189686

จากการนำผลตะไคร้ต้นแก่มาสกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ทำให้ได้ปริมาณสารสกัดหยาบร้อยละ 12.80 เปอร์เซ็นต์ เมื่อนำสารสกัดหยาบดังกล่าวมาแยกองค์ประกอบด้วยวิธี Thin Layer Chromatography ที่มีตัวทำละลายประกอบด้วย เฮกเซน : เอทิล อะซิเตท : เมทานอล ในอัตราส่วน 90 : 10 : 1.5 จากนั้นนำมาตรวจสอบฤทธิ์ควบคุมเชื้อรา (TLC-bioassay) โดยใช้เชื้อรา *Cladosporium cladosporioides* พบสารออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อรา 2 ชนิด ที่มีค่า R_f เท่ากับ 0.12 – 0.20 และ 0.53 – 0.67 จากนั้นนำสารทั้ง 2 ชนิดมาตรวจสอบชนิดและปริมาณด้วยแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรมิเตอร์ พบว่า สารที่มีค่า R_f เท่ากับ 0.12 – 0.20 คือ สาร Benzoic acid, 4-hydroxy-, propyl ester ปริมาณ 21.75 เปอร์เซ็นต์ ส่วนสารที่มีค่า R_f เท่ากับ 0.53 – 0.67 คือ สาร Citral (geranial และneral) ปริมาณ 26.41 เปอร์เซ็นต์ เมื่อนำสารสกัดหยาบจากตะไคร้ต้นมาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Alternaria* sp. ด้วยวิธี Poission food technique ที่ระดับความเข้มข้น 5 ระดับคือ 0, 500, 1,000, 2,500 และ 5,000 ส่วนต่อล้านส่วน ปรากฏว่า สารสกัดหยาบจากตะไคร้ต้นที่ระดับความเข้มข้น 1,000 ส่วนต่อล้านส่วน สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราได้ 100 เปอร์เซ็นต์ เมื่อนำสารสกัดหยาบดังกล่าวมาพัฒนาเป็นสารชีวภาพกำจัดเชื้อราที่ประกอบด้วย สารสกัดหยาบจากตะไคร้ต้นผสมกับเอทานอล และ Tween 20 ในอัตราส่วน 0.1 : 2.00 : 0.04 แล้วนำมาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา พบว่า สารชีวภาพกำจัดเชื้อราจากตะไคร้ต้นสามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ที่ระดับความเข้มข้น 500 ส่วนต่อล้านส่วน และที่ระดับความเข้มข้น 300 ส่วนต่อล้านส่วน ยังสามารถยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อราได้ และเมื่อทำการศึกษาความคงสภาพของสารชีวภาพกำจัดเชื้อราที่ดัดแปลงมาจากการศึกษาความคงตัวของยาสภาพแบบเร่งที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส, อุณหภูมิห้อง (30 ± 5 องศาเซลเซียส) และ 60 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 4 เดือน พบว่าสารชีวภาพกำจัดเชื้อราจากตะไคร้ต้นที่ระดับความเข้มข้น 500 ส่วนต่อล้านส่วน ยังคงมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Alternaria* sp. ได้ โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง เท่ากับ 82.41, 66.11 และ 64.44 เปอร์เซ็นต์ เมื่อทำการเก็บรักษาสารชีวภาพกำจัดเชื้อราที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส, อุณหภูมิห้อง (30 ± 5 องศาเซลเซียส) และ 60 องศาเซลเซียส ตามลำดับ เมื่อนำสารชีวภาพกำจัดเชื้อราจากตะไคร้ต้นมาทดสอบฤทธิ์ในการควบคุมโรคในแปลงปลูก พบว่า มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคไม่แตกต่างกับสารแมนโคเซบและจุลินทรีธรรมชาติ (บาซิลลัสซับทีลิส) สารชีวภาพกำจัดเชื้อราจากตะไคร้ต้นไม่มีผลกระทบต่ออัตราการสังเคราะห์แสง, การยอมให้ก๊าซผ่านปากใบ, อัตราการคายน้ำ, ปริมาณคลอโรฟิลล์รวม และปริมาณ Total non-structural carbohydrate ของคะน้า ตลอดจนไม่มีผลกระทบต่อให้การเจริญเติบโตและผลผลิตของคะน้า ดังนั้นอัตราที่แนะนำให้ใช้สารชีวภาพกำจัดเชื้อราจากตะไคร้ต้นในแปลงปลูกคะน้า คือ ระดับความเข้มข้น 500 -1,000 ส่วนต่อล้านส่วน เพราะเนื่องจากว่ามีประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อราได้ และไม่มีผลเชิงลบต่อสรีรวิทยาและการเจริญเติบโตของคะน้า

Extraction of *Litsea cubeba* with ethanol 95% yielded the concentrated crude extract at 12.80 percent by weight. Thin Layer Chromatography-Bioassay of the crude extract using Hexane : Ethyl acetate : Methanol (90 : 10 : 1.5) as running phase and *Cladosporium cladosporioides* as tested fungi showed two clear zones (fractions) at R_f 0.12 – 0.20 and at 0.53 – 0.67. The further studies using Gas Chromatography –Mass Spectrometry (GC-MS) identified the major substance contained in the first fraction as Benzoic acid, 4-hydroxy propyl ester (21.75%) and in the second fraction as Citral (geranial and neral) (26.41%). Poison food technique was used for study the efficiency of crude extract to control *Alternaria* sp. by comparing the concentration of crude extract in potato dextrose agar at 0, 500, 1,000, 2,500 and 5,000 ppm. The result revealed that *Litsea cubeba* crude extract at only 1,000 ppm could completely (100%) inhibit the mycelium growth. After formulation by mixing with ethanol and Tween 20 (0.01 : 2.00 : 0.04), the product was again tested with poison food technique. The result confirmed the lower concentration of 500 ppm to completely control *Alternaria* sp. mycelium and at only 300 ppm to inhibit spore germination. The product was then tested for stability by keeping under 4, 30 ± 5 and 60 celsius for upto 4 month before tested with *Alternaria* sp. . The kept product could control mycelium growth at 82.41, 66.11 and 64.44 percent respectively. By field trials with Chinese Kale, product also showed a similar good result to control vegetable disease as Mancozeb and *Bacillus subtilis*, by which no side effects on photosynthesis, transpiration, stomatal conductance, total chlorophyll content, and total nonstructural carbohydrate (TNC) were observed. Therefore, the recommended concentration for field application was of 500 – 1,000 ppm by which a high efficiency to control alternative could be achieved without any negative effect on physiology and growth of plants.