Agricultural Sci. J. 37 : 5 (Suppl.) : 208-211 (2006) ว. วิทย. กษ. 37 : 5 (พิเศษ) : 208-211 (2549)

ผลของสารสกัดจากใบช้าพลู และตะไคร้ต่อการปนเปื้อนของเชื้อรา *Aspergillus flavus* และการงอกของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60

Effect of piperacea and lemongrass extract on *Aspergillus flavus* contamination and germination of soybean seed cv. 'Chiang Mai 60'

ทักษอร บุญชู[1] นงคราญ มหาวัง[2] บัณฑิต คันธา[1] และทรงศิลป์ พจน์ชนะชัย[1]

Taksaon Boonchoo[1], Nongkran Mahawang[2], Bandit Khantha[1] and Songsin Photchanachai[1]

Abstract

Effects of lemongrass and piperacea extracts on *Aspergillus flavus* contamination and germination of soybean seed cv. 'Chaing Mai 60' were studied. The results revealed that the soybean seed (75% germination) sprayed with plant extracts at concentration of 10,000 ppm reduced 2 times *A. flavus* contamination. Either lemongrass or piperacea extracts did not affect the percentage of seed germination but the germination index was lower than that control treatment. 100% of the seed placed on blotter towel contaminated with spore suspension of *A. flavus* was contaminated with *A. flavus* but the seed treated with lemongrass extract showed the highest seedling survival percentage (50%) compared to the other treatments.

Key words: Soybean seed, *Aspergillus flvus*, plant extract, germination

บทคัดย่อ

การศึกษาผลของสารสกัดตะไคร้ และใบช้าพลู ต่อการปนเปื้อนของเชื้อรา *Aspergillus flavus* และความงอกของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 พบว่า การฉีดพ่นเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองความงอกเริ่มต้น 75 เปอร์เซ็นต์ ด้วยสารสกัดทั้งสองชนิดที่ความเข้มข้น 10,000 ไมโครลิตรต่อลิตร สามารถลดการปนเปื้อนของเชื้อรา *A. flavus* ได้ 2 เท่า สารสกัดทั้งสองชนิดไม่มีผลต่อความงอกของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง แต่ดัชนีความงอกลดลงมากกว่าชุดควบคุม เมื่อนำเมื่อนำเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองทุกชุดการทดลองมาเพาะบนกระดาษเพาะที่ปนเปื้อนสปอร์เชื้อรา *A. flavus* พบว่า เมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองปนเปื้อนเชื้อรา *A. flavus* 100 เปอร์เซ็นต์ แต่เมล็ดพันธุ์ที่ฉีดพ่นสารสกัดตะไคร้มีเปอร์เซ็นต์การอยู่รอดของต้นกล้ามากที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับชุดการทดลองอื่นๆ

คำสำคัญ: เมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง, *Aspergillus flvus*, สารสกัดจากพืช, ความงอก

คำนำ

ถั่วเหลืองเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญและมีความต้องการของตลาดสูงตลอดทั้งปี เนื่องจากเป็นวัตถุดิบในการแปรรูปอุตสาหกรรมอาหารต่างๆ อย่างไรก็ตาม ความงอกของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองลดลงอย่างรวดเร็ว โดยมีสาเหตุหลักประการหนึ่งคือการปนเปื้อนของเชื้อราทั้งในแปลงปลูกและหลังการเก็บเกี่ยว ซึ่งเชื้อราดังกล่าวจะเข้าทำลายเมล็ดจนเป็นเหตุให้เมล็ดพันธุ์เสื่อมสภาพเร็วยิ่งขึ้น นอกจากนี้เมื่อนำเมล็ดพันธุ์ ไปเพาะปลูกเชื้อราที่ปนเปื้อนมากับเมล็ดรวมทั้งที่ปนเปื้อนอยู่ในดินจะเข้าทำลายเมล็ด ส่งผลให้เมล็ดเน่าเสียหาย หรือความงอกของเมล็ดต่ำลง ก่อให้เกิดความสูญเสียทางเศรษฐกิจ สำหรับวิธีการแก้ปัญหาการปนเปื้อนเชื้อราในเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองมีหลายวิธีที่นิยมปฏิบัติคือ การคลุกเมล็ดพันธุ์ด้วยสารเคมีก่อนการเก็บรักษาหรือก่อนทำการเพาะปลูก ในปัจจุบันรัฐบาลมีนโยบายรณรงค์ให้ใช้สารชีวภาพทดแทนสารเคมี เพื่อลดการนำเข้า และอันตรายจากสารเคมีทั้งต่อเกษตรกรและสิ่งแวดล้อม พืชสมุนไพรซึ่งมีหลายชนิดในประเทศจึงเป็นอีกวิธีหนึ่งที่สามารถนำมาประยุกต์ใช้เพื่อลดปัญหาการปนเปื้อนของเชื้อราได้ เช่นการใช้สารสกัดจาก ขิง ข่า ตะไคร้ ดีปลี กระชาย และช้าพลู เป็นต้น

ตะไคร้ (Lemongrass) จัดอยู่ในวงศ์ Graminea มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Cymbopogon citratus* Stapf เป็นพืชที่มีสรรพคุณทางยาหลายอย่างเช่น น้ำมันหอมระเหยของตะไคร้ มีสารเคมีที่ออกฤทธิ์ลดการบีบตัวของลำไส้ คือ menthol, cineole, camphor, linalool จึงลดอาการแน่นจุกเสียด และสารเคมีในน้ำมันหอมระเหย คือ citral, citronellol, geraneol และ cineole

[1]สายวิชาเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว คณะทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยี ม. เทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี, กรุงเทพฯ 10150

[1]Division of Postharvest Technology, Department of Bioresource and Technology, King Mongkut's University of Technology Thonburi, Bangkok 10150

[2]โรงเรียนสันป่ายางวิยาคม จ. เชียงใหม่ 50300

[2]Sanpayang Wttayakom School, Chaingmai 50300

มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียได้แก่ เชื้อ *E. coli* ในปี 2004 Velluti และคณะ ทดสอบสารสกัดตะไคร้ที่ความเข้มข้น 0 -1000 ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตร เพื่อลดการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Fusarium* species พบว่าการเจริญของเส้นใยเชื้อราลดลงตามความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้น ในทำนองเดียวกันสารสกัดตะไคร้สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Aspergillus flavus* และป้องกันการสร้างสารแอฟลาทอกซินได้ (Mahmound, 1994)

ช้าพลู อยู่ในวงศ์ Piperaceae มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Piper sarmentosum* Roxb. ช้าพลูมีน้ำมันหอมระเหยที่ทำให้เกิดกลิ่นเผ็ดฉุน และมีคุณค่าทางสารอาหารที่สำคัญ คือ มีแคลเซียม และสารเบต้า-แคโรทีนในปริมาณสูง นอกจากนี้ Chanwitheesuk *et al.* (2005) รายงานว่าช้าพลูมีวิตามินซี และฟีโนลิกในปริมาณที่ค่อนข้างสูงคือ 16.6 และ 123 mg% ช้าพลูมีสรรพคุณทางยาคือ ใบและลำต้นช่วยละลายเสมหะ ขับลม แก้ท้องอืดท้องเฟ้อ ช่วยบำรุงน้ำดี จากการรายงานของ Rukachaisrikul *et al.* (2004) พบว่าในสารสกัดช้าพลูประกอบด้วยสารในกลุ่มเอไมด์ 8 ชนิด ได้แก่ pellitorine, guineensine, brachystamide B, sarmentine, brachyamide B, 1-piperettyl pyrrolidine, 3′,4′,5′-trimethoxycinnamoyl pyrrolidine และ sarmentosine สารในกลุ่มลิกนิน 2 ชนิด ได้แก่ (+)-asarinin และ sesamin และสารประกอบอื่น ๆ 4 ชนิด คือ 1-(3,4-methylenedioxyphenyl)-1E-tetradecene, methyl piperate, a mixture of β -sitosterol และ stigmasterol มีการรายงานว่าสารสกัดจากพืชกลุ่มนี้สามารถลดการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ได้ เช่น *P. pulchrum, P. paniculata* L. และ *Spilanthes americana* ช่วยลดการปนเปื้อนของแบคทีเรียได้ 5 ชนิด ได้แก่ *Staphylococcus aureus, Streptococcus* β-hemoltic, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *E. coli* และยีสต์ 1 ชนิดคือ *Candida albicans* (Rojas *et al*., 2006) งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อทำการศึกษาผลของสารสกัดจากตะไคร้ และใบช้าพลู ต่อการปนเปื้อนของเชื้อรา *Aspergillus flavus* ซึ่งเป็นเชื้อราที่พบมากในโรงเก็บและเป็นสาเหตุหนึ่งของการเสื่อมสภาพ และการเน่าเสียของเมล็ดในระหว่างการเก็บรักษาและการเพาะปลูก และผลของสารสกัดทั้งสองชนิดต่อความงอกของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 เพื่อลดความเสียหายจากการเข้าทำลายของเชื้อราในระหว่างการเพาะปลูก และเป็นแนวทางในการนำไปใช้เพื่อชะลอการเสื่อมสภาพของเมล็ดพันธุ์ในระหว่างการเก็บรักษาต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

นำเมล็ดถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 ซื้อจากกองขยายพันธุ์พืช กรมส่งเสริมการเกษตรที่ปลูกและเก็บเกี่ยวในปี พ.ศ. 2548ฉีดพ่นด้วยตัวทำละลาย (95% ethanol ผสมกับน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1:9) สารสกัดตะไคร้ และสารสกัดใบช้าพลู ที่ความเข้มข้น 10,000 ไมโครลิตรต่อลิตร จนทั่วเมล็ดแล้วผึ่งให้แห้งที่อุณหภูมิห้องประมาณ 2 ชั่วโมง จากนั้นนำเมล็ดมาทดสอบความงอกมาตรฐาน (germination test) ตามวิธีมาตรฐานของ ISTA (1993) ดังนี้คือ นำเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองเพาะบนกระดาษเพาะที่ชุ่มน้ำแบบ between paper (BT) ประกอบด้วย 4 ซ้ำ ๆ ละ 50 เมล็ด บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง (28±3°C) บันทึกผลโดยนับจำนวนต้นกล้าปกติในวันที่ 5 และวันที่ 8

สำหรับความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ทดสอบด้วยวิธี การวัดดัชนีการงอก (germination index; GI) โดยทำการเพาะเมล็ดเช่นเดียวกับความงอกมาตรฐาน แต่นับต้นกล้าปกติทุกวันตั้งแต่วันที่ 5 จนถึงวันที่ 8 แล้วคำนวณตามสูตร คือ

GI = ผลรวมของจำนวนต้นกล้าที่งอกปกติ / จำนวนวันหลังเพาะ

เปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนเชื้อรา (%contamination) ทำการบ่มเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อ โดยวางเมล็ดลงในกล่องพลาสติกที่มีกระดาษเพาะชุ่มน้ำ ประกอบด้วย 4 ซ้ำ ๆ ละ 50 เมล็ด นับเมล็ดที่ติดเชื้อในวันที่ 3 หลังจากการบ่ม แล้วคำนวณตามสูตร

(เมล็ดที่ติดเชื้อ / จำนวนเมล็ดทั้งหมด) x 100

เปอร์เซ็นต์การอยู่รอดของต้นกล้า (%Seedling survival) ทำการเพาะเมล็ดโดยปฏิบัติเช่นเดียวกับเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนเชื้อรา แต่เปลี่ยนจากน้ำปลอดเชื้อเป็น spore suspension ของเชื้อรา *A. flavus* ที่ความเข้มข้น 10^3 สปอร์/มิลลิลิตร นับต้นกล้าปกติในวันที่ 8 หลังจากการเพาะ

ผลและวิจารณ์

เมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองซึ่งมีความชื้นเริ่มต้นเท่ากับ 8.76 เปอร์เซ็นต์ มีเชื้อราปนเปื้อนทั้งหมด 42 เปอร์เซ็นต์ โดยมีเชื้อรา *A. flavus* มากที่สุดคือ 19.5 เปอร์เซ็นต์ และเชื้อราโรงเก็บอีก 3 ชนิด เมื่อนำเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองมาฉีดพ่นด้วยสารสกัดจากตะไคร้ และช้าพลู พบว่า สารสกัดจากพืชทั้งสองชนิดสามารถลดการปนเปื้อนของเชื้อราทั้งหมด (%total fungal contamination) ได้ 2 เท่าของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่ฉีดพ่นด้วยตัวทำละลาย (ethanol ผสมกับน้ำกลั่น) และเมล็ดพันธุ์ชุด

ควบคุม (Table 1) การที่สารสกัดทั้งสองชนิดสามารถลดการปนเปื้อนของเชื้อราที่ผิวเมล็ดพันธุ์ได้ใกล้เคียงกัน แต่ดีกว่าเมล็ดพันธุ์ที่ฉีดพ่นด้วยตัวทำละลายที่มีส่วนผสมของ ethanol แสดงว่าสารสกัดจากพืชทั้งสองชนิดมีสารเคมีที่ออกฤทธิ์ที่แม้ว่าจะไม่ใช่สารเคมีชนิดเดียวกัน แต่มีประสิทธิภาพในการควบคุมการเจริญเติบโตของเชื้อราได้ไม่แตกต่างกัน เมื่อนำเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองทุกชุดการทดลองมาบ่มบนกระดาษเพาะที่ปนเปื้อนสปอร์เชื้อรา *A. flavus* พบว่า เมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองทุกชุดการทดลองปนเปื้อนเชื้อรา *A. flavus* 100 เปอร์เซ็นต์แต่ไม่พบเชื้อราชนิดอื่น ๆ การที่สารสกัดทั้งสองชนิดไม่สามารถยับยั้งการเข้าทำลายของสปอร์เชื้อรา *A. flavus* ที่อยู่บนวัสดุปลูกได้อาจจะเป็นผลเนื่องจากสารออกฤทธิ์ในสารสกัดทั้งสองชนิดที่เคลือบอยู่บนผิวเมล็ดไม่ได้สัมผัสกับสปอร์เชื้อราที่ปนเปื้อนในกระดาษเพาะโดยตรงจึงทำให้ประสิทธิภาพของสารเคมีในการกำจัดเชื้อรา *A. flavus* ลดลง

สำหรับสารออกฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา และแบคทีเรียที่สำคัญในสารสกัดตะไคร้คือ Citral พบมากถึง 70 เปอร์เซ็นต์ (Paranagama, 2003), geranial (50 เปอร์เซ็นต์) และ neral (29.4 เปอร์เซ็นต์) (Velluti และคณะ, 2004) สอดคล้องกับ Palhano *et al.* (2004) พบว่าสารสกัดตะไคร้ที่ความเข้มข้น 0.75 มิลิกรัมต่อมิลิลิตร สามารถลดการงอกของสปอร์เชื้อรา *Collectotrichum gloeosporioides* ได้ นอกจากนี้ยังสามารถลดการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Fusarium moniliforme Botryodiplodia theobromae A. niger* และ *A. flavus* ได้เช่นเดียวกัน (Nwachukwu and Umechuruba, 2001) สำหรับสารสกัดช้าพลูซึ่งประกอบด้วยสารประกอบในกลุ่มเอไมด์เป็นหลัก (Rukachaisrikul *et al*., 2004) ยังไม่มีการรายงานผลของสารประกอบในกลุ่มนี้ต่อการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์โดยตรง อย่างไรก็ตามจากการรายงานของ Sacchetti *et al.* (2005) พบว่าสารสกัดจาก *P. crassinervium* ซึ่งเป็นพืชในวงศ์เดียวกันสามารถลดการเจริญเติบโตของยีสต์ *Rhodotorala glutinis* ATCC 16740 และ *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 2365 และสารสกัดจาก *P. guineense* สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ *Pseudomonas aeruginosa* UCH 655 (Oyedeji *et al*., 2005) ได้ จากการทดลองสามารถสรุปได้ว่าสารสกัดช้าพลูมีสารออกฤทธิ์ที่สามารถลดการเจริญของเชื้อราได้ นอกจากนี้มีการรายงานว่าสารสกัดช้าพลูมีสารประกอบฟีโนลิกในปริมาณมาก จึงอาจจะช่วยส่งเสริมการยับยั้งการเจริญเติบโต ส่วนกลไกการทำลายของสารเคมีต่อเชื้อจุลินทรีย์มีรายงานว่า สารเคมีผลทำให้เซลล์เมมเบรนเสียหาย จึงทำให้เกิดการรั่วไหลของไอออนหรือของเหลวต่าง ๆ ออกมานอกเซลล์ (Piper *et al*., 2001)

สารสกัดทั้งสองชนิดไม่มีผลต่อความงอกของเมล็ดพันธุ์ แต่ยังเพิ่มเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดพันธุ์ให้เพิ่มขึ้นเล็กน้อย (Table 1) โดยเมล็ดพันธุ์ที่ฉีดพ่นสารสกัดตะไคร้มีเปอร์เซ็นต์ความงอกสูงที่สุด สอดคล้องกับ Bankole and Joda (2004) กล่าวว่าสารสกัดตะไคร้ความเข้มข้น 0.5% (v/w) ไม่มีผลต่อความงอกของเมล็ดพันธุ์เมลอน (*Colocynthis citrullus* L.) และยังช่วยให้ความงอกเพิ่มขึ้นเล็กน้อย ในทางตรงกันข้ามสารสกัดทั้งสองชนิดทำให้ดัชนีการงอกของเมล็ดพันธุ์ลดลงมากกว่าเมล็ดพันธุ์ที่ไม่ได้ฉีดพ่นสารสกัด (Table 1) ทั้งนี้อาจเนื่องจากสารสกัดทั้งสองชนิดมีองค์ประกอบของน้ำมันผสมอยู่จึงอาจมีผลต่อการดูดน้ำของเมล็ดพันธุ์ในช่วงแรก หรือสารเคมีในสารสกัดทั้งสองชนิดอาจมีผลทำให้ปฏิกิริยาชีวเคมีของเมล็ดพันธุ์ช้าลง จึงส่งผลต่อความงอกของเมล็ดพันธุ์ด้วย แต่อย่างไรก็ตามเมล็ดพันธุ์สามารถงอกเป็นต้นกล้าปกติได้ภายใน 8 วัน เมื่อพิจารณาการอยู่รอดของต้นกล้าพบว่า เมล็ดพันธุ์ที่ฉีดพ่นด้วยสารสกัดตะไคร้ให้เปอร์เซ็นต์การอยู่รอดของต้นกล้าที่เพาะบนกระดาษเพาะที่มีสปอร์ของเชื้อรา *A. flavus* มากที่สุดคือ 50 เปอร์เซ็นต์ สูงกว่าสารสกัดช้าพลูและชุดควบคุมซึ่งให้ผลไม่แตกต่าง (Table 2) แสดงว่าสารออกฤทธิ์ในสารสกัดตะไคร้มีประสิทธิภาพในการกระตุ้นให้เมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองเกิดกลไกในการป้องกันตัวเองดีกว่า จึงทำให้ต้นกล้าแข็งแรงกว่า และอยู่รอดได้มากกว่าเมล็ดพันธุ์ที่ฉีดพ่นด้วยสารสกัดช้าพลู

Table 1 Effect of plant extracts on total fungal contamination, germination and germination index of soybean seed

Treatments	%Total fungal contamination	%Germination	Germination index
Control	42.00	75.00	5.14
Solvent	40.50	67.25	4.57
Lemongrass extract	21.50	78.50	2.84
Piperaceae extract	20.16	79.83	3.38

Table 2 Effect of plant extracts on *A. flavus* contamination and seedling survival of soybean seed growth on blotter towel inoculated with *A. flavus* spore suspension

Treatments	%Contamination	%Seedling Survival
Control	100	44.00
Solvent	100	43.25
Lemongrass extract	100	50.00
Piperaceae extract	100	45.34

สรุป

การฉีดพ่นเมล็ดถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 ด้วยสารสกัดตะไคร้ และใบช้าพลู สามารถลดการปนเปื้อนของเชื้อราทั้งหมดได้ดีกว่าชุดควบคุม และไม่มีผลต่อการงอกของเมล็ด สารสกัดตะไคร้ทำให้การอยู่รอดของต้นกล้าเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่เพาะบนกระดาษเพาะเมล็ดที่ปนเปื้อนด้วยสปอร์ของเชื้อรา *A. flavus* มากกว่าชุดการทดลองอื่น ๆ แม้ว่า เมล็ดพันธุ์มีการปนเปื้อนเชื้อรา *A. flavus* 100 เปอร์เซ็นต์ก็ตาม

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณสายวิชาเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว คณะทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยพระจอมเกล้าธนบุรี ที่ให้ความอนุเคราะห์ห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยวเมล็ดพืชและเมล็ดพันธุ์ และอุปกรณ์เครื่องมือต่าง ๆ

เอกสารอ้างอิง

ISTA, 1993, International rules for seed testing rules, Seed sci & technol., 21, Supplement.

Piper, P., Calderon, C.O., Hatzixanthis, K. and Mollapour, M., 2001, Weak acid adaptation: the stress response that confers resistance to organic acid food preservatives. Microbiology 147;2635–2642.

Mahmound, A.L.E., 1994, Antifungal action and antiaflatoxigenic properties of some essential oil constituents, Lett. Appl. Microbiol.,19;110– 113.

Rukachaisirikul, T., Siriwattanakit, P.,Sukcharoenphol, K.,Wongvein, C., Ruttanaweang, P., Wongwattanavuch, P. and Suksamrarn, A., 2004, Chemical constituents and bioactivity of *Piper sarmentosum*, Journal of Ethnopharmacology 93;173–176.

Paranagama, P.A., Abeysekera, K.H.T., Abeywickrama, K. and Nugaliyadde, L., 2003, Fungicidal and anti-aflatoxigenic effects of the essential oil of Cymbopogon citratus (DC.) Stapf. (lemongrass) against *Aspergillus flavus* Link. isolated from stored rice, Letters in Applied Microbiology 37;86– 90.

Velluti, A., Marin, S., Gonzalez, P., Ramos, A. J. and Sanchis, V., 2004, Initial screening for inhibitory activity of essential oils on growth of *Fusarium verticillioides, F. proliferatum and F. graminearum* on maize-based agar media, Food Microbiology, 21;649–656.

Palhano, F.L., Vilches, T.T.B., Santos, R.B., Orlando, M.T.D., Ventura, J.A. and Fernandes, P.M.B., 2004, Inactivation of Colletotrichum gloeosporioides spores by high hydrostatic pressure combined with citral or lemongrass essential oil, International Journal of Food Microbiology 95;61– 66.

Nwachukwu, E. O and Umechuruba, C.I., 2001, Antifungal Activities of Some Leaf Extracts on Seed-borne Fungi of African Yam Bean Seeds, Seed Germination and Seedling Emergence, J. Appl. Sci. Environ. Mgt., 5(1);29-32.

Sacchetti, G., Maietti, S., Muzzoli, M., Scaglianti, M., Manfredini, S., Radice, M. and Bruni, R., 2005, Comparative evaluation of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobials in foods, Food Chemistry 91; 621–632.

Bankole, S.A. and Joda, A.O.,2004, Effect of lemon grass (*Cymbopogon citratus* Stapf) powder and essential oil on mould deterioration and aflatoxin contamination of melon seeds (*Colocynthis citrullus* L.), African Journal of Biotechnology, 3 (1);52-59.

Rojas,J.J., Ochoa, V.J., Ocampo, S.A. and Muñoz, J.F., 2006, Screening for antimicrobial activity of ten medicinal plants used in Colombian folkloric medicine: A possible alternative in the treatment of non-nosocomial infections, BMC Complementary and Alternative Medicine, 6 (2);1-6.

Oyedeji, O. A., Adeniyi, B. A., Ajayi, O. and König, W. A., 2005, Essential oil composition of *Piper guineense* and its antimicrobial activity, Another chemotype from Nigeria, Phytotherapy Research 19 (4);362-364.