของ *A. bisexualis* zoospores ที่แช่ด้วยสารสกัดกระเทียม-น้ำ-ดัม
นาน 4 และ 24 ชั่วโมง

แช่นาน 4 ชั่วโมง

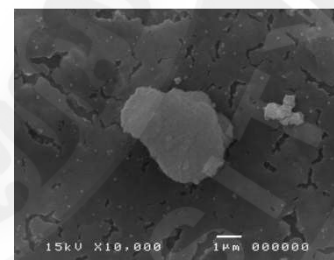
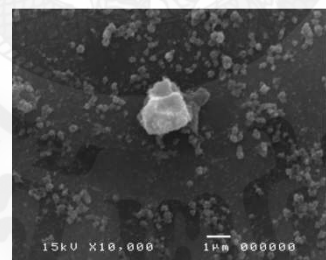
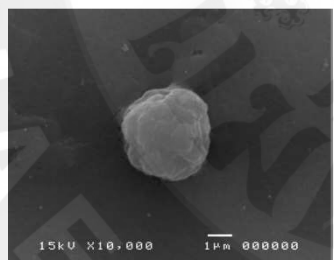


แช่นาน 24 ชั่วโมง

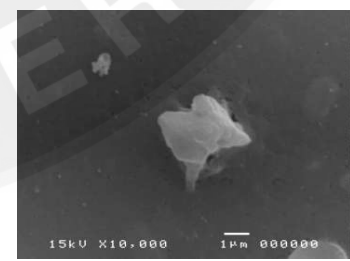
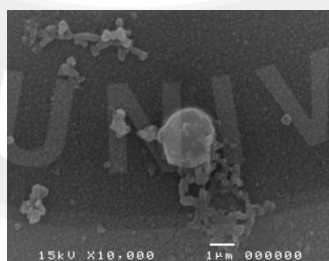
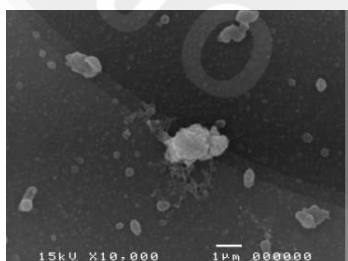


ภาพที่ 18 ลักษณะสัณฐานวิทยาของ *A. bisexualis* zoospores ที่แช่ด้วยสารสกัดกระเทียม-เอทานอล นาน 4 และ 24 ชั่วโมง

แช่นาน 4 ชั่วโมง



แช่นาน 24 ชั่วโมง



ภาพที่ 19 ลักษณะสัณฐานวิทยาของ *A. bisexualis* zoospores ที่แช่ด้วยสารสกัดกระเทียม-เอทานอล-ดม นาน 4 และ 24 ชั่วโมง

จากการศึกษาลักษณะพื้นฐานวิทยา ซูสปอร์ เชื้อรา *A.bisexualis* แซ่สารสกัดมังกุด
ด้วยน้ำและเอทานอล ที่ความเข้มข้น 1,000 ppm แช่นาน 4 และ 24 ชั่วโมง พบว่า

ลักษณะพื้นฐานวิทยาของ ซูสปอร์ แซ่มังกุด-น้ำ มีรูปร่างบิดเบี้ยว หัว และนิกขาด
dumbbell-shape และ germ tube มีรูปร่างบิดเบี้ยวและหัว ลักษณะ ซูสปอร์ รูปร่างบิดเบี้ยว หัว
และนิกขาด (ภาพที่ 20)

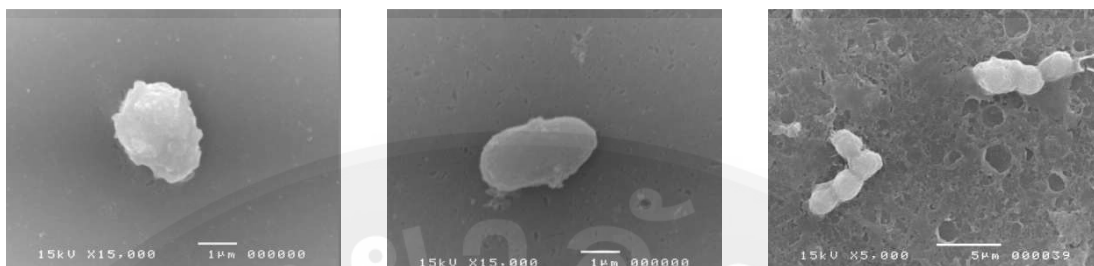
ลักษณะพื้นฐานวิทยาของ ซูสปอร์ แซ่มังกุด-น้ำ-ต้ม มีรูปร่างบิดเบี้ยว เซลล์หัว และ
นิกขาด (ภาพที่ 21)

ลักษณะพื้นฐานวิทยาของ ซูสปอร์ แซ่มังกุด-เอทานอล มีรูปร่างบิดเบี้ยว หัว และนิก
ขาด (ภาพที่ 22)

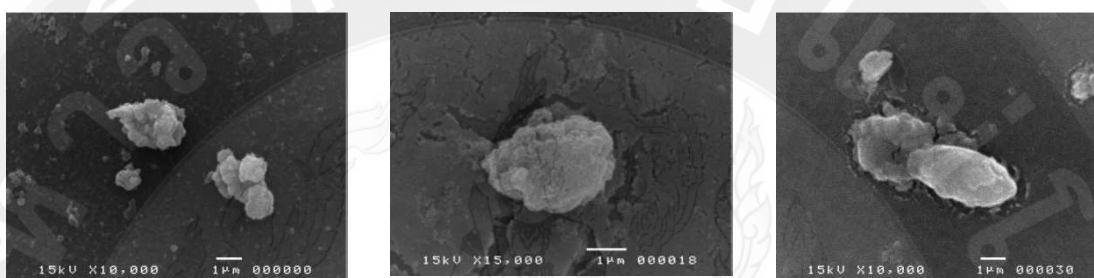
ลักษณะพื้นฐานวิทยาของ ซูสปอร์ แซ่มังกุด-เอทานอล-ต้ม มีรูปร่างบิดเบี้ยว และนิก
ขาด (ภาพที่ 23)

จะเห็นได้ว่าสารสกัดมังกุดมีความรุนแรงต่อโครงสร้างของ ซูสปอร์ พบว่าการแช่ใน
ทุกสารสกัดมังกุดที่ความเข้มข้น 1,000 ppm แช่นาน 4 ชั่วโมง ซูสปอร์ มีลักษณะหัว รูปร่างบิด
เบี้ยว และแช่นาน 24 ชั่วโมง ซูสปอร์ มีลักษณะหัวมากกว่า แช่นาน 4 ชั่วโมง

แช่นาน 4 ชั่วโมง

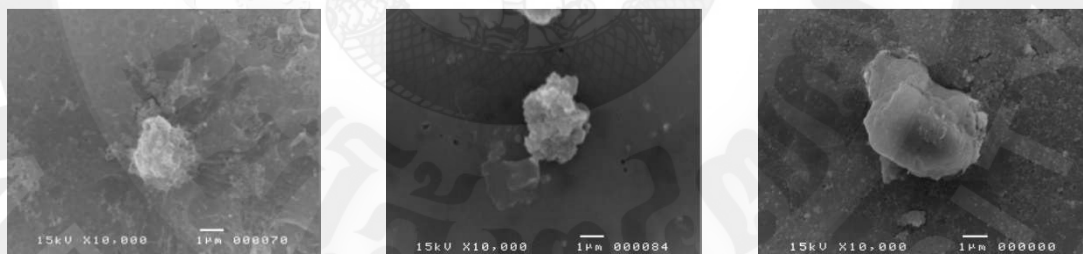


แช่นาน 24 ชั่วโมง

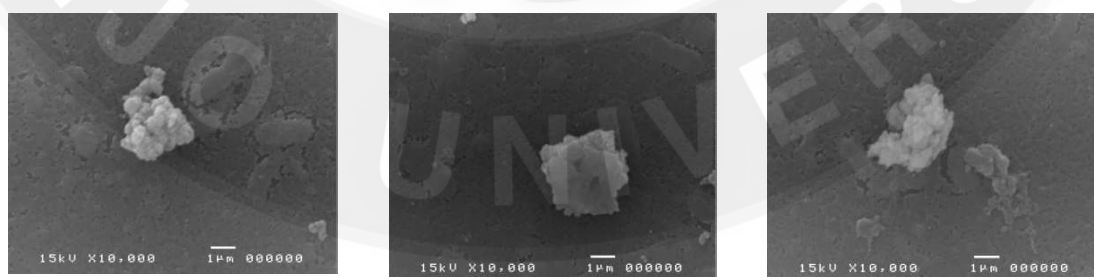


ภาพที่ 20 ลักษณะสัณฐานวิทยาของ *A. bisexualis* zoospores ที่แช่ด้วยสารสกัดมังคุด-น้ำ
นาน 4 และ 24 ชั่วโมง

แช่นาน 4 ชั่วโมง

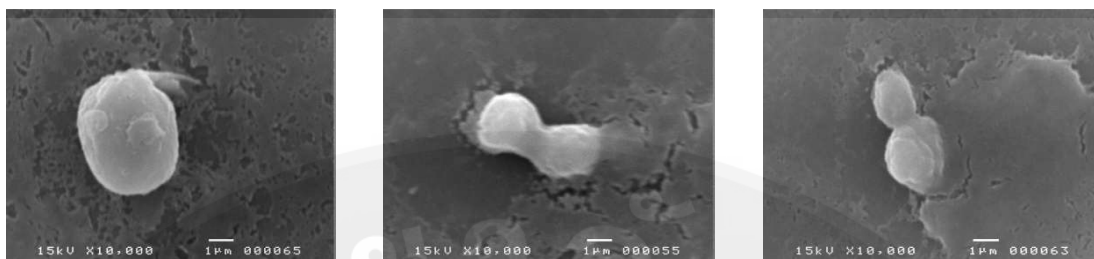


แช่นาน 24 ชั่วโมง

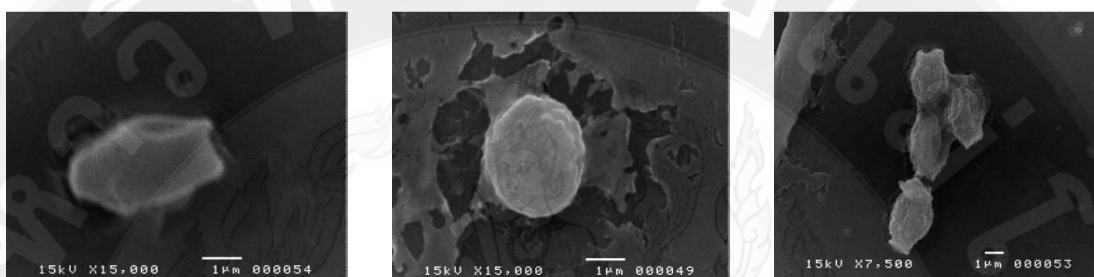


ภาพที่ 21 ลักษณะสัณฐานวิทยาของ *A. bisexualis* zoospores ที่แช่ด้วยสารสกัดมังคุด-น้ำ-ดื่ม
นาน 4 และ 24 ชั่วโมง

แช่นาน 4 ชั่วโมง

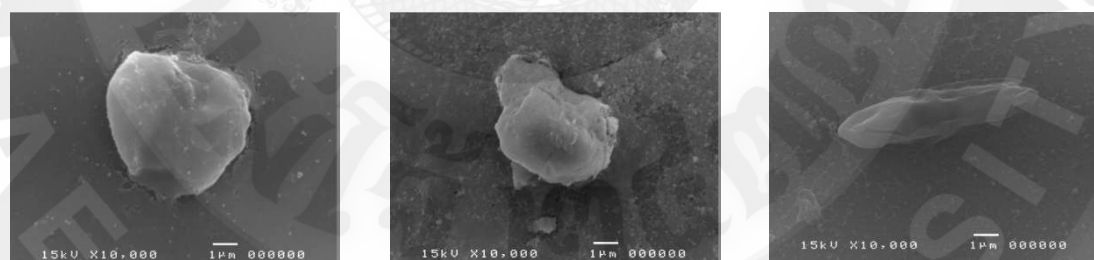


แช่นาน 24 ชั่วโมง

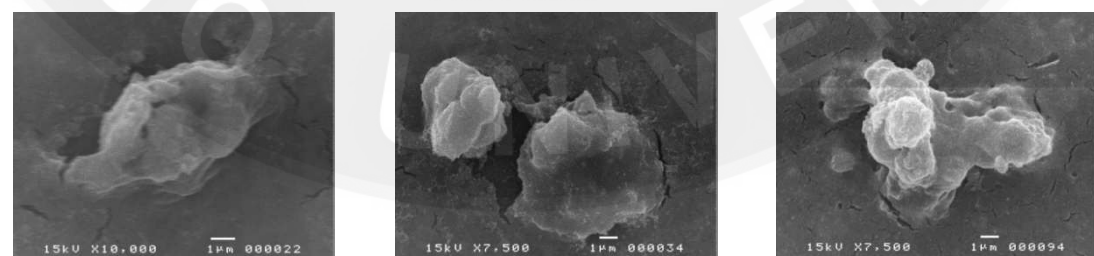


ภาพที่ 22 ลักษณะสัณฐานวิทยาของ *A. bisexualis* zoospores ที่แช่ด้วยสารสกัดมังคุด-เอทานอล นาน 4 และ 24 ชั่วโมง

แช่นาน 4 ชั่วโมง



แช่นาน 24 ชั่วโมง

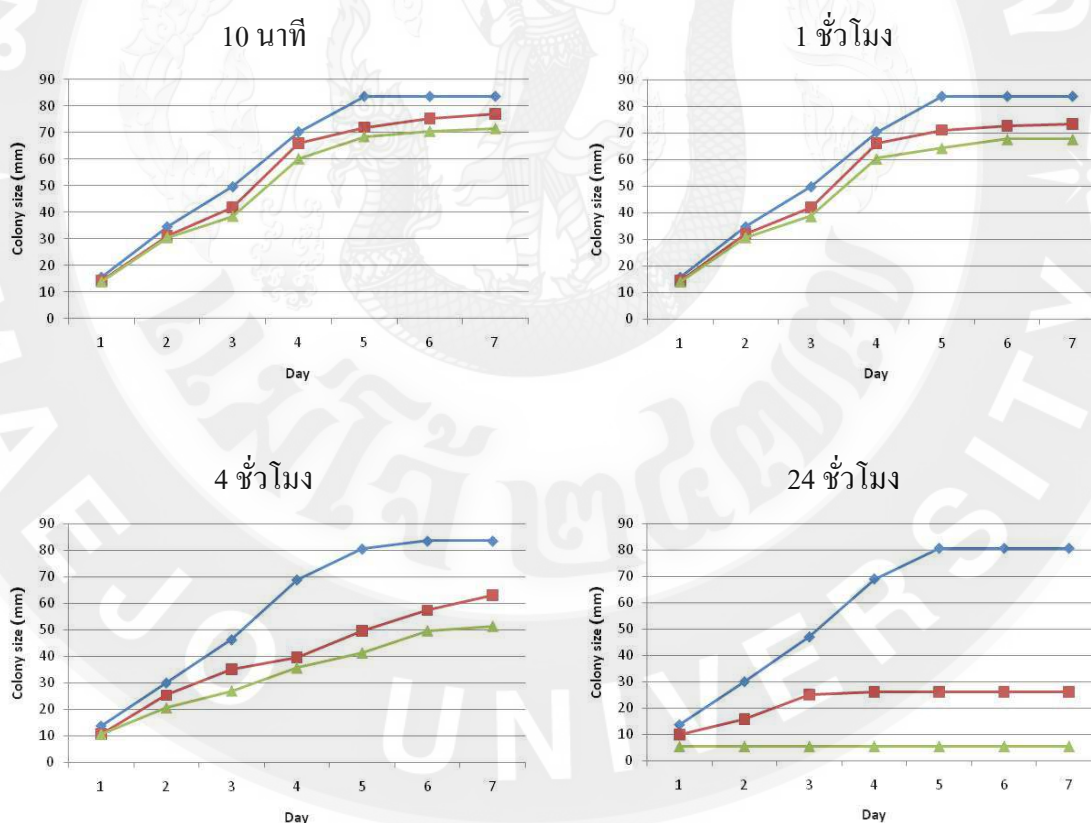


ภาพที่ 23 ลักษณะสัณฐานวิทยาของ *A. bisexualis* zoospores ที่แช่ด้วยสารสกัดมังคุด-เอทานอล-ดม นาน 4 และ 24 ชั่วโมง

2. สารสกัดสมุนไพรต่อเชื้อรา *Aphanomyces invadans*

2.1 ประสิทธิภาพของสารสกัดสมุนไพรในการยับยั้งซุสเปอร์ของเชื้อรา (fungistatic effect)

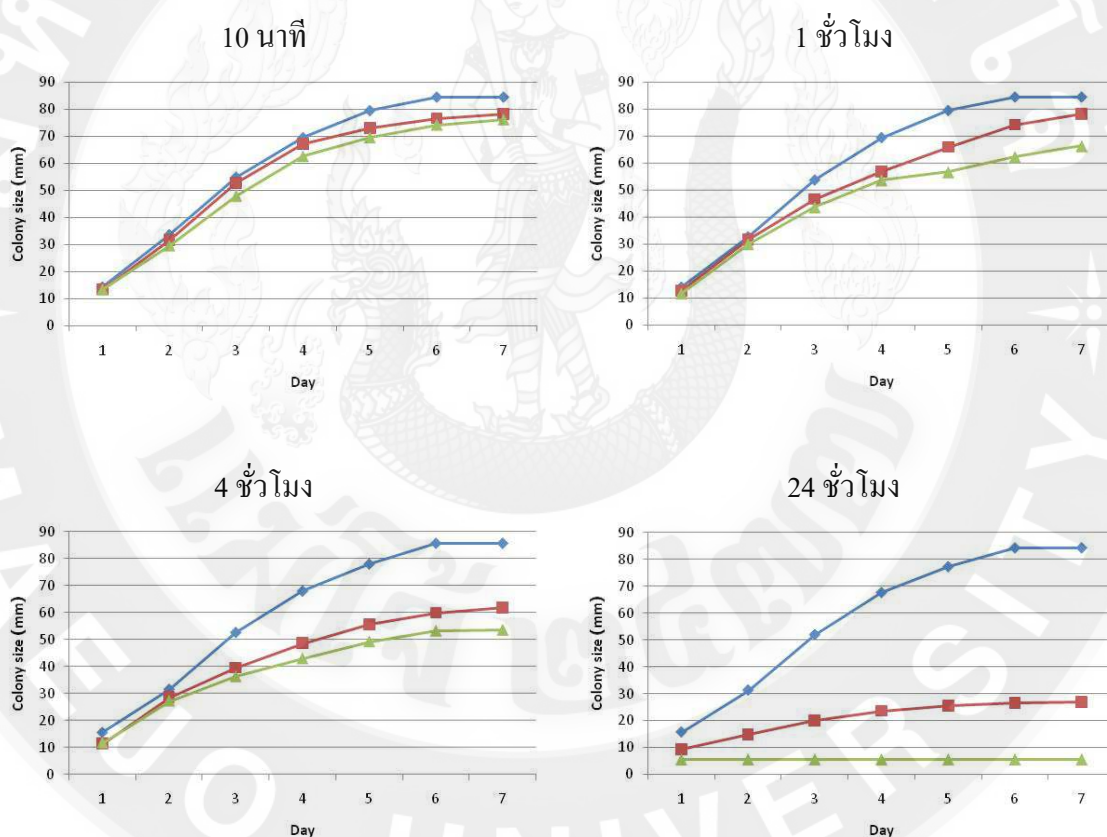
การศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดกระเทียม-น้ำ ต่อซุสเปอร์ของเชื้อรา *A. invadans* พบว่า ที่ความเข้มข้น 500 และ 1000 ppm แชนาน 10 นาที และ 1 ชั่วโมง เชื้อรามีการเจริญไม่แตกต่างกัน แต่ที่แชนาน 4 ชั่วโมง เชื้อราชะลอการเจริญเล็กน้อย อย่างไรก็ตามที่การแช่ทั้ง 3 เวลา ไม่มีแตกต่างกับกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) ส่วนกลุ่มที่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับกลุ่มควบคุม ($p<0.01$) ได้แก่ ที่ความเข้มข้น 500 ppm หลังเลี้ยง 4 วัน เชื้อราชะลอการเจริญเห็นได้ชัดและคงที่ ที่ความเข้มข้น 1,000 ppm แชนาน 24 ชั่วโมง ไม่มีการงอกของซุสเปอร์ ตลอด 7 วัน (ภาพที่ 24, ตารางที่ 4)



ภาพที่ 24 การเจริญของ *A. invadans* zoospores หลังแช่ด้วยสารสกัดกระเทียม-น้ำ ที่เวลาต่างๆ

— กลุ่มควบคุม — 500 ppm — 1,000 ppm

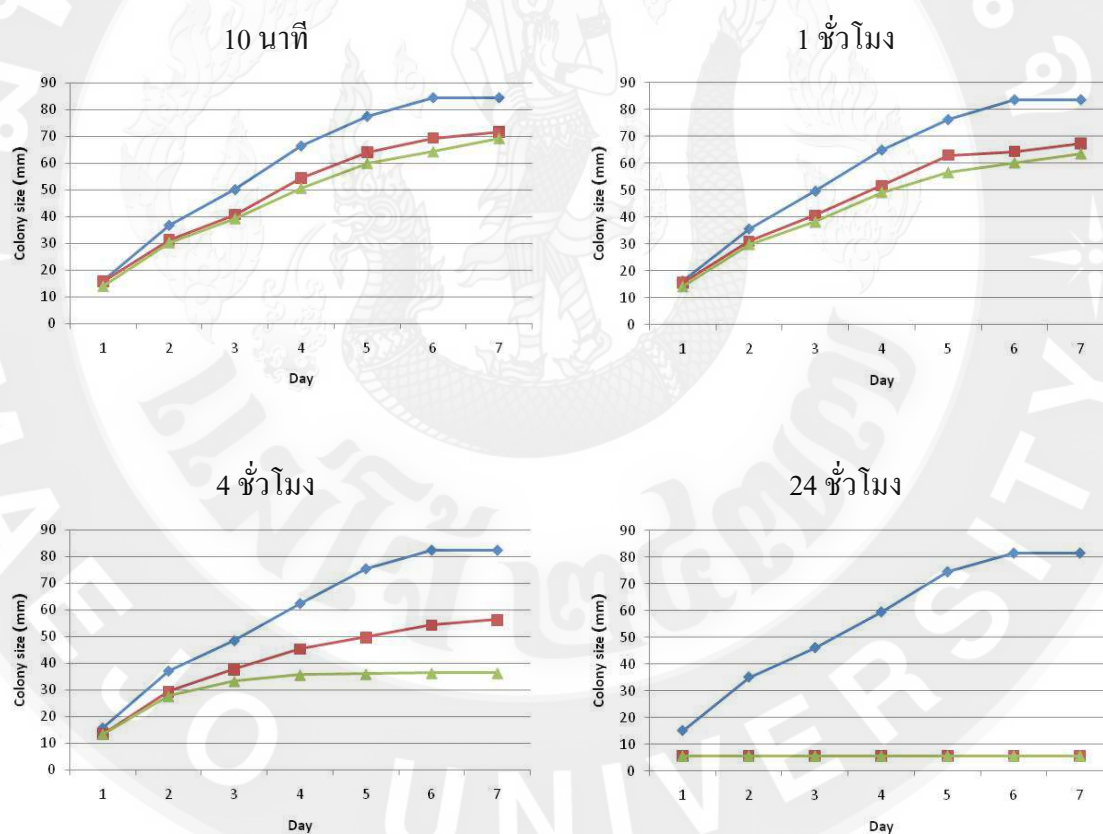
การศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดกระเทียม-น้ำ-ต้ม ต่อซุสพอร์ของเชื้อรา *A. invadans* พบว่า ที่ความเข้มข้น 500 และ 1,000 ppm แชนาน 10 นาที และ 1 ชั่วโมง เชื้อราเจริญไม่ค่อยแตกต่างกัน แต่ที่แชนาน 4 ชั่วโมง เชื้อราชะลอการเจริญ โดยเจริญช้ากว่ากลุ่มควบคุม อย่างไรก็ตามที่การแชนาน 3 เวลา ไม่มีความแตกต่างกับกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ส่วนกลุ่มที่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ได้แก่ ความเข้มข้น 500 ppm แชนาน 24 ชั่วโมง หลังเลี้ยง 4 วันเชื้อราชะลอการเจริญ และ 1,000 ppm แชนาน 24 ชั่วโมง ไม่มีการงอกของซุสพอร์ ตลอด 7 วัน ตามลำดับ (ภาพที่ 25, ตารางที่ 4)



ภาพที่ 25 การเจริญของ *A. invadans* zoospores หลังแช่ด้วยสารสกัดกระเทียม-น้ำ-ต้ม ที่เวลาต่างๆ

— กลุ่มควบคุม — 500 ppm — 1,000 ppm

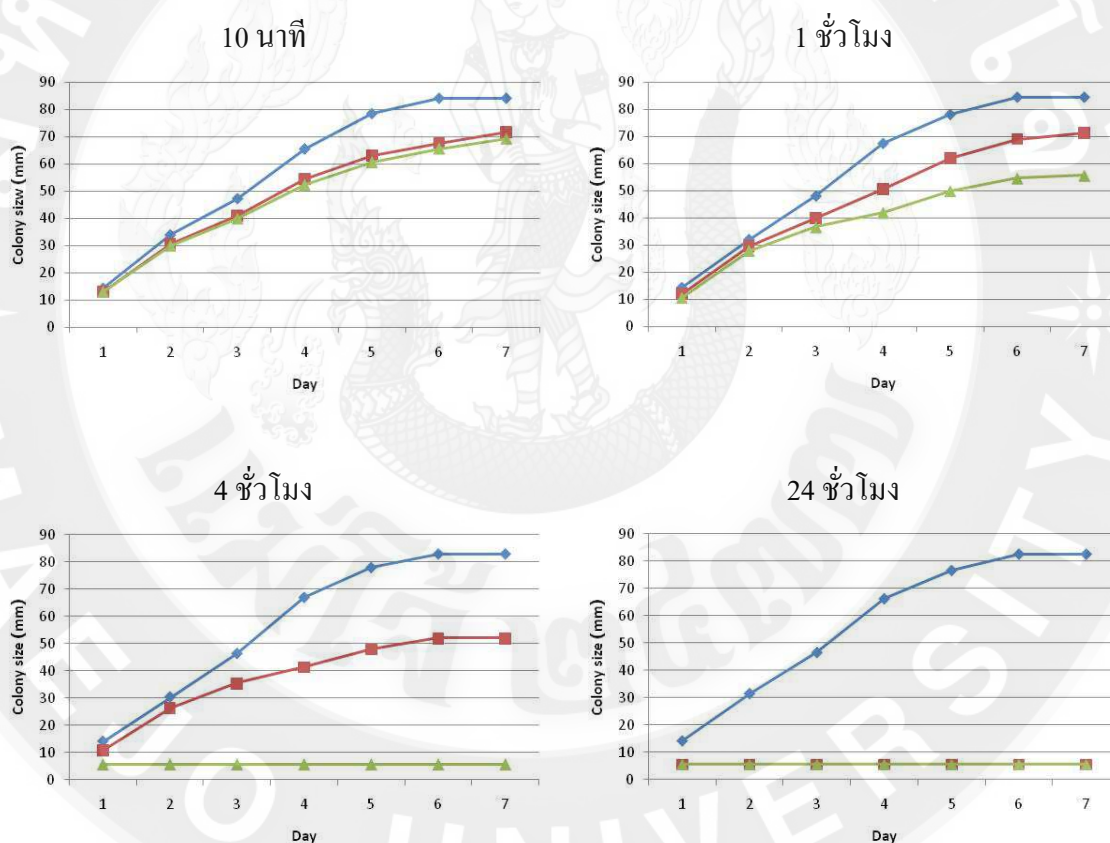
การศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดกระเทียม-เอทานอล ต่อซุสเปอร์ของเชื้อรา *A. invadans* พบว่า ที่ความเข้มข้น 500 และ 1,000 ppm แชนาน 10 นาที และ 1 ชั่วโมง เชื้อรามีการเจริญช้าลง แต่ที่ 500 ppm แชนาน 4 ชั่วโมง เชื้อราชะลอการเจริญอย่างเห็นได้ชัด โดยเจริญช้ากว่ากลุ่มควบคุม อย่างไรก็ตามการแช่ทั้ง 3 เวลา ไม่มีความแตกต่างกับกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) ส่วนกลุ่มที่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับกลุ่มควบคุม ($p < 0.05$) ได้แก่ ทั้ง 2 ความเข้มข้น แชนาน 4 ชั่วโมง เชื้อราชะลอการเจริญ และที่แชนาน 24 ชั่วโมง ไม่มีการงอกของซุสเปอร์ตลอด 7 วัน (ภาพที่ 26, ตารางที่ 4)



ภาพที่ 26 การเจริญของ *A. invadans* zoospores หลังแช่ด้วยสารสกัดกระเทียม-เอทานอล ที่เวลาต่างๆ

— กลุ่มควบคุม — 500 ppm — 1,000 ppm

การศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดกระเทียม-เอทานอล-ดัม ต่อซุสสปอร์ของเชื้อรา *A. invadans* พบว่า ที่ความเข้มข้น 500 และ 1,000 ppm แชนาน 10 นาที และ 1 ชั่วโมง เชื้อรามีการเจริญช้าลง แต่ที่ความเข้มข้น 500 ppm แชนาน 4 ชั่วโมง เชื้อราชะลอการเจริญอย่างเห็นได้ชัด โดยเจริญช้ากว่ากลุ่มควบคุม อย่างไรก็ตามที่การแช่ทั้ง 3 เวลา ไม่มีความแตกต่างอย่างกับกลุ่มควบคุมมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) ส่วนกลุ่มที่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับกลุ่มควบคุม ($p < 0.05$) ได้แก่ ความเข้มข้น 1,000 ppm แชนาน 4 ชั่วโมง และทั้ง 2 ความเข้มข้น แชนาน 24 ชั่วโมง ไม่มีการออกของซุสสปอร์ ตลอด 7 วัน (ภาพที่ 27, ตารางที่ 4)



ภาพที่ 27 การเจริญของ *A. invadans* zoospores หลังแช่ด้วยสารสกัดกระเทียม-เอทานอล-ดัม ที่เวลาต่างๆ

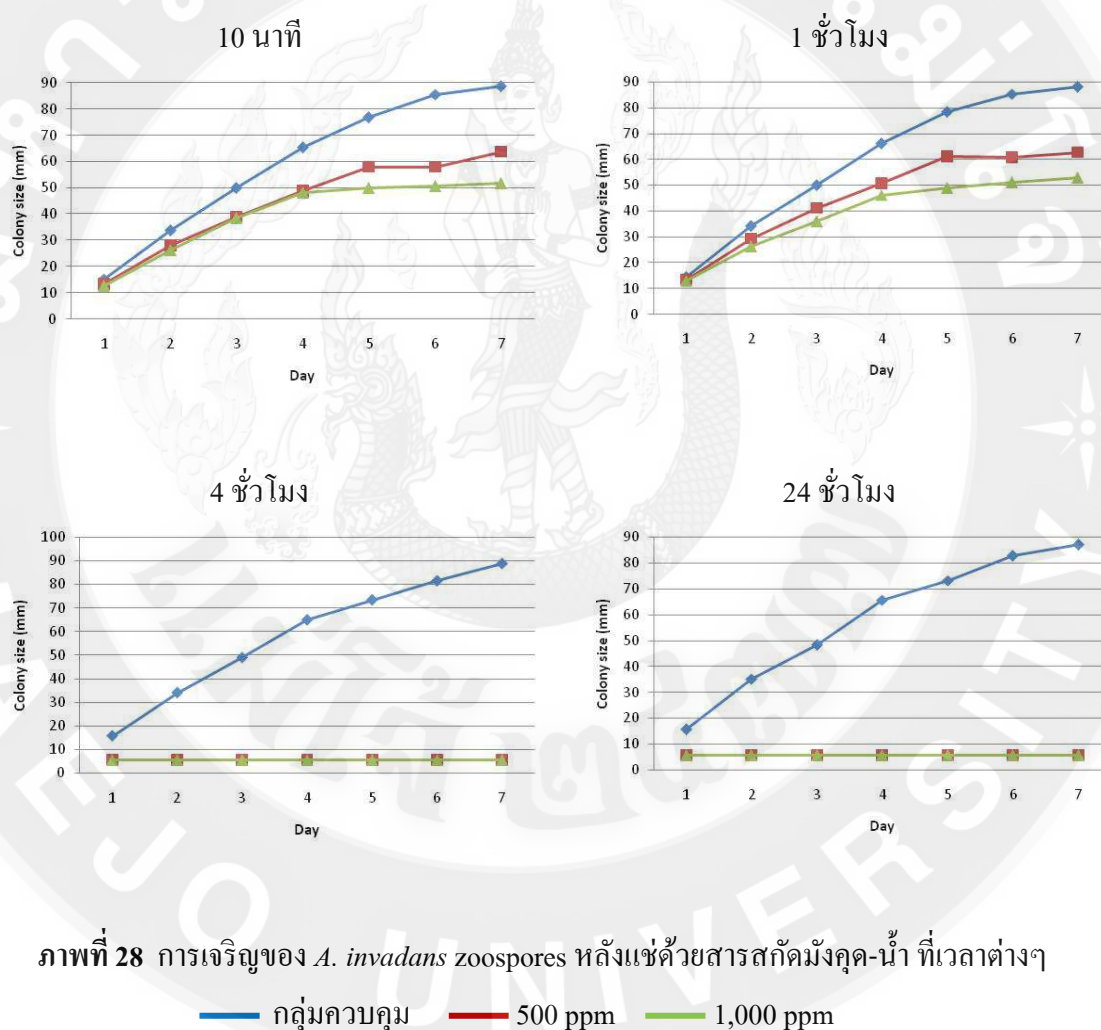
—กลุ่มควบคุม —500 ppm —1,000 ppm

ตารางที่ 4 ประสิทธิภาพของสารสกัดกระเทียมยับยั้งการเจริญของ *A. invadans* zoospores

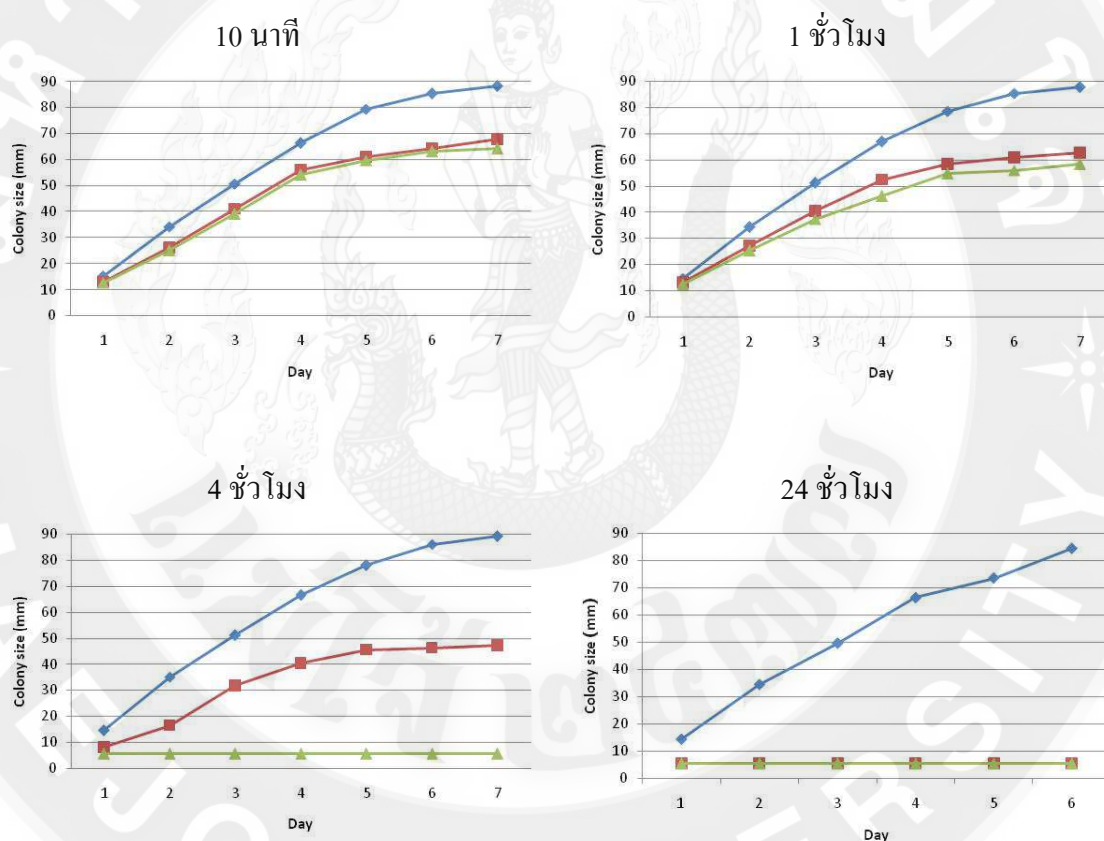
สารสกัด	เวลาแช่	ระดับความเข้มข้นสารสกัด (ppm)		
		0	500	1,000
กระเทียม-น้ำ	10 นาที	60.19±10.35 ^a	54.00±9.36 ^a	50.67±8.66 ^a
	1 ชม.	60.19±10.35 ^a	53.05±8.93 ^a	49.05±8.06 ^a
	4 ชม.	58.14±10.73 ^a	40.09±6.94 ^a	33.76±5.71 ^a
	24 ชม.	57.38±10.39 ^b	22.09±2.47 ^a	5.50±0.00 ^a
กระเทียม-น้ำ-ต้ม	10 นาที	60.23±10.35 ^a	56.14±9.47 ^a	53.43±9.14 ^a
	1 ชม.	59.66±10.40 ^a	52.38±9.00 ^a	46.33±7.39 ^a
	4 ชม.	59.62±10.38 ^a	43.71±7.00 ^a	39.24±5.84 ^a
	24 ชม.	58.95±10.22 ^b	21.05±2.54 ^a	5.50±0.00 ^a
กระเทียม-เอทานอล	10 นาที	59.28±9.88 ^a	49.58±7.98 ^a	46.85±7.57 ^a
	1 ชม.	58.61±9.76 ^a	47.66±7.34 ^a	44.66±6.81 ^a
	4 ชม.	57.62±9.55 ^b	40.48±5.58 ^{ab}	31.24±3.21 ^a
	24 ชม.	56.45±9.58 ^b	5.50±0.00 ^a	5.50±0.00 ^a
กระเทียม-เอทานอล-ต้ม	10 นาที	58.39±10.31 ^a	48.77±8.14 ^a	47.28±7.80 ^a
	1 ชม.	58.33±10.41 ^a	47.81±8.29 ^a	39.67±6.13 ^a
	4 ชม.	57.38±10.42 ^b	37.95±5.76 ^b	5.50±0.00 ^a
	24 ชม.	57.29±10.19 ^b	5.50±0.00 ^a	5.50±0.00 ^a

หมายเหตุ: อักษรด้วยภาษาอังกฤษแสดงถึงการวิเคราะห์หัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ในแนวนอน

การศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดมังคุด-น้ำ ต่อซุสเปอร์ของเชื้อรา *A. invadans* พบว่า ที่ความเข้มข้น 500 และ 1,000 ppm แช่นาน 10 นาที และ 1 ชั่วโมง หลังเลี้ยงวันที่ 4 เชื้อรามีการเจริญช้าลงและเริ่มชะลอการเจริญ แต่ไม่มีความแตกต่างกับกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) ส่วนกลุ่มที่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งกับกลุ่มควบคุม ($p<0.01$) ได้แก่ ทั้ง 2 ความเข้มข้น แช่นาน 4 และ 24 ชั่วโมง พบว่าไม่มีการงอกของซุสเปอร์ตลอด 7 วัน (ภาพที่ 28, ตารางที่ 5)



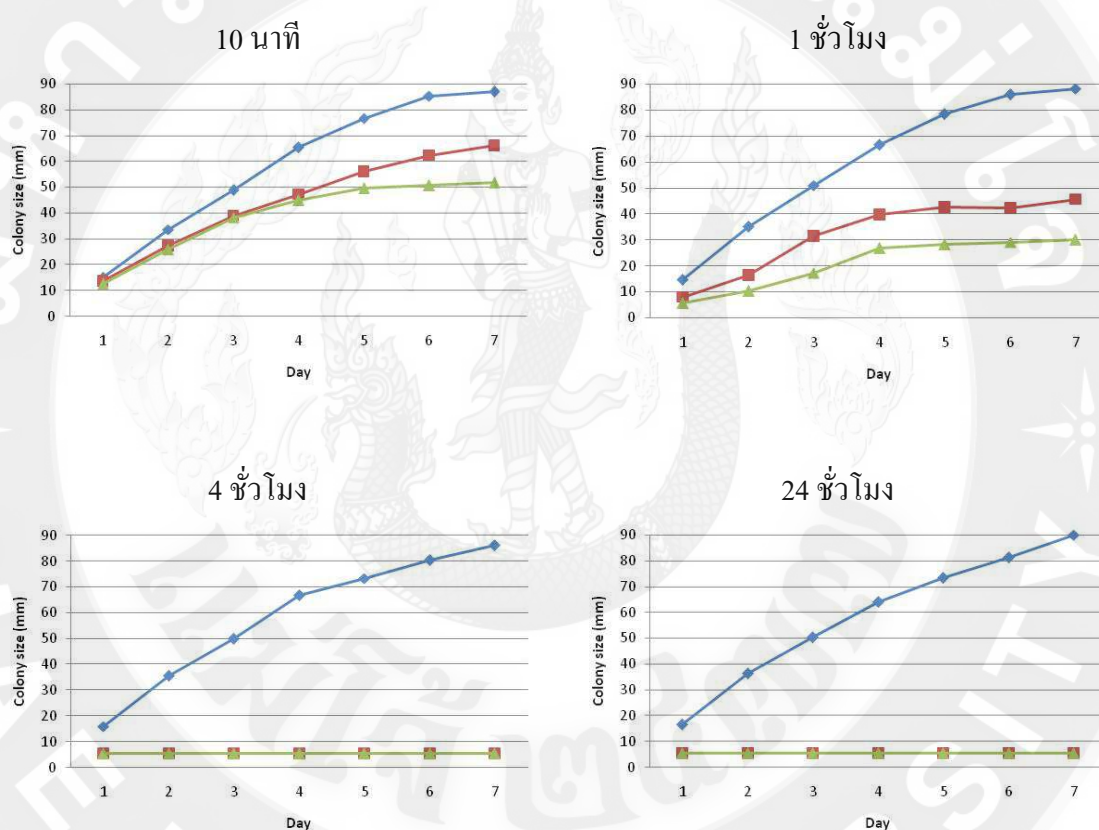
การศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดมังคุด-น้ำ-ต้ม ต่อ ซูสปอร์ เชื้อรา *A. invadans* พบว่า ที่ความเข้มข้น 500 และ 1,000 ppm แช่นาน 10 นาที และ 1 ชั่วโมง เชื้อราเกิดการเจริญช้าลง แต่ไม่มีความแตกต่างกับกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) ส่วนกลุ่มที่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับกลุ่มควบคุม ($p<0.01$) ได้แก่ ที่ความเข้มข้น 500 แช่นาน 4 ชั่วโมง เชื้อราชะลอการเจริญ และเจริญคงที่หลังเลี้ยง 5 วัน ความเข้มข้น 1,000 ppm แช่นาน 4 ชั่วโมง และทั้ง 2 ความเข้มข้น แช่นาน 24 ชั่วโมง ไม่มีการงอกของ ซูสปอร์ ตลอด 7 วัน (ภาพที่ 29, ตารางที่ 5)



ภาพที่ 29 การเจริญของ *A. invadans* zoospores หลังแช่ด้วยสารสกัดมังคุด-น้ำ-ต้ม ที่เวลาต่างๆ

— กลุ่มควบคุม — 500 ppm — 1,000 ppm

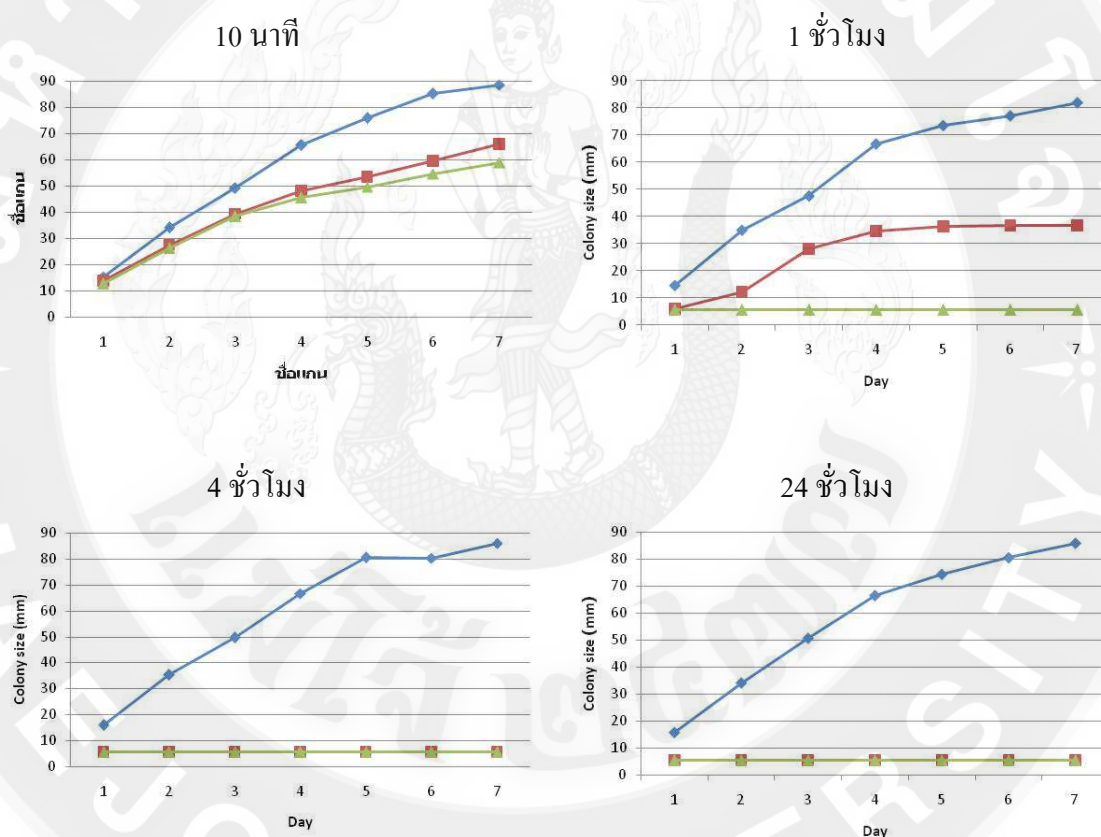
การศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดมังคุด-เอทานอล ต่อ ซูสปอร์ เชื้อรา *A. invadans* พบว่า ที่ความเข้มข้น 500 และ 1,000 ppm แชนาน 10 นาที เชื้อรามีการเจริญช้าลงแต่ไม่แตกต่างกับกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) ส่วนกลุ่มที่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับกลุ่มควบคุม ($p<0.01$) ได้แก่ ทั้ง 2 ความเข้มข้น แชนาน 1 ชั่วโมง เชื้อราชะลอการเจริญอย่างเห็นได้ชัด และที่แชนาน 4 และ 24 ชั่วโมง ไม่มีการงอกของ ซูสปอร์ ตลอด 7 วัน (ภาพที่ 30, ตารางที่ 5)



ภาพที่ 30 การเจริญของ *A. invadans* zoospores หลังแช่ด้วยสารสกัดมังคุด-เอทานอล ที่เวลาต่างๆ

— กลุ่มควบคุม — 500 ppm — 1,000 ppm

การศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดมังคุด-เอทานอล-ต้ม ต่อซุสพอร์ของเชื้อรา *A. invadans* พบว่า ที่ความเข้มข้น 500 และ 1,000 ppm แชนาน 10 นาที เชื้อรามีการเจริญช้าลง แต่ไม่แตกต่างกับกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) ส่วนกลุ่มที่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับกลุ่มควบคุม ($p<0.01$) ได้แก่ ที่ความเข้มข้น 500 ppm แชนาน 1 ชั่วโมง เชื้อราชะลอการเจริญ โดยเจริญช้ากว่ากลุ่มควบคุม ความเข้มข้น 1,000 ppm แชนาน 1 ชั่วโมง และทั้ง 2 ความเข้มข้น แชนาน 24 ชั่วโมง ไม่มีการงอกของ ซุสพอร์ ตลอด 7 วัน (ภาพที่ 31, ตารางที่ 5)



ภาพที่ 31 การเจริญของ *A. invadans* zoospores หลังแช่ด้วยสารสกัดมังคุด-เอทานอล-ต้ม ที่เวลาต่างๆ

— กลุ่มควบคุม — 500 ppm — 1,000 ppm

ตารางที่ 5 ประสิทธิภาพของสารสกัดมังคุดยับยั้งการเจริญของ *A. invadans* zoospores

สารสกัด	เวลาแช่	ระดับความเข้มข้นสารสกัด (ppm)		
		0	500	1,000
มังคุด-น้ำ	10 นาที	59.32±10.43 ^a	44.10±6.92 ^a	39.67±5.68 ^a
	1 ชม.	59.48±10.50 ^a	45.62±7.06 ^a	39.17±5.63 ^a
	4 ชม.	58.11±10.03 ^b	5.50±0.00 ^a	5.50±0.00 ^a
	24 ชม.	58.26±9.95 ^b	5.50±0.00 ^a	5.50±0.00 ^a
มังคุด-น้ำ-ต้ม	10 นาที	58.86±10.49 ^a	47.01±7.92 ^a	45.39±7.66 ^a
	1 ชม.	59.81±10.46 ^a	44.91±7.14 ^a	41.44±6.59 ^a
	4 ชม.	60.08±10.53 ^c	33.67±5.95 ^b	5.50±0.00 ^a
	24 ชม.	57.76±9.84 ^b	5.50±0.01 ^a	5.50±0.00 ^a
มังคุด-เอทานอล	10 นาที	58.9±10.32 ^a	44.52±7.23 ^a	39.14±5.58 ^a
	1 ชม.	60.01±10.50 ^b	32.33±5.53 ^a	21.06±3.76 ^a
	4 ชม.	58.24±9.70 ^b	5.50±0.00 ^a	5.50±0.00 ^a
	24 ชม.	58.83±9.83 ^b	5.50±0.00 ^a	5.50±0.00 ^a
มังคุด-เอทานอล-ต้ม	10 นาที	59.19±10.38 ^a	49.31±6.95 ^a	43.89±6.23 ^a
	1 ชม.	56.57±9.45 ^b	27.06±4.86 ^a	5.50±0.00 ^a
	4 ชม.	59.21±9.10 ^b	5.50±0.00 ^a	5.50±0.00 ^a
	24 ชม.	58.10±9.80 ^b	5.50±0.00 ^a	5.50±0.00 ^a

หมายเหตุ : อักษรด้วยภาษาอังกฤษแสดงถึงการวิเคราะห์นัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ในแนวนอน

2.2 สารสกัดสมุนไพรต่อลักษณะสัณฐานวิทยาของ *Aphanomyces invadans* zoospores

ศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของ *A. invadans* zoospores ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM) พบว่า ซูสปอร์ กลุ่มควบคุม มีลักษณะรูปร่างปกติไม่เหี่ยวและมีการพัฒนาเป็นเส้นใย และพบระยะต่างๆของการพัฒนาเป็นเส้นใย ดังนี้ ระยะ primary zoospore มีรูปร่างเป็นแบบ pear-shape (ภาพ 26; A) พื้นผิว ซูสปอร์ มีลักษณะผิวเรียบ ระยะ secondary zoospore มีรูปร่างเป็นแบบ bean-shape (ภาพ 26; B) ลักษณะพื้นผิวขรุขระนูนสูงเห็น จากนั้น ซูสปอร์ พัฒนาเป็นเส้นใยหรือเรียกว่า germ tube (ภาพ 26; C) และพัฒนาเรื่อยๆจนถึงระยะที่มีลักษณะรูปร่างคล้าย dumbbell เรียกว่า dumbbell-shape (ภาพ 26; D)

ส่วนลักษณะสัณฐานวิทยาของ ซูสปอร์ ที่แช่ในสารสกัดกระเทียมชนิดต่างๆ มีผลดังนี้ ซูสปอร์ แช่ด้วยสารสกัดกระเทียม-น้ำ และ เอทานอล 95% ที่ความเข้มข้น 1,000 ppm แช่ นาน 4 และ 24 ชั่วโมง พบว่า

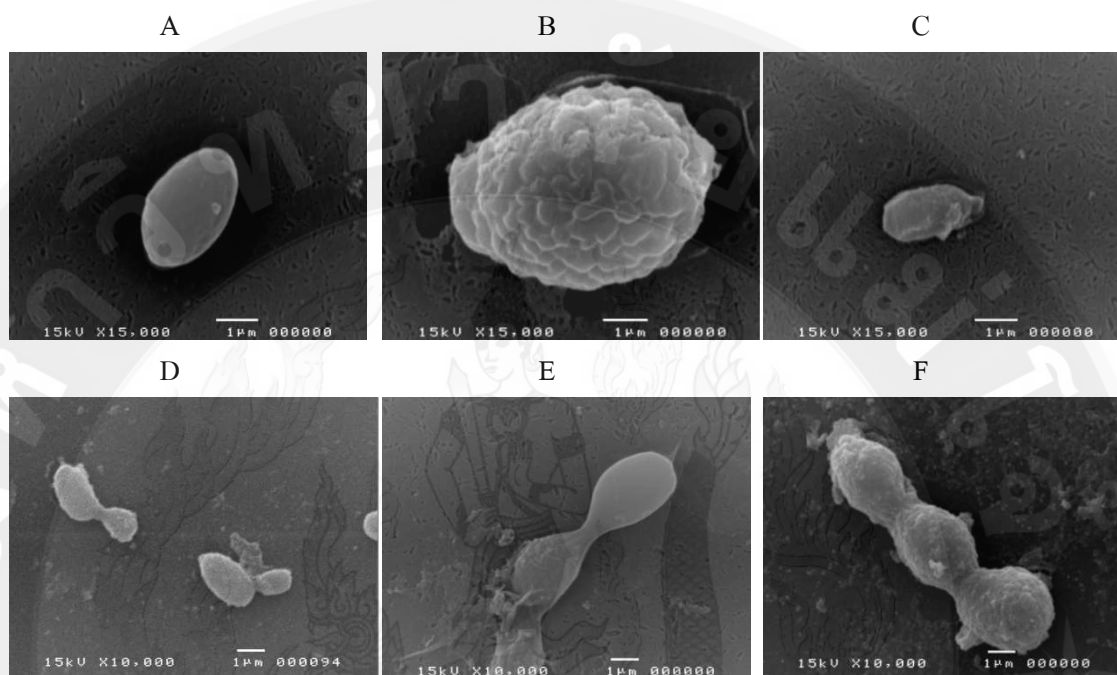
ลักษณะสัณฐานวิทยาของ ซูสปอร์ แช่กระเทียม-น้ำ มีรูปร่างบิดเบี้ยวเหี่ยว และฉีกขาด (ภาพ 27-28) และ dumbbell-shaped มีรูปร่างบิดเบี้ยวและเหี่ยวเช่นกัน (ภาพ 27; F)

ลักษณะสัณฐานวิทยาของ ซูสปอร์ แช่ กระเทียม-น้ำ-ดัม มีรูปร่างบิดเบี้ยว เหี่ยว และฉีกขาด (ภาพ 29-30)

ลักษณะสัณฐานวิทยาของ ซูสปอร์ แช่กระเทียม-เอทานอล รูปร่างบิดเบี้ยว เหี่ยว และฉีกขาด (ภาพ 31-32) รวมทั้งระยะ germ tube (ภาพ 32; E) และ dumbbell-shape (ภาพ 32; F) รูปร่างบิดเบี้ยวและเหี่ยวเช่นกัน

ลักษณะสัณฐานวิทยาของ ซูสปอร์ แช่กระเทียม-เอทานอล-ดัม รูปร่างบิดเบี้ยว เหี่ยว และฉีกขาด (ภาพ 33-34) และระยะ germ tube (ภาพ 33; F) รูปร่างบิดเบี้ยวและเหี่ยวเช่นกัน

จะเห็นได้ว่า สารสกัดกระเทียมมีความรุนแรงของต่อโครงสร้างของ ซูสปอร์ พบว่า ซูสปอร์ แช่ทุกสารสกัดหุ้มเห็ดเทศที่ความเข้มข้น 1,000 ppm แช่ 4 ชั่วโมงลักษณะ ซูสปอร์ มีลักษณะเหี่ยว รูปร่างบิดเบี้ยว.และแช่นาน 24 ชั่วโมง ซูสปอร์ มีลักษณะเหี่ยวมากกว่าแช่นาน 4 ชั่วโมง



ภาพที่ 32 ลักษณะสัณฐานวิทยาของ *A. invadans* zoospore ปกติ

A : ระยะ primary zoospore

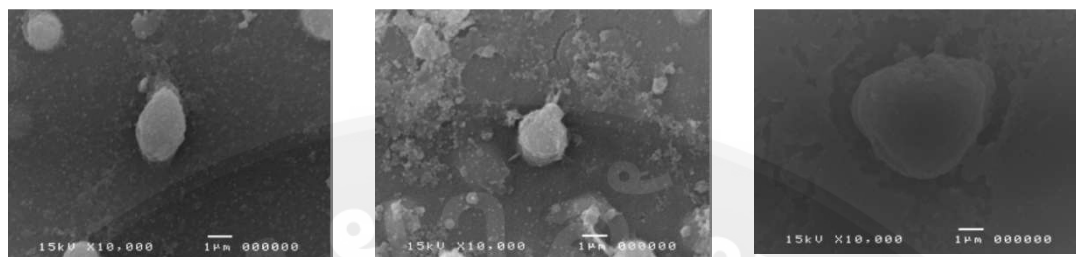
B : ระยะ secondary zoospore

C : ระยะ germ tube (กำลังออกเป็นเส้นใย)

D,E : dumbbell-shaped

F : ระยะพัฒนาเป็นเส้นใย

แช่นาน 4 ชั่วโมง

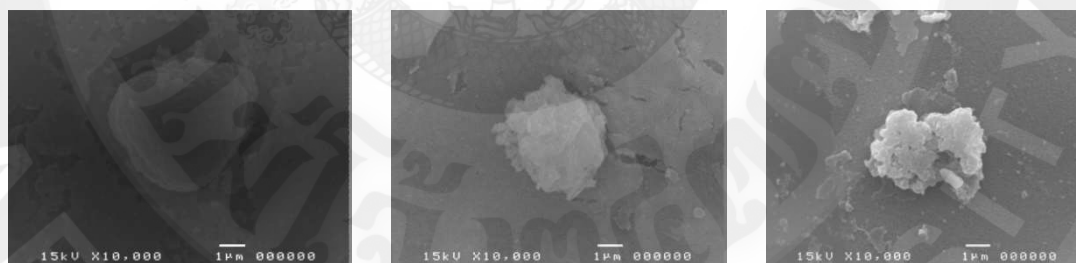


แช่นาน 24 ชั่วโมง

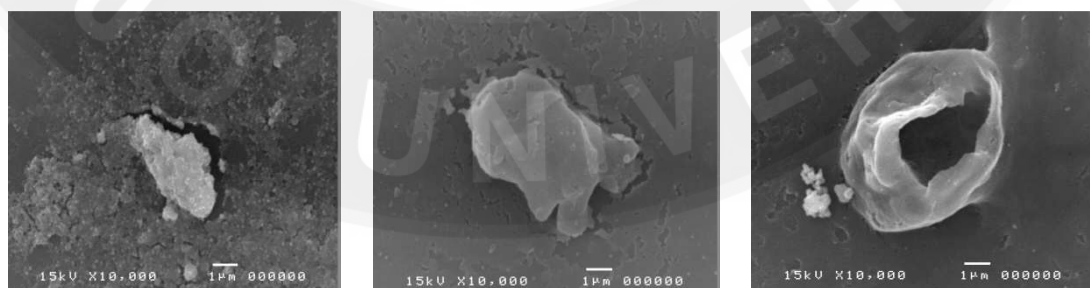


ภาพที่ 33 ลักษณะสัณฐานวิทยาของ *A. invadans* zoospores ที่แช่ด้วยสารสกัดกระเทียม-น้ำ นาน 4 และ 24 ชั่วโมง

แช่นาน 4 ชั่วโมง

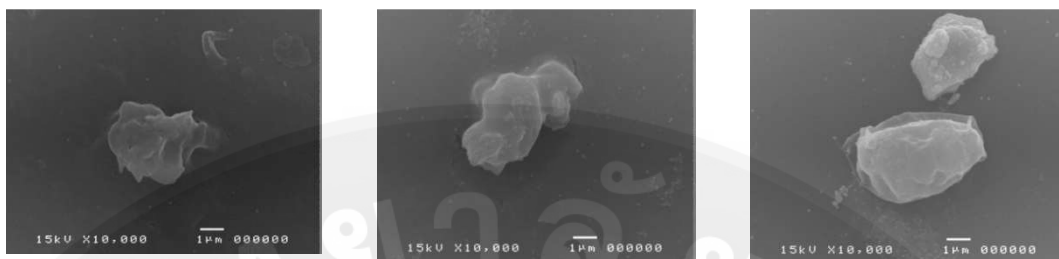


แช่นาน 24 ชั่วโมง

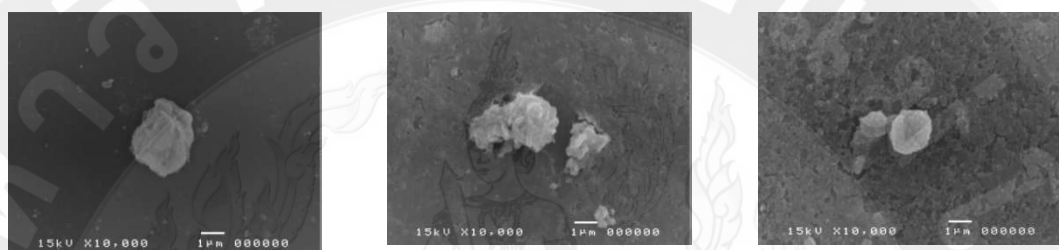


ภาพที่ 34 ลักษณะสัณฐานวิทยาของ *A. invadans* zoospores ที่แช่ด้วยสารสกัดกระเทียม-น้ำ-ต้ม นาน 4 และ 24 ชั่วโมง

แช่นาน 4 ชั่วโมง

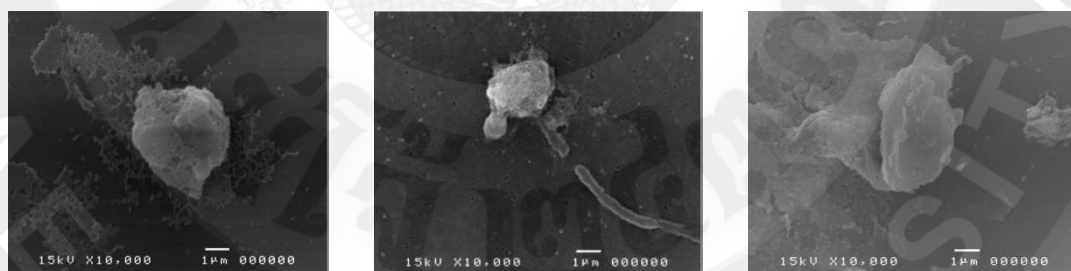


แช่นาน 24 ชั่วโมง

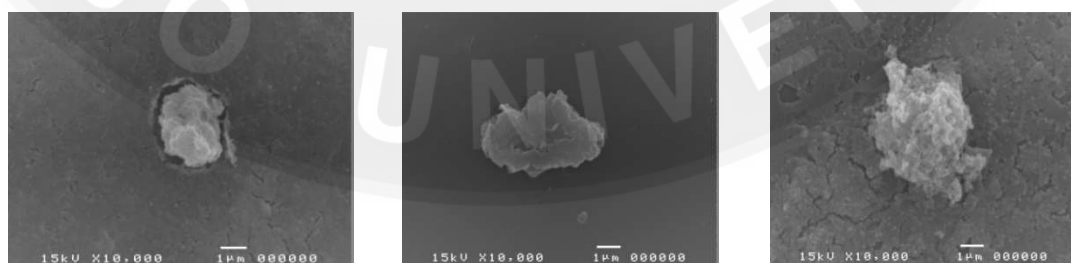


ภาพ 35 ลักษณะสัณฐานวิทยาของ *A. invadans* zoospores ที่แช่ด้วยสารสกัดกระเทียม-เอทานอล นาน 24 ชั่วโมง

แช่นาน 4 ชั่วโมง



แช่นาน 24 ชั่วโมง



ภาพที่ 36 ลักษณะสัณฐานวิทยาของ *A. invadans* zoospores ที่แช่ด้วยสารสกัดกระเทียม-เอทานอล-ต้ม นาน 4 และ 24 ชั่วโมง

จากการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยา ซูสปอร์ เชื้อรา *A. invadans* แซ่สารสกัดมังกุด
ด้วยน้ำและเอทานอล ที่ความเข้มข้น 1,000 ppm แช่นาน 4 และ 24 ชั่วโมง พบว่า

ลักษณะสัณฐานวิทยาของ ซูสปอร์ แซ่มังกุด-น้ำ มีรูปร่างบิดเบี้ยว เหนียว และนิกขาด
(ภาพ 75-76) dumbbell-shape (ภาพ 75; E F) มีรูปร่างบิดเบี้ยวและเหนียว เช่นกัน

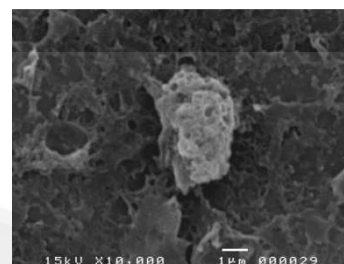
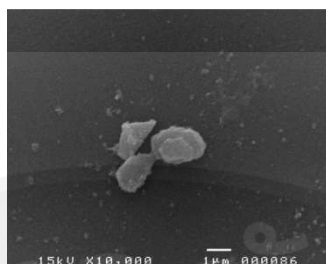
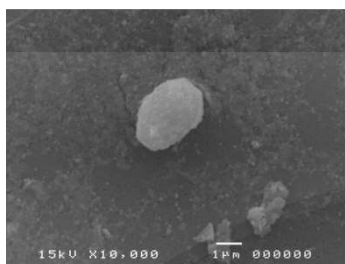
ลักษณะสัณฐานวิทยาของ ซูสปอร์ แซ่มังกุด-น้ำ-ต้ม มีรูปร่างบิดเบี้ยว เชลล์เหนียว
และนิกขาด (ภาพ 77-78)

ลักษณะสัณฐานวิทยาของ ซูสปอร์ แซ่มังกุด-เอทานอล มีรูปร่างบิดเบี้ยว เหนียว และ
นิกขาด (ภาพ 79-80)) dumbbell-shape (ภาพ 79; F) และ germ tube (ภาพ 79; B C และ D) มี
รูปร่างบิดเบี้ยวและเหนียว เช่นกัน

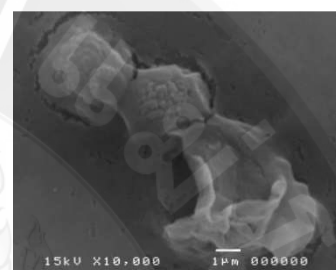
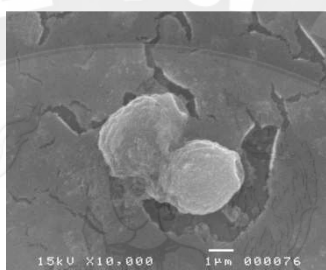
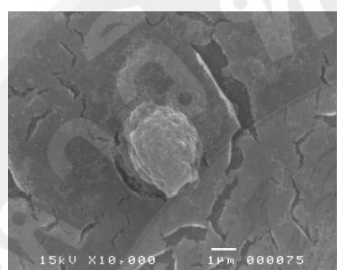
ลักษณะสัณฐานวิทยาของ ซูสปอร์ แซ่มังกุด-เอทานอล-ต้ม มีรูปร่างบิดเบี้ยว และนิก
ขาด (ภาพ 81-82)

จะเห็นได้ว่าความรุนแรงของสารสกัดมังกุดต่อโครงสร้างของ ซูสปอร์ พบว่า ซู
สปอร์ แซ่ทุกสารสกัดหุ้มเห็ดเทศที่ความเข้มข้น 1,000 ppm แช่นาน 4 ชั่วโมงลักษณะ ซูสปอร์ มี
ลักษณะเหนียว รูปร่างบิดเบี้ยว และแช่นาน 24 ชั่วโมง ซูสปอร์ มีลักษณะเหนียวมากกว่า แช่นาน 4
ชั่วโมง

แช่นาน 4 ชั่วโมง

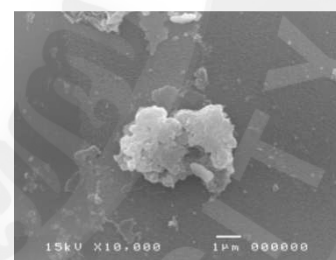
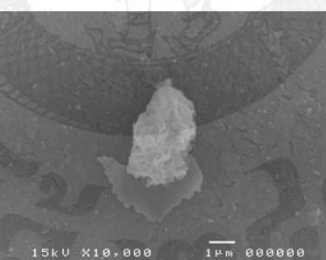
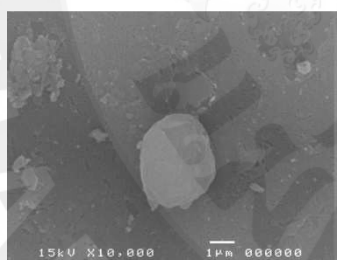


แช่นาน 24 ชั่วโมง

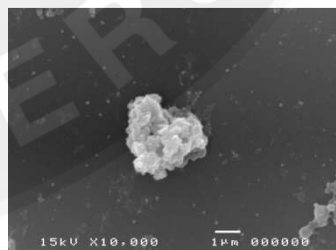
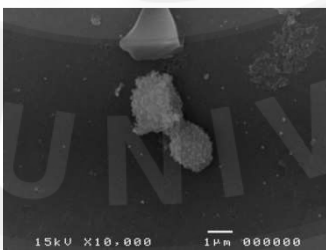
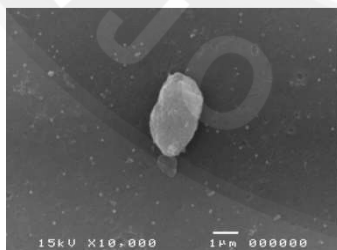


ภาพที่ 37 ลักษณะสัณฐานวิทยาของ *A. invadans* zoospores ที่แช่ด้วยสารสกัดมังคุด-น้ำ นาน 4 และ 24 ชั่วโมง

แช่นาน 4 ชั่วโมง

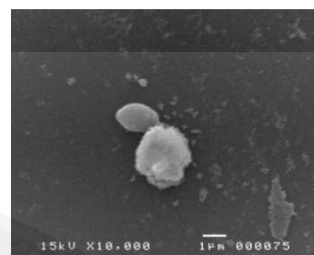
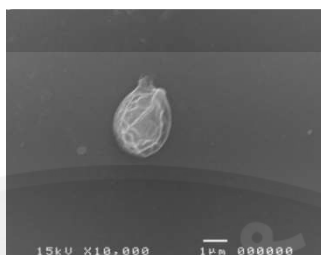
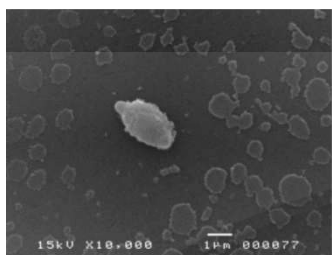


แช่นาน 24 ชั่วโมง

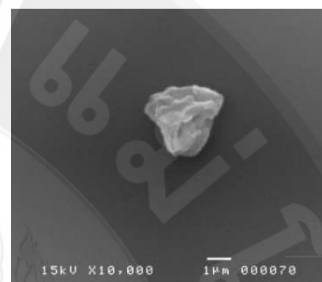
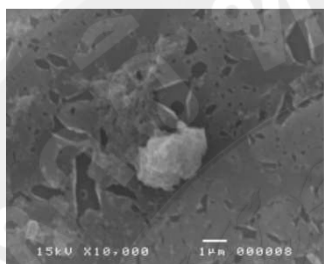


ภาพที่ 38 ลักษณะสัณฐานวิทยาของ *A. invadans* zoospores ที่แช่ด้วยสารสกัดมังคุด-น้ำ-ต้ม นาน 4 และ 24 ชั่วโมง

แช่นาน 4 ชั่วโมง

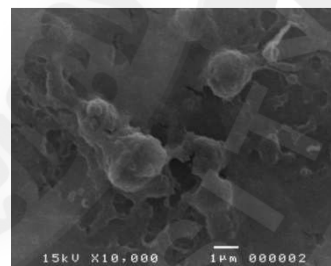
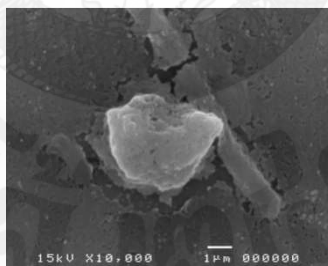
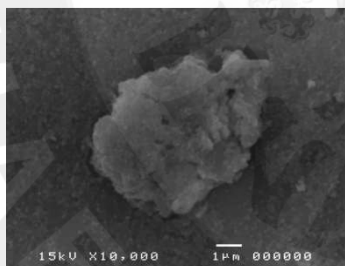


แช่นาน 24 ชั่วโมง

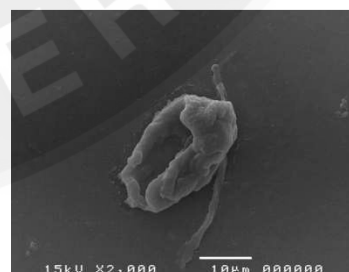
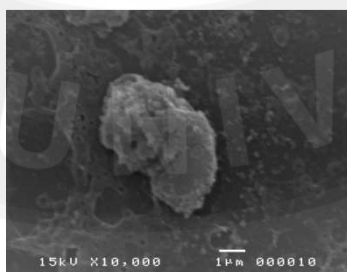
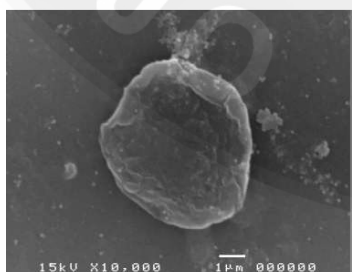


ภาพที่ 39 ลักษณะสัณฐานวิทยาของ *A. invadans* zoospores ที่แช่ด้วยสารสกัดมังคุด-เอทานอล นาน 4 และ 24 ชั่วโมง

แช่นาน 4 ชั่วโมง



แช่นาน 24 ชั่วโมง



ภาพที่ 40 ลักษณะสัณฐานวิทยาของ *A. invadans* zoospores ที่แช่ด้วยสารสกัดมังคุด-เอทานอล-ดม นาน 4 และ 24 ชั่วโมง

3. ความเป็นพิษของสารสกัดสมุนไพร

เลือกสารสกัดสมุนไพรที่ได้ฤทธิ์ยับยั้งเชื้อราในสัตว์น้ำได้ดี ทั้งระยะไมซีเลียมและระยะสปอร์ มาทำการทดสอบความเป็นพิษต่อไข่ปลาที่เกาะจากปากแม่ปลา และลูกปลานิลที่เพาะฟักได้อายุ 1 และ 7 วัน โดยการแช่ในสารสกัดสมุนไพรความเข้มข้น 125, 250, 500 และ 1000 ppm สังเกตอัตราการตาย เป็นเวลา 96 ชั่วโมง นำมาคำนวณหาความเข้มข้นที่ทำให้ไข่ปลาหรือลูกปลาตาย 50 % (LC50 96h) การวิจัยของสารสกัดสมุนไพรต่าง ได้ผลดังตารางที่ 6 และภาพที่ 41 – 43 ดังนี้

สารสกัดกระเทียมมีความเป็นพิษต่อสูงตามลำดับ ดังนี้ ไข่ปลา ลูกปลาอายุ 1 วัน และอายุ 7 วัน และสารสกัดกระเทียม-เอทานอล มีความเป็นพิษมากกว่าสารสกัดกระเทียม-น้ำ

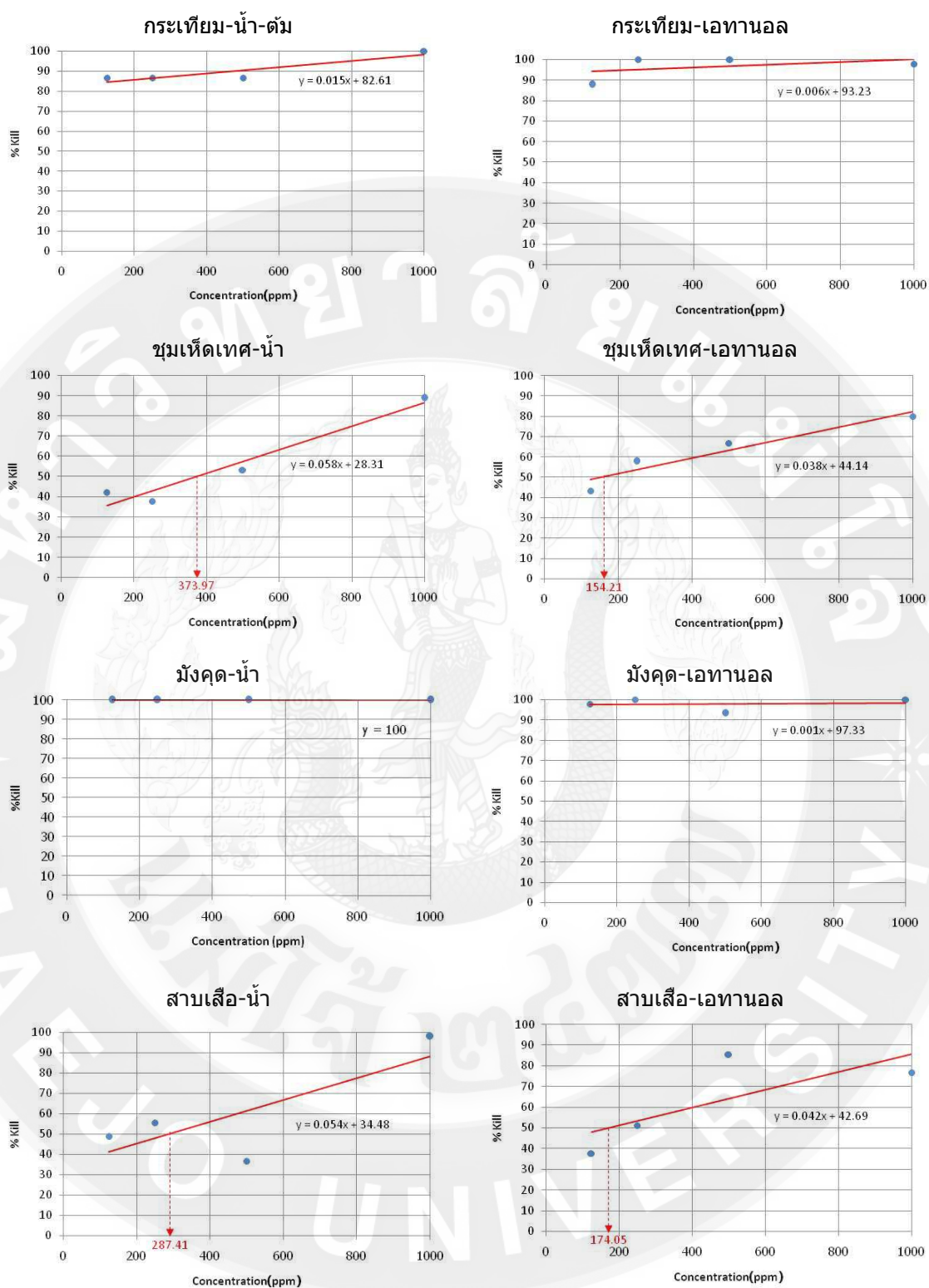
สารสกัดชุมเห็ดเทศมีความเป็นพิษต่อสูงตามลำดับ ดังนี้ ลูกปลาอายุ 1 วัน ไข่ปลา และลูกปลาอายุ 7 วัน และสารสกัดชุมเห็ดเทศ-เอทานอล มีความเป็นพิษมากกว่าสารสกัดชุมเห็ดเทศ-น้ำ

สารสกัดมังคุดทั้งด้วยน้ำและเอทานอล ทำให้ไข่ปลาและลูกปลาตายหมดตั้งแต่ 24-48 ชั่วโมงแรก ดังนั้นสารสกัดมังคุดจึงมีความเป็นพิษต่อไข่ปลาและปลาวัยอ่อนสูงมาก

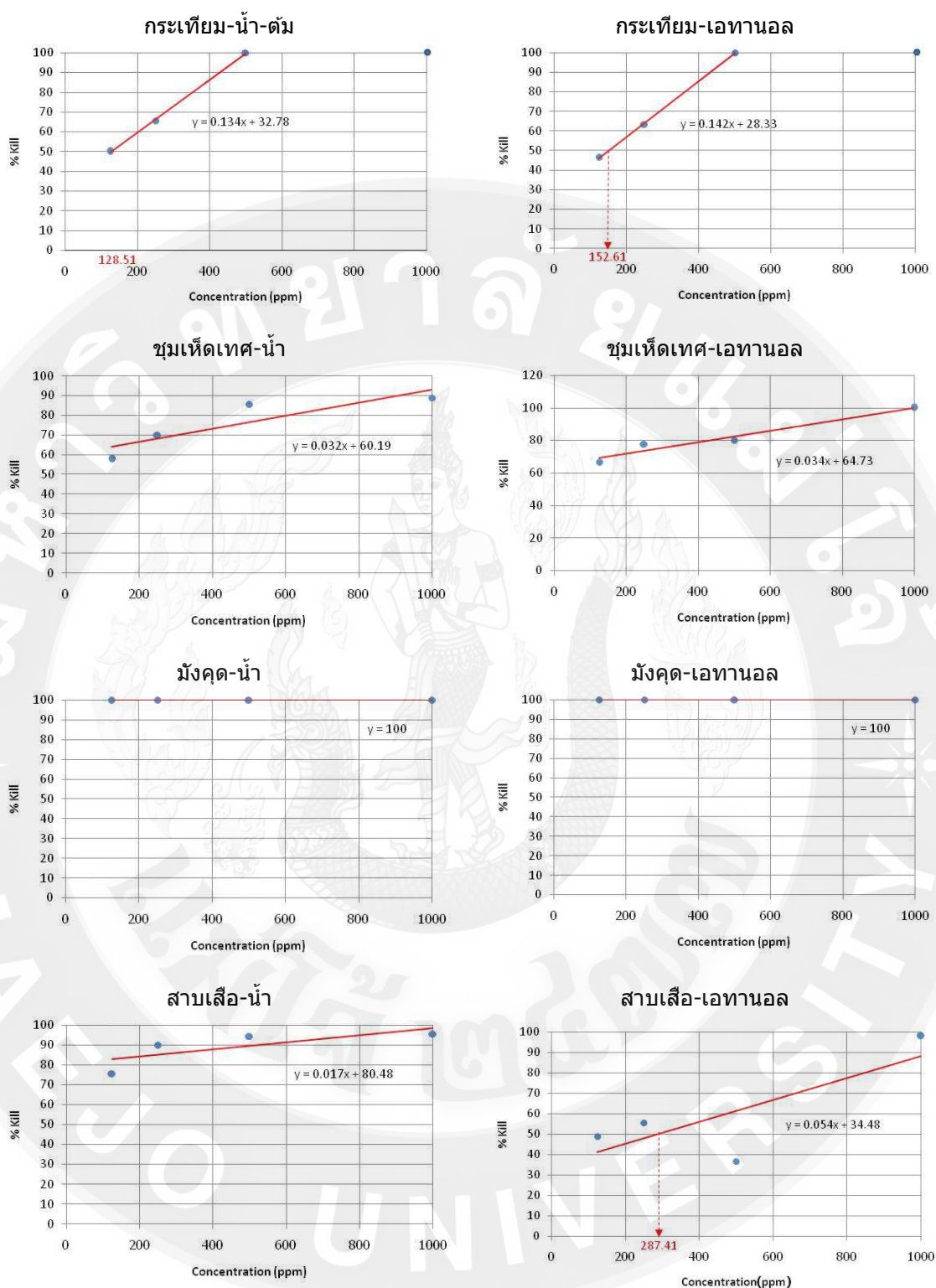
สารสกัดสาบเสือมีความเป็นพิษต่อสูงตามลำดับ ดังนี้ ลูกปลาอายุ 1 วัน ไข่ปลา และลูกปลาอายุ 7 วัน และสารสกัดสาบเสือ-น้ำ มีความเป็นพิษมากกว่าสารสกัดสาบเสือ-เอทานอล เล็กน้อย

ตารางที่ 6 ความเป็นพิษของสารสกัดสมุนไพรไทยต่อไข่และลูกปลานิล

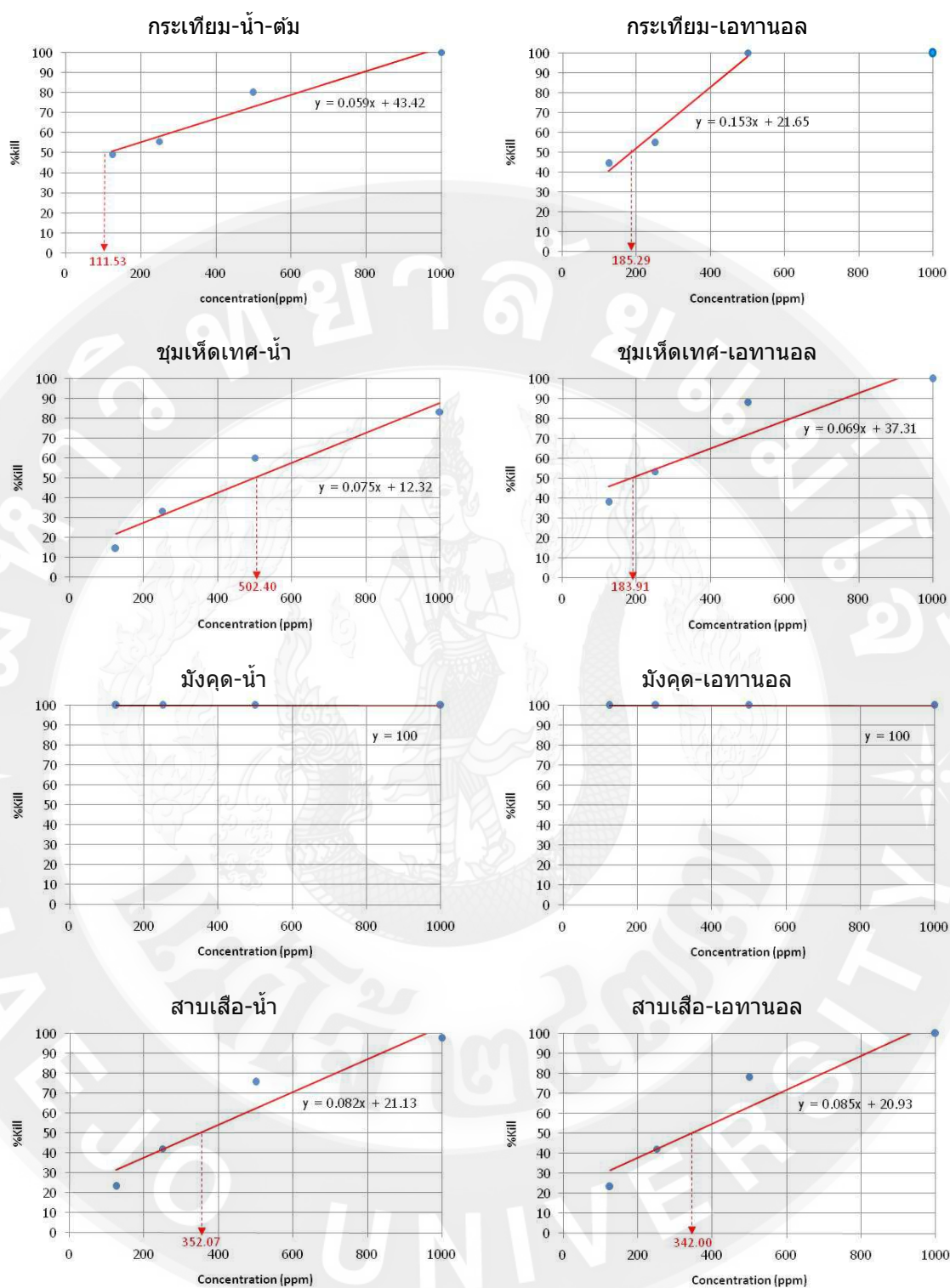
สารสกัดสมุนไพร	LC50 96h		
	ไข่ปลานิล	ลูกปลานิล 1 วัน	ลูกปลานิล 7 วัน
กระเทียม-น้ำ	-	128.51	111.53
กระเทียม-เอทานอล	-	152.62	185.29
ชุมเห็ดเทศ-น้ำ	373.97	-	502.40
ชุมเห็ดเทศ-เอทานอล	154.21	-	183.91
มังคุด-น้ำ	0	0	0
มังคุด-เอทานอล	0	0	0
สาบเสือ-น้ำ	287.41	-	352.07
สาบเสือ-เอทานอล	1384.00	-	382.98



ภาพที่ 41 ความเป็นพิษของสารสกัดสมุนไพรต่อไขปลาฉลาม



ภาพที่ 42 ความเป็นพิษของสารสกัดสมุนไพรต่อลูกปลานิลอายุ 1 วัน



ภาพที่ 43 ความเป็นพิษของสารสกัดสมุนไพรต่อลูกปลานิลอายุ 7 วัน

4. ประสิทธิภาพของสารสกัดสมุนไพรต่อเชื้อราในไข่ปลา

ทำการเหนี่ยวนำไข่ปลานิลติดเชื้อราโดยใช้ไข่ปลานิลระยะที่ 2 ไม่มีสีเหลือง มีจุดดำ 2 จุด (eyed egg) อายุ 1 วัน จำนวน 50 ฟอง/น้ำ 0.5 ลิตร ที่อุณหภูมิ 23 °C แช่ zoospore เชื้อรา *A. bisexualis* และ *A. invadans* ที่ความหนาแน่น 1×10^4 zoospores/ml และสารสกัดสำหรับสารสกัดที่เลือกทดสอบเพื่อป้องกันเชื้อราในแต่ละชนิด ซึ่งเลือกสารสกัดสมุนไพรที่ให้ผลยับยั้งการงอกของสปอร์ได้ดีที่สุดคือ ใช้ความเข้มข้นต่ำสุดและเวลาแช่น้อยที่สุดของแต่ละเชื้อ

สำหรับเชื้อรา *A. bisexualis* ใช้สารสกัดขุมเห็ดเทศ-น้ำ เพราะยับยั้งการงอกของ zoospore ได้ที่ 500 ppm แช่ 4 ชั่วโมง สำหรับ *A. invadans* ใช้สารสกัดมังคุด-เอทานอล-ต้ม เพราะยับยั้งการงอกของ zoospore ได้ที่ 1,000 ppm แช่ 1 ชั่วโมง แต่ในการทดลองประสิทธิภาพของสารสกัดสมุนไพรต่อเชื้อราในไข่จะลดความเข้มข้นสารสกัดลง 1 เท่า เพราะสารสกัดบางชนิดแม้สามารถยับยั้งเชื้อราได้ 100% แต่เมื่อใช้งานจริงอาจมีความเป็นพิษต่อไข่ปลาทำให้เกิดความเสียหาย ดังนั้นจึงควรลดความเข้มข้นลง และความเข้มข้นที่ใช้ คือ 250 และ 500 ppm และทำการเก็บข้อมูลและบันทึกผลอัตราเพาะฟักและการติดเชื้อหลังแช่สารสกัด 48 ชั่วโมง ก่อนทดลองเหนี่ยวนำไข่ปลานิลติดเชื้อรา

4.1 การป้องกันการติดเชื้อรา *Achlya bisexualis*

ผลทดลองการเหนี่ยวนำการติดเชื้อรา *A. bisexualis* ที่ความหนาแน่น 1×10^4 zoospores/ml ต่อไข่ปลานิลระยะ eyed egg ซึ่งมีสีเหลืองเข้มเริ่มสังเกตเห็นจุดดำสีดำ 2 จุด พร้อมแช่สารสกัดขุมเห็ดเทศ-น้ำ พบว่า กลุ่มควบคุมผลลบ (negative control) เป็นไข่ปลาปกติ และกลุ่มทดสอบ (ไข่ปลา+zoospore+ขุมเห็ดเทศ-น้ำ) ไข่ปลาไม่ติดเชื้อ ส่วนกลุ่มควบคุมผลบวก (positive control) เป็นไข่ที่ได้รับเชื้อแต่ไม่มีการรักษา (ไข่ปลานิล+zoospores) ไข่ปลานิลติดเชื้อรา และมีเส้นใยสีขาวฟูยึดเกาะบริเวณผิวนอกของไข่ปลา (ภาพที่ 44) ซึ่งติดเชื้อภายหลังแช่ zoospores ภายใน 48 ชั่วโมง และปลานิลฟักเป็นตัวมีการติดเชื้อด้วย

สารสกัดขุมเห็ดเทศ-น้ำสามารถป้องกันการติดเชื้อราในไข่ปลาได้ และมีผลต่ออัตราเพาะฟักไข่ปลานิล ดังนี้ กลุ่มทดสอบสมุนไพร (ไข่ปลานิล+zoospores+ขุมเห็ดเทศ-น้ำ) ที่ความเข้มข้น 250 และ 500 ppm มีอัตราเพาะฟัก 86 และ 90 % ซึ่งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับกลุ่มไข่ปลาปกติ มีอัตราเพาะฟัก 88.60 % แต่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งกับกลุ่มไข่ปลาที่ได้รับเชื้อ (ไข่ปลานิล+zoospores) มีอัตราเพาะฟัก 20% ($p < 0.05$) ดังในตารางที่ 7

การที่ไข่ปลาในกลุ่มทดสอบไม่มีการติดเชื้อ และมีอัตราการฟักสูง แสดงให้เห็นว่าสารสกัดชุมเห็ดเทศ-น้ำมีผลป้องกันการติดเชื้อจาก zoospore ได้ คาดว่าสารสำคัญในสารสกัดชุมเห็ดเทศ-น้ำ ที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งจุลินทรีย์ น่าจะเป็นสารจำพวกแอนทราควิโนนหลายชนิด ได้แก่ อะโล-อีโมดิน (aloe-emodin) อีโมดิน (emodin) เรอีน (rhein) กรดคริสโซฟานิก (chrysophanic acid) ซึ่งคุณสมบัติของสารดังกล่าวสามารถยับยั้งและฆ่าเชื้อรา แบคทีเรียได้ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานการวิจัยของ Rattanachikunsopon and Phumkachorn (2009) พบว่า ชุมเห็ดเทศ (*Cassia alata*) สกัดด้วยตัวทำละลาย น้ำ สามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้



ภาพที่ 44 ไข่ปลานิลระยะ eyed egg ติดเชื้อรา *A. bisexualis*

A : สังเกตด้วยตาเปล่า

C : ดูด้วยกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ กำลังขยาย 10X

bar = 1 มม.

ตารางที่ 7 อัตราเพาะฟักไข่ปลานิลในการแช่สารสกัดชุมเห็ดเทศ-น้ำ และซุสเปอร์ของ *A. bisexualis*

กลุ่มทดลอง	จำนวนการเพาะฟัก	อัตราเพาะฟัก (%)
กลุ่มควบคุม	44.33±0.66 ^b	88.66
กลุ่มไข่ปลา+zoospore	10.33±0.88 ^a	20
กลุ่มไข่ปลา+zoospore+250 ppm	43.00±0.58 ^b	86
กลุ่มไข่ปลา+zoospore+500 ppm	45.00±0.58 ^b	90

4.2 การป้องกันการติดเชื้อรา *Aphanomyces invadans*

การทดลองการติดเชื้อรา *A. invadans* ที่ความหนาแน่น 1×10^4 zoospores/ml ต่อไข่ปลานิลระยะ eyed egg พร้อมเชื้อสารสกัดมังคุด-เอทานอล-ต้ม พบว่า กลุ่มควบคุมผลลบ (ไข่ปลาปกติ) และกลุ่มทดสอบ (ไข่ปลา+zoospore+มังคุด-เอทานอล-ต้ม) ไข่ปลาไม่ติดเชื้อ ไข่ปลาไม่ติดเชื้อ กลุ่มชุดควบคุมผลบวก (ไข่ปลา+zoospore) ไข่ปลาติดเชื้อ และเจริญเป็นเส้นใยสีขาวฟู (ภาพที่ 45) และติดเชื้อภายหลังแช่ zoospore ประมาณ 48 ชั่วโมง มีอัตราการฟักเป็นตัวต่ำ และปลาฟักเป็นตัวมีการติดเชื้อด้วย ซึ่งสอดคล้องกับรายงานการวิจัยของ Borisutpeth et al. (2009) พบว่า *A. invadans* ที่ความหนาแน่น 1×10^4 zoospores/ml สามารถชักนำไข่ปลานิลติดเชื้อราดังกล่าวได้ และก่อให้เกิดความเสียหายต่อไข่ปลาเป็นอย่างมาก ไข่ปลาติดเชื้อจะมีเส้นใยราเจริญบนไข่ปลามีสีขาวฟู คล้ายสำลี และเชื้อรา *Aphanomyces* ยังพบก่อโรคในตัวปลานิลด้วย

พบว่าสารสกัดมังคุด-เอทานอล-ต้ม สามารถป้องกันการติดเชื้อในไข่ปลาได้ และมีผลต่ออัตราการเพาะฟักไข่ปลานิลด้วย ดังนี้ กลุ่มทดสอบสมุนไพร (ไข่ปลานิล+zoospores+มังคุด-เอทานอล) ความเข้มข้น 250 และ 500 ppm ไข่ปลาไม่ติดเชื้อ และมีอัตราการฟักสูง 86 และ 90% และไม่แตกต่างจากกลุ่มไข่ปลาปกติ ($p > 0.05$) มีอัตราเพาะฟัก 88.60% แต่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p < 0.01$) จากกลุ่มไข่ปลาได้รับเชื้อ (ไข่ปลานิล+zoospores) มีอัตราเพาะฟัก 28% ดังในตารางที่ 8

สารสำคัญในสารสกัดมังคุดมีผลต่อ zoospore คาดว่าเป็นสารกลุ่มมีคุณสมบัติในการยับยั้งจุลินทรีย์ จากที่ Chaiyasut and Pimainog (2001) รายงานว่า แชนโทนเป็นสารในกลุ่มโพลีฟีนอล และมีผลทางเภสัชหลายอย่าง แชนโทน แทนนิน และ ฟลาโวน (favones) และสารทุติยภูมิที่สำคัญ คือ กลุ่ม แชนโทน ซึ่งจะมี เบต้า, แอลฟา และ แกมมา แมงโกสทิน เป็นสารที่พบได้ในเปลือกมังคุด ซึ่งสามารถยับยั้งจุลินทรีย์ได้หลายชนิด

อย่างไรก็ตามปลาที่ฟักเป็นตัวตายหมดภายในเวลา 24 ชั่วโมง หลังเพาะฟักเป็นตัว สาเหตุที่ทำให้ปลาตายหลังฟักเป็นตัวอาจเนื่องจาก ความเข้มข้นของสารสกัดที่ใช้สูงเกินไป จึงเกิดความเป็นพิษต่อลูกปลา หรือสารสกัดจากมังคุดมีสารที่เป็นพิษต่อลูกปลา ซึ่งอาจจะมีผลต่อ ตับ และไต หรืออวัยวะอื่นๆของปลา จากรายงานการวิจัยของ Songpol (2011) ได้ศึกษาความเป็นพิษเรื้อรังของสารสกัดเปลือกมังคุดในหนูแรทพันธุ์ วิสตาร์ พบว่าการให้สารสกัดเปลือกมังคุดกับหนูแรท ขนาด 1,000 mg/kg/วัน เป็นเวลา 6 เดือน และเมื่อนำอวัยวะตรวจผลทางจุลพยาธิวิทยา พบว่าสารสกัดเปลือกมังคุด มีผลต่อตับ ไต ของหนูแรท และยังพบรอยโรคการเสื่อมมีน้ำในเซลล์ตับอีกด้วย

ดังนั้นควรมีการศึกษาที่ความเข้มข้นของสารสกัดมังคุดที่ความเข้มข้นต่ำลง เนื่องจากสารสกัดที่ความเข้มข้นสูงสามารถยับยั้ง zoospore เชื้อราได้ 100% แต่อาจมีความเป็นพิษต่อลูกปลา ทำให้ปลาตายหมด โดยสารสกัดสมุนไพรที่นำมาใช้ได้จริง อาจไม่จำเป็นต้องยับยั้งเชื้อราได้ 100% แต่สามารถชะลอการเจริญของเชื้อราได้และไม่เกิดความเป็นพิษต่อไข่ปลาและลูกปลา



ภาพที่ 45 ไข่ปลานิลระยะ eyed egg ติดเชื้อรา *A. invadans*

A : ตั้งเกดด้วยตาเปล่า

B : ดูด้วยกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ กำลังขยาย 10X

bar = 1 มม.

ตารางที่ 8 อัตราเพาะฟักไข่ปลานิลในการแช่สารสกัดมังคุด-เอทานอล-ต้ม และซุสเปอร์ของ

A. invadans

กลุ่มทดลอง	อัตราการเพาะฟัก	อัตราเพาะฟัก (%)
กลุ่มควบคุม	44.33±0.66 ^b	88.66
กลุ่มไข่ปลา+zoospore	14.00±0.58 ^a	28
กลุ่มไข่ปลา+zoospore+250 ppm	43.00±0.58 ^b	86
กลุ่มไข่ปลา+zoospore+500 ppm	45.00±0.58 ^b	90

สรุปผลการวิจัย

ประสิทธิภาพของสารสกัดกระเทียม และมังคุด สกัดด้วยน้ำและเอทานอล ต่อ *Achlya bisexualis* zoospores ที่ความเข้มข้น 500 และ 1000 ppm แช่นาน 10 นาที, 1, 4 ชั่วโมง หลังเลี้ยง 4 วัน เชื้อรามีการเจริญช้าลงเล็กน้อย แต่ไม่มีความแตกต่างกับกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) ส่วนที่ทั้ง 2 ความเข้มข้น แช่นาน 24 ชั่วโมง ไม่มีการงอกของ *A. bisexualis* zoospores ตลอด 7 วัน ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งกับกลุ่มควบคุม ($p<0.01$)

ประสิทธิภาพของสารสกัดกระเทียม สกัดน้ำและเอทานอล ต่อ *Aphanomyces piscicida* zoospores พบว่า ที่ความเข้มข้น 500 และ 1000 ppm แช่นาน 10 นาที และ 1 ชั่วโมง เชื้อรา มีการเจริญไม่แตกต่างกัน แต่ที่แช่นาน 4 ชั่วโมง เชื้อราชะลอการเจริญเล็กน้อย อย่างไรก็ตามที่การ แช่ทั้ง 3 เวลา ไม่มีแตกต่างกับกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) ส่วนที่ความเข้มข้น 500 ppm หลังเลี้ยง 4 วัน เชื้อราชะลอการเจริญได้อย่างชัดเจน ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับกลุ่ม ควบคุม ($p<0.05$) สำหรับที่ความเข้มข้น 1,000 ppm แช่นาน 24 ชั่วโมง ไม่มีการงอกของซุสสปอร์ ตลอด 7 วัน ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งกับกลุ่มควบคุม ($p<0.01$)

ส่วนประสิทธิภาพของสารสกัดมังคุด สกัดด้วยน้ำและเอทานอล ต่อ *A. piscicida* zoospores พบว่า ที่ความเข้มข้น 500 และ 1,000 ppm แช่นาน 10 นาที และ 1 ชั่วโมง หลังเลี้ยงวันที่ 4 เชื้อรา มีการเจริญช้าลงและเริ่มชะลอการเจริญ แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับกลุ่ม ควบคุม ($p>0.05$) ส่วนกลุ่มที่ทั้ง 2 ความเข้มข้น แช่นาน 4 และ 24 ชั่วโมง ไม่มีการงอกของซุสสปอร์ ตลอด 7 วัน ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งกับกลุ่มควบคุม ($p<0.01$)

สารสกัดกระเทียมและมังคุด สกัดด้วยน้ำและเอทานอล มีประสิทธิภาพในการทำลาย โครงสร้างของ *A. bisexualis* และ *A. invadans* zoospores โดยพบว่าซุสสปอร์แช่ที่ความเข้มข้น 1,000 ppm นาน 4 ชั่วโมง ซุสสปอร์มีลักษณะเหี่ยว รูปร่างบิดเบี้ยว เมื่อแช่นาน 24 ชั่วโมง ซุสสปอร์มีลักษณะ เหี่ยวมากขึ้น และนิ่มขาด

ความเป็นพิษของสารสกัดสมุนไพรแต่ละชนิดมีแนวโน้มไปในทางเดียวกันทั้งสกัดด้วย น้ำและเอทานอล สารสกัดสมุนไพรที่มีความเป็นพิษสูง เรียงตามลำดับจากมากไปน้อย ดังนี้ มังคุด กระเทียม ขุมเห็ดเทศ และสาบเสือ โดยสารสกัดมังคุดทุกความเข้มข้น ทำให้ไข่ปลาและลูกปลาดาย หมดภายใน 48 ชั่วโมง

สารสกัดขุมเห็ดเทศ-น้ำ มีประสิทธิภาพป้องกันการติดเชื้อรา *Achlya bisexualis* ในไข่ ปลาได้ดี และมีผลต่ออัตราเพาะฟักไข่ปลานิล ดังนี้ กลุ่มทดสอบสมุนไพร (ไข่ปลานิล+zoospores+

หุ้ดเห็ดเทศ-น้ำ) ที่ความเข้มข้น 250 และ 500 ppm มีอัตราเพาะฟัก 86 และ 90 % ซึ่งไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุมไข่ปลาปกติ (88.60 %) ในขณะที่กลุ่มปลาได้รับเชื้อ (ไข่ปลานิล+zoospores) มีอัตราเพาะฟัก 20%

สารสกัดมังคุด-เอทานอล สามารถป้องกันการติดเชื้อในไข่ปลาได้ และมีผลต่ออัตราการเพาะฟักไข่ปลานิลด้วย ดังนี้ กลุ่มทดสอบสมุนไพร (ไข่ปลานิล+zoospores+มังคุด-เอทานอล) ที่ความเข้มข้น 250 และ 500 ppm มีอัตราเพาะฟัก 86 และ 90 % ซึ่งไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุมผลสด (88.60 %) แต่ได้รับเชื้อ (ไข่ปลานิล+zoospores) มีอัตราเพาะฟัก 28%



เอกสารอ้างอิง

- จารุวัลย์ รัชมณี. 2547. ลักษณะสัณฐานวิทยาและชีววิทยา บางประการของเชื้อรา ที่แยกได้จาก
ไข่ปลาตุกรัสเซีย (*Clarias gariepinus* Burch) และไข่ปลาไน (*Cyprinus carpio* L.).
วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 104 น.
- จุฑารัตน์ มุลจันทร์, ชุติมา หาญจวนิช และ นิลุบล ชูอาสะ. การทดสอบเบื้องต้นเกี่ยวกับ
ความสามารถในการก่อโรคของ *Saprolegnia diclina* สายพันธุ์ 4501 และ *Achlya* sp. สาย
พันธุ์ 4503 ที่มีต่อปลาแพลงที (*Xiphophorus maculatus* Guenther). ออนไลน์วันที่ 1
กันยายน 25567 : <http://www.thaiscience.info/Article%20for%20ThaiScience/Article/4/Ts-4%20preliminary%20test%20on%20pathogenicity%20of%20saprolegnia%20diclina%20strain%204501%20and%20achlya%20sp%20strain%204503%20on%20platy.pdf>
- จำลอง เพ็งคล้าย. 2534. ก้าวไปกับสมุนไพร. กรมป่าไม้. กรุงเทพฯ. 243 หน้า.
- นันทวัน บุญยะประภัสร์. 2534. ก้าวไปกับสมุนไพร เล่ม 1. กรุงเทพฯ: ศูนย์ข้อมูลสมุนไพร คณะ
เภสัชศาสตร์ มหิดล. 207 น.
- เต็มดวง สมศิริ และสุริยันต์ สุนทรวิทย์. ม.ป.ป. ผลการศึกษาประสิทธิภาพการใช้มินชันผสม
อาหารลูกกุ้งกุลาดำต่อเชื้อ *Vibrio harveyi* และเชื้อตัวแดงดวงขาว. กรมประมง. 8 น.
- ปาริยา อุดมกุศลศรี, งามพ่อง คงคาทิพย์, บุญส่ง คงคาทิพย์, สุมาลี บุญมา, กมลชัด ตรงวานิชนาม,
สันติ แก้ว โมกุล และ นกสร กุสุจรีต. 2545. การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราที่ก่อโรค
ในปลาจากสารสกัดขมิ้นชันในห้องปฏิบัติการ. การประชุมทางวิชาการ ครั้งที่ 40
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ สาขาสัตวศาสตร์ สาขาสัตวแพทยศาสตร์ สาขาประมง วันที่ 4-7
กุมภาพันธ์ 2545
- พร้อมจิต ศรีลัมพ์. 2535. สมุนไพรสวนสิริรุกขชาติ. บริษัทอมรินทร์พริ้นติ้งกรุ๊ป กรุงเทพฯ. 263 น.
- เพียวเหมือนวงศ์ญาติ. 2526. คู่มือการใช้สมุนไพร. เล่มที่ 2. กรุงเทพฯ: เมดิคัลมีเดีย. 258 น.
- ภูมิพิชญ์ สุชาวรรณ. 2536. พืชสมุนไพรใช้เป็นยา 2. กรุงเทพฯ: องค์การส่งเสริมการค้าสินค้า สก.
133 น.
- มัลลิกา วรรณประภา. 2547. ผลของสารสกัดจากขมิ้นชัน (*Curcuma longa* Linn.) ต่ออัตราการรอดและ
อัตราการเจริญเติบโตของกุ้งก้ามกรามวัยอ่อน (*Macrobrachium rosenbergii* de Man).
วิทยานิพนธ์มหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 69 น.
- รุ่งนภา อ่องคณา. 2546. พฤกษเคมีและฤทธิ์ต้านเชื้อมาลาเรียของสาบเสือ. วิทยานิพนธ์มหาบัณฑิต
มหาวิทยาลัยมหิดล. 141 น.

- วาริน ปัญญาวิช. 2547. การศึกษาเปรียบเทียบวิธีการวินิจฉัยโรคระบาด Epizootic Uncerative Syndrome (EUS). วิทยานิพนธ์ปริญญาโท.มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 95 น.
- วิชัย รักรักษาศาสตร์. 2551. ราวิทยาเบื้องต้น. นครปฐม: คณะเกษตร กำแพงแสน ภาควิชาโรคพืช มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 351น.
- วิทย์ เทียงบุญธรรม. 2531. พจนานุกรมสมุนไพรไทย. กรุงเทพฯ: โอ. เอส. พริ้นติ้งเฮาส์. 880 น.
- วันดี กฤษณพันธ์. 2537. สมุนไพรน่ารู้. สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 257 หน้า.
- สนธยา พุทรวงศ์ และ ศศิธร วงศ์เรือง. 2552. สารสกัดจากพลูคาวและสาบเสือที่มีอิทธิพลต่อเชื้อ *Colletotrichum capsici* และ *Fusarium oxysporum*. Agricultural Science Journal 40 : 225-228.
- สถาพร ดิเรกบุษราคม. 2540. สมุนไพรกับการเลี้ยงกุ้ง. ข่าวกรมประมง. 21(4) : 11-15 น.
- สมพร ภูติยานันต์. 2542. ความรู้เบื้องต้นเกี่ยวกับการแพทย์แผนไทยว่าด้วยสมุนไพรกับการแพทย์ไทย. คณะเภสัชศาสตร์, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 448 หน้า.
- สิริพงศ์ อินทราคมะ. 2506. โรคยอดเน่าของข้าวโพดเกิดจากเชื้อแบคทีเรีย. วิทยานิพนธ์มหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 85 น.
- สุวรรณา เสมศรี, ชฎารัตน์ อัมพะเสวต, ศิริพร โอโกโนกิ, มงคล ศรีคำชม และทรงยศ อนุชปรีดา. 2552. ผลของสารสกัดหยาบแยกส่วนจากเปลือกมังคุดต่อการทำลายเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวและยับยั้งการแสดงออกของยีนและโปรตีนวิลท์ทูเบอร์วัน (WT1) ในเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว. สงขลานครินทร์เวชสาร 27, (5) 224 น.
- เสาวลักษณ์ พงษ์ไพจิตร. 2543.ฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ของสารสกัดจากพืชสกุล *Cassia* sp. วิทยานิพนธ์มหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. 49 น.
- เสาวลักษณ์ พงษ์ไพจิตร, เมตตา องค์สกุล, ลัดดา นิรัตน์, ประสิทธิ์ ธาราจิตรกุล, ศิริพรรณ บุญชู, ชัยเชื้อ ประไพศิลป์ และพิเชษฐ์ วิริยะจิตรา. 2537. ฤทธิ์ของสารสกัดเปลือกมังคุดต่อ *Staphylococcus aureus* ที่ดื้อยา methicillin (MRSA) และ *Enterococcus* species. วารสารสงขลานครินทร์ 16(4): 399-405.
- องอาจ เลาหิณี และ คิซึโอะ สะไท. 2533. โรคเชื้อราแลคจินีเดียในกุ้ง northern shrimp (*Pandalus borealis*) ขนาดโตเต็มวัย. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 28 กรุงเทพฯ สาขาสัตวแพทย์ และประมง วันที่ 29 – 31 มกราคม 2533. หน้า 569-575
- องอาจ เลาหิณี, สุรินทร์ พินิตเกียรติสกุล และ คิซึโอะ สะไท. 2546. การศึกษาเชื้อราก่อโรคในโรงเพาะฟักและอนุบาลกุ้งกุลาดำ. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 41: สาขาประมง กรุงเทพฯ วันที่ 3-7 กุมภาพันธ์ 2546. หน้า 10-18.

- Abubacker, M.N., Ramanathan, R. and Kumar T. 2008. In Vitro Antifungal Activity of *Cassia alata* Linn. Flower Extract. *Journal Natural Product Radiance* 7(1): 6-9.
- Ahmed, SH., FA. M., Yousif, R., Abdelwahab, SK. and RRM, Salih. 2012. Isolation of Fungal Species From *Oreochromis Niloticus* From Two Environments. *Journal IJBPA* 1(7): 927-932.
- Antbony, C. 2014. A review of Mangosteen (*Garcinia mangostana*) Linn. [Online] Available 5 September 2014 : http://www.dweckdata.co.uk/Published_papers/Garcinia_mangostana.pdf
- Ankri, S. and Mirelman, D. 1999. Antimicrobial properties of allicin from garlic. *Journal Microbes and Infection* 1 (2): 125–129 .
- Benkeblia, N. 2004. Antimicrobial Activity of Essential oil Extracts of Various Onions (*Allium cepa*) and Garlic (*Allium sativum*). *Journal Lebensm.-Wiss. u.-Technol* 3: 263–268.
- Blazer, V.S., Vogelbein, W.K., Densmore, C.L., May, E.B., Lilley J.K. and Zwerner, D.E. 1999. *Aphanomyces* as a cause of Ulcerative Skin Lesions of Menhaden Chesapeake Bay Tributaries. *Journal of Aquatic Animal Health* 11: 340-349.
- Borisutpeth, T., Kanbutra, P., Hanjavanit, C., Chukanhom, K., Funaki, D. and Hatai, K. 2009. Effects of Herbs on the Control of Fungal Infection in Tilapia Eggs and the Toxicity to the Eggs. *Journal of Aquaculture Science* 57 (3): 475–482.
- Brown, C. L. Green and S. R. J. Robbins. 1999. *Turmeric Spices*. New York: Longman Inc. 591-634.
- Chinabut, S., Roberts, R. J., Willounhby, G. R. And Pearon, M. D. 1995. Histopathology of Snakehead, *Channa striatus* (Bloch), Experimentally Infected with the Specific *Aphanomyces* Fungus Associated with Epizootic Ulcerative Syndrome (EUS) at Different Temperatures. *Journal of Fish Disease* 18: 41-47.
- Chaverri, J. P., Rodríguez, N.C., Ibarra, M. O, and Rojas, J.M.P. 2008. Medicinal Properties of Mangosteen (*Garcinia mangostana*). *Journal of Food and Chemical Toxicology* 46: 3227–3239.
- Ciamician, G. and P. Silber. 1897. *Zurkenntniss des curcumins*. Cited by Purseglove J. W., E. G. Crockett C.O., Guede-Guina F., Pagh, D., Vangah-Manda M., Robinson T.J., Qlubadewo J.O. and Ochillo R.F. 1992. *Cassia alata* and the Preclinical Search for Herapeutic Agent for the Treatment Opportunistic Infection in Aids Patients. *Journal Cell Mole Bio* 8(5): 505-511.

- Curtis, H., Noll, U., Stormann J., Alan, J. and Slusarenko, A. 2004. Broad- Activity of the Volatile Phytoanticipin Allicin in Extracts of Garlic (*Allium sativum* L.) Against Plant Pathogenic Bacteria, Fungi and Oomycetes. *Journal of Physiological and Molecular Plant Pathology* 65: 79–89.
- Egusa, S. and Masuda, N. 1971. A new Fungi Disease of *Plecoglossus altivelis*. *Journal of Fish Pathology* 6: 41-46.
- FAO. 1986. Report of the Expert Consultation on Ulcerative Fish Diseases in the Asia-Pacific region. (TCP/RAS/4508). Bangkok. 5-9 August 1986. FAO, Regional Office for Asia and the Pacific, Bangkok.
- Fraser, G.C., Callinan, E.B. and Calder, L.M. 1992. *Aphanomyces* species Associated with Red spot Disease: an Ulcerative Disease of Estuarine Fish from Eastern Australia. *Journal of Fish Disease* 15: 173-181.
- Frerichs, G.N., Millar, S.D. and Roberts, R.J. 1986. Ulcerative rhabdovirus in fish in Southeast Asia. *Nature* 322 (6067): 216 .
- Ghahfarokhi, M. S., Razafsha, M., Allameh, A. And Abyaneh, M. R. 2003. Inhibitory Effects of Aqueous Onion and Garlic Extracts on rowth and Keratinase Activity in Trichophyton mentagrophytes. *Journal of Iranian Biomedical* 7(3): 113-118.
- Ghomi, M. R., Esmailai, A., Vossoughi G., Keyvan A. and Nasari R. M. 2007. Comparation of Ozone, Hydrogen peroxide and Removal of Infected Eggs for Prevention of Fungal Infection in Sturgeon Hatchery. *Journal of Fisheries Science* 73: 1332-1337.
- Haines, A.K. and Egusa, S. 1978. Studies on the Pathogenic Fungus of Mycotic granulomatosisII. Some of the Note on the MG-Fungus. *Journal of Fish Pathology* 13(2): 85-89.
- Hanjavanit, C. and Rakmanee , C. 2008. Experimental Infection of Aquatic Fungi on Eggs of African Catfish (*Clarias gariepinus* Burch). *KKU Science Journal* 36: 36-43.
- Hanjavanit, C., Kashiwagi, M., Sangrungruang, C. and Yoshioka, M. 2006. Preventive Efficacy of Sodium Hypochlorite Against Water mold Infection on Eggs of Chum Salmon *Oncorhynchus keta*. *Journal of Fisheries Science* 72: 28-32.
- Hanjavanit, C., Raknanee C., Kiticharoen, w. and Hatai, k. 2012. Freshwater Oomycete Isolate from African Catfish *Clarias gariepinus* Eggs in Thailand. *Aquaculture* 60(2): 269-276.
- Hennebelle, T., Weniger, B., Joseph, H., Sahpaz, S. and Baillcul, F. 2009. *Senna alata*. *Journal Fitoterapia* 80: 385–393.

- Hughes, B. G and Lawson L. D. 2006. Antimicrobial Effects of *Allium sativum* L. (garlic), *Allium ampeloprasum* L. (elephant garlic), and *Allium cepa* L. (onion), Garlic Compounds and Commercial Garlic Supplement Products. *Phytotherapy Research* 5 (4): 154–158.
- Hussein, M.M.A., Wada, S., Hatai, K., Yamamoto, A. 2000. Antimycotic activity of eugenol against selected water molds. *Journal of Aquatic Animal Health* 12 : 224-229.
- Johnson, T. W. 1956. *The Genus Achlya : Morphology and Taxonomy*. USA: University of Michigan Press. 180 p.
- Jones M.G., Hughes J., Tregova A., Milne J., Tomsett A.B. and Collin H.A. 2004. Biosynthesis of the flavour precursors of onion and garlic. *Journal of Experimental Botany* 55(404): 1903–1918.
- Kaomongkolgit, R., Jamdee, K and Chaisonboon N. 2009. Antifungal Activity of Alpha-mangostin Against *Candida albicans*. *Journal of Oral Science* 51: 401 – 406.
- Kartiga, P., Soranan, R., and Annadurai, G. 2012. Alpha-mangostis Majour Compound from *Garcinia mangostana* Linn. Responsible foe Systhesis of Ag Nanoparticles : Its Characterization and Evaluation Studies. *Journal of Nanoscience and Nanotechnonology* 2 (2): 46-57.
- Khan, M. A., Zhihui, C., Xuemei, X., Khan, A. R. and Ahmed, S. S.. 2011. Ultrastructural Studies of the Inhibition Effect Against *Phytophthora capsici* of Root Exudates Collected from Two Garlic Cultivars Along with their Qualitative Analysis Crop. *Journal of Protection* 30: 1149-1155.
- Kim, J. W. and Kyung, K. H. 2003. Antiyeast Activity of Heated Garlic in the Absence of Allinase Enzyme Acion. *Journal of Food Science* 68: 1766-1770.
- Kiryu, Y., Shields, J.D., Vogelbein, W.K., Kator, H. and Blazer, V.S. 2003. Infectivity and Pathogenicity of the Oomycete *Aphanomyces invadans* in Atlantic menhaden *Brevoortia tyrannus*. *Diseases of Aquatic Organisms* 54: 135-146.
- Kitancharoen, N., Yamamoto, A. and Hatai, K. 1997. Fungicidal Effect of Hydrogen peroxide on Fungi Infection of Rain trout Eggs. *Mycoscience* 38: 375-378.
- Kwanprasert Panchai, Chutima Hanjavanit and Nilubol Kitancharoen. 2007. Characteristics of *Achhlya bisexualis* isolated from eggs of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* Linn.). *KKU Research Journal* 12(3): 195-202.

- Lilley, J. H. and Roberts, R.J. 1997. Pathogenicity and Culture Studies Comparing the *Aphanomyces* Involved in Epizootic Ulcerative Syndrome (EUS) with other Similar Fungi. *Journal of Fish Diseases* 20: 135-144.
- Lilley, J. H., Hart, H., Richards, Roberts, Cerenius, R.H., R.J. L. and Soderhall, K.. 1997a. Pan-Asian Spread of Single Fungal Clone Results in Large scale Fish-kills. *Veterinary Record* 140: 653-654.
- Lilley, J. H., Thompson, K.D. and Adams, A.. 1997b. Characterization of *Aphanomyces* invaders by Electrophoretic and Western blot Analysis. *Diseases of Aquatic Organisms* 30: 187-197.
- Lilley, J. H., Phillips, M. J. and Tonguthai, K. 1992. A review of Epizootic Ulcerative Syndrome (EUS) in Asia. AAHRI and NACA, Bangkok, Thailand.
- Lilley, J. H., Callina, R. B., Chinabut, S., Kanchakhan, S., Macrae, I. H. and Phillips, M. J. 1998. Epizootic Ulcerative syndrome (EUS) Technical Handbook. Aquatic Animal Health Research Institute, Bangkok, Thailand. 88 p.
- Lutomski, J., B. Keazia and W. Debska. 1974. Effect of alcohol extract and active ingredient from *Curcuma longa* on bacteria and fungi. *Planta Medica*: 9-19.
- Menasaveta P. 1985. Current fish disease epidemic in Thailand. 1985. *Journal of Science Society* 11 : 147-160.
- Meriel G. Jones, Jill Hughes, Angela Tregova, Jonathan Milne, A. Brian Tomsett and Hamish A. Collin. 2004. Biosynthesis of the flavour precursors of onion and garlic. *Journal of Experimental Botany*, Vol. 55, No. 404, Sulphur Metabolism in Plants Special Issue, pp. 1903-1918.
- Miyazaki, T. and Egusas, S. 1972 Study on Mycotic granulomatosis Fish I. Mycotic granulomatosis in goldfish. *Journal of Fish Pathology* 7: 15-25.
- Owolabi M.S., A. Ogundajo, K.O. Yusuf, L. Lajide, H.E. Villanueva, Jessica A. Tuten, and William N. Setzer. 2010. Chemical Composition and Bioactivity of the Essential Oil of *Chromolaena odorata* from Nigeria. Academy of Chemistry of Globe Publications. *Records of Natural Products* 4: 72-78.
- Owoyale, J. A., Olatunji, G. A. and Oguntoye, S.. 2005. Antifungal and Antibacterial Activities of an Alcoholic Extract of *Senna alata* Leaves. *Journal of Applied Sciences and Environmental Management* 9(3): 105-107.

- Palanichamy, S. and Nagarajan, S. 1990. Antimifugal Activity of Cassia alata Leaf Extract. *Journal of Ethnopharmacol* 29: 337–340.
- Panchai, K., Hanjavanit, C. and Kitanchoen N. 2007. Characteristic of *Achlya bisexualis* Isolated from Eggs of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus* Linn.). *KKU Research Journal* 12 (3): 195 – 202.
- Phadee, P., Kurata, o., Hatai, K., Hirono, I. and Aoki T. 2004. Detection and Identification of Fish-Pathogenic *Aphanomyces piscicida* Using Polymerase Chain Reaction (PCR) with Species-Specific Primers. *Journal of Aquatic Animal Health* 16 (4): 220-230.
- Rattanachaikumsopno, P. and Phumkachorn, P. 2009. Prophylatic Effect of *Andrographis paniculata* Extracts Against Streptococcus agalactiae Infection in Nile tiapia (*Oreochromis niloticus*). *Journal of Bioscience and Bioengineering* 107: 579 - 582.
- Roberts, R. J., Willoughby, L. G. and Chinabut S. 1993. Mycotic aspects of epizootic ulcerative syndrome (EUS) of Asian fishes. *Journal of Fish Diseases* 16: 169-18.
- Shanor, L. and Saslow, H.B. 1944. *Aphanomyces* as a Fish Parasite. *Mycologia* 36: 413-415.
- Sukanya S.L., J. Sudisha, H.S. Prakash and S.K. Fathima. 2011. Isolation and characterization of antimicrobial compound from *Chromolaena odorata*. *Journal of Phytology* 2011: 26-32.
- Suksamrarn, S., Suwannapoch, N., Ratananukul, P., Aroonlerk N. and Suksamrarn, A. 2002. Xanthones from the Green Fruit hull of *Garcinia mangostana*. *Journal of Natural Products* 65: 761-763.
- Suksamrarn S, Suwannapoch N, Phakhodee W, Thanuhiranlert J, Ratananukul P, Chimnoi N, 2003. Antimycobacterial Activity of Prenylated xanthones From the Fruits of *Garcinia mangostana*. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin (Tokyo)* 51(7): 857-9.
- Sundaram, B.M., Gopalakrishnan. C., Subramanian.S., Shankaranarayanan.D., Kameswaran.L. 1983. Antimicrobial Activities of *Garcinia mangostana*. *Planta Medica* 48: 59–60.
- Suwaibah M., R. Zatifarihiyah and M.A. Aslizah, S.N. Baharum. 2012. Chemical Composition of Local Eupatorium odoratum Essential Oil using GC-MS. *UMT 11th International Annual Symposium on Sustainability Science and Management* 9th – 11th July 2012, Terengganu. pp. 1382-1388.
- Thanh laon, L. T., Phuong, V. H., Thanh T. P., and Huyen, N. T., 2006. Experimental Screening of Some Pharmaceutical Chemical Compounds Affecting *Achlya* Sp. Isolated From Catfish Eggs. *Proceeding of International Workshop on Biotechnology in Agriculture*.

Udomkumsornsri, P., Trongvanichnan, K., Li poka, M., Klangkeaw, N. and Kusucharit, N. 2007.

In vitro Efficacy of the Antifungal Activity of Some Thai Medicinal-Plants on the Pathogenic Fungus, *Saprolegnia parasitica* H2, from Fish. Kasetsart Journal: Natural Science 41: 56-61.

Unestam, T. 1965. Studies on the Crayfish Pague Fungus *Aphanomyces astaci*. I. Some Factors Affecting Growth in Vitro. Physiologia Plantarum 18: 483-505.

Vishniac, H.S. and Nigrelli, R.F. 1957. The ability of the Saprolegniaceae to Parasitise Platyfish. Zoologica. New York Zoological Society 42: 131-133.

Wada, S., Yuasa, K., Rha S.A., Nakamura, S. and Hatai, K. 1994. Histopathology of *Aphanomyces* Infection in Dwarf Gourami (*Coloisa lalia*). Journal of Fish Pathology 29 (4): 229-237.

Yasmin M., K.S. Hossain and M.A. Bashar. 2008. Effects of some angiospermic plant extracts on in vitro vegetative growth of *Fusarium moniliforme*. Bangladesh Journal of Botany 37: 85-88.