

Thesis Title Antifungal Activity of Extracts from *Houttuynia cordata* and *Eupatorium odoratum* on *Colletotrichum capsici* and *Fusarium oxysporum* in Chili

Author Miss Sontaya Puttawong

Degree Master of Science (Biotechnology)

Thesis Advisor Asst. Prof. Dr. Sasitorn Wongroung

ABSTRACT

The appropriate condition for extraction of Plucao and Sabsua was investigated. Crude extract from the plant was collected by water distillation and solvent extraction method using ethanol and hexane. The suitable ratio of fresh leaves/solvent was tested at 1:5, 1:7.5, 1:10 w/v. It was found that maximal volume of crude extracts was obtained at the ratio of 1:10. Monitoring of crude extract from Sabsua and Plucao for their major component and active fraction was conducted by TLC analysis and TLC bioassay. The result showed that separation of Sabsua and Plucao extract in 15: 5 ratio (dichloromethane per methanol) for mobile phase gave maximal of 3 fractions and retention factor of inhibited zone on *Colletotrichum capsici* and *Fusarium oxysporum* by TLC–bioassay showed that Sabsua extract gave two active inhibition zone with R_f value of 0.33 - 0.59, 0.73 - 0.93 on *C. capsici* and

R_f value of 0.20 – 0.54, 0.70 – 0.90 on *F. oxysporum*. Plucao extract gave one active inhibition zone with R_f value of 0.13 – 0.47 on *C. capsici* and R_f value of 0.39 – 0.58 on *F. oxysporum* respectively. The effect of plant extracts from Sabsua and Plucao for spore germination and mycelium growth inhibition of *C. capsici* and *F. oxysporum* was conducted by paper disc diffusion assay and poison food technique. It was found that the plant extract at a ratio of plant and solvent of 1:5 (g/ml) gave the highest inhibition on *C. capsici* and *F. oxysporum* compared with extraction ratio of 1:7.5 and 1:10 (g/ml). Extraction of Sabsua and Plucao by 95 % ethanol was the most effective method to inhibit growth of *C. capsici* and *F. oxysporum* compared with water and hexane. The spore germination and mycelium growth inhibition of *C. capsici* and *F. oxysporum* was also studied in potato dextrose agar mixed with plant extracted at 0.1, 0.5 and 1.0% (v/v) concentration. It was found that 1.0% (v/v) of Sabsua extract showed highest spore germination at 53.64% for *C. capsici* and highest mycelium growth at 55.21% for *C. capsici*. Minimal inhibition concentration of Sabsua and Plucao extracts on spore germination was 0.010% on *C. capsici* and 0.020% on *F. oxysporum*. Minimal inhibition concentration of mycelium growth from Sabsua extract was 0.010% on *C. capsici* and *F. oxysporum*. Minimal inhibition concentration of mycelium growth from Plucao extract was 0.010% on *C. capsici* and 0.020% on *F. oxysporum*. The study on efficacy of Sabsua extracts to control anthracnose and fusarium wilt was conducted on chili fruit and chili seedling. The result showed that Sabsua extract gave lower disease incidence (PDI) at 43.33% in chili fruits and 46.67% in chili seedling after the fungal spore inoculation compare with the control.

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์

กิจกรรม การยับยั้งเชื้อ *Colletotrichum capsici* และ

Fusarium oxysporum ของสารสกัดจาก *Houttuynia*

cordata และ *Eupatorium odoratum* ในพริก

ผู้เขียน

นางสาว สนธยา พุทธวงศ์

ปริญญา

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ศศิธร วงศ์เรือง

บทคัดย่อ

การหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารจากใบพลูคาวและใบสาบเสือ โดยการสกัดสารด้วยวิธีการกลั่นด้วยน้ำ และการสกัดด้วยตัวทำละลาย โดยใช้อ ethanol และเอเกเซน จากการทดลอง ใช้อัตราส่วนของใบพลูคัดต่อตัวทำละลาย 1: 5, 1:7.5 และ 1:10 กรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าสารสกัดจากใบสาบเสือและใบพลูคาวที่สกัดโดยใช้อัตราส่วน 1:10 ในทุกตัวทำละลาย จะให้สารสกัดปริมาณสูงสุด จากการวิเคราะห์หาสารเคมีและบริเวณที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อรากของสารสกัดจากสาบเสือ และพลูคาวโดยวิธี TLC และ TLC-bioassay พบว่าในการวิเคราะห์การแยกสารด้วยวิธี TLC ที่ตัวพาชันดีคลอโรเมเทน ต่อ เมทานอล ในอัตราส่วน 15 : 5 มิลลิลิตรต่อ มิลลิลิตร ปรากฏแถบเดี่ยวที่สุด 3 แถบ และเมื่อนำสารสกัดไปทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อรากเหตุโกรกในพริกได้แก่ *Colletotrichum capsici* และ *Fusarium oxysporum* โดยวิธี TLC bioassay พบว่า สารสกัดจากสาบเสือสามารถยับยั้งเชื้อรา *C. capsici* ได้โดยจะปรากฏแถบยับยั้ง 2 แถบคือ ที่ R_f 0.33 - 0.59, 0.73 - 0.93 และเชื้อรา *F. Oxysporum* ที่ R_f 0.20 – 0.54, 0.70 – 0.90 ส่วนสารสกัดจากพลูคาวจะปรากฏแถบยับยั้งเชื้อรา *C. capsici* แถบเดียวที่ R_f 0.13 – 0.47 และเชื้อรา *F. Oxysporum* ที่ R_f 0.39 – 0.58 สำหรับผลของการสกัดจากสาบเสือและพลูคาวเพื่อยับยั้งการออกสปอร์และการเจริญของเส้นใยของเชื้อ *C. capsici* และ *F. oxysporum* โดยวิธี paper disc diffusion assay และวิธีพิสูจน์สารสกัดลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ พบว่าผลจากวิธี paper disc diffusion assay นั้นสารสกัดที่สกัดโดยใช้อัตราส่วนพืชต่อตัวทำละลายที่ 1 : 5 กรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งการออกสปอร์และการเจริญของเส้นใยของเชื้อรา *C. capsici* และ *F. oxysporum* ได้ดีที่สุด เมื่อเทียบกับที่อัตราส่วน 1:7.5, 1:10 กรัมต่อมิลลิลิตร นอกจากนี้สารสกัดจากสาบเสือและพลูคาวที่สกัดโดยใช้อ ethanol 95 เปอร์เซ็นต์ ให้ผล

Colletotrichum capsici และ *Fusarium oxysporum* โดยวิธี TLC bioassay พบว่า สารสกัดจากสาบเสือสามารถยับยั้งเชื้อรา *C. capsici* ได้โดยจะปรากฏแถบยับยั้ง 2 แถบคือ ที่ R_f 0.33 - 0.59, 0.73 - 0.93 และเชื้อรา *F. Oxysporum* ที่ R_f 0.20 – 0.54, 0.70 – 0.90 ส่วนสารสกัดจากพลูคาวจะปรากฏแถบยับยั้งเชื้อรา *C. capsici* แถบเดียวที่ R_f 0.13 – 0.47 และเชื้อรา *F. Oxysporum* ที่ R_f 0.39 – 0.58 สำหรับผลของการสกัดจากสาบเสือและพลูคาวเพื่อยับยั้งการออกสปอร์และการเจริญของเส้นใยของเชื้อ *C. capsici* และ *F. oxysporum* โดยวิธี paper disc diffusion assay และวิธีพิสูจน์สารสกัดลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ พบว่าผลจากวิธี paper disc diffusion assay นั้นสารสกัดที่สกัดโดยใช้อัตราส่วนพืชต่อตัวทำละลายที่ 1 : 5 กรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งการออกสปอร์และการเจริญของเส้นใยของเชื้อรา *C. capsici* และ *F. oxysporum* ได้ดีที่สุด เมื่อเทียบกับที่อัตราส่วน 1:7.5, 1:10 กรัมต่อมิลลิลิตร นอกจากนี้สารสกัดจากสาบเสือและพลูคาวที่สกัดโดยใช้อ ethanol 95 เปอร์เซ็นต์ ให้ผล

การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *C. capsici* และ *F. oxysporum* ได้ดีที่สุดเมื่อเทียบกับ เอกเซนและนำส่วนผลจากวิธีผสมสารสกัดลงในอาหาร PDA ที่ความเข้มข้น 0.1 , 0.5 และ 1.0 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตร/ปริมาตร) พบร้าสารสกัดจากสาบเลือกต่อเชื้อ *C. capsici* ที่ความเข้มข้น 1.0 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งการออกสปอร์ได้ดีที่สุด เท่ากับ 53.64 เปอร์เซ็นต์ และยับยั้งการเจริญของเส้นใยได้ 55.21 เปอร์เซ็นต์ การหาค่าต่ำสุดในการยับยั้งการออกสปอร์พบว่าสารสกัดจากสาบเลือกและพลุคาวที่ความเข้มข้น 0.010 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตร/ปริมาตร) สามารถยับยั้งการออกสปอร์ของเชื้อ *C. capsici* และที่ 0.020 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตร/ปริมาตร) สามารถยับยั้งการออกสปอร์ของเชื้อ *F. oxysporum* ได้ตามลำดับ สำหรับค่าต่ำสุดของสารสกัดจากสาบเลือกในการยับยั้งการเจริญเส้นใยของเชื้อรา พบร้าที่ความเข้มข้น 0.010 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตร/ปริมาตร) สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยของเชื้อรา *C. capsici* และ *F. oxysporum* ได้ ส่วนค่าต่ำสุดของสารสกัดจากพลุคาวในการยับยั้งการเจริญเส้นใย พบร้าที่ความเข้มข้น 0.010 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตร/ปริมาตร) สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยของเชื้อรา *C. capsici* และที่ 0.020 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตร/ปริมาตร) สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยของเชื้อรา *F. oxysporum* ได้ตามลำดับ ในกรณีทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากสาบเลือกพบว่าชุดที่พ่นสารสกัดจากสาบเลือกในการควบคุมโรคแอนแทคโนสและโรคเที่ยวในพริก พบร้าชุดที่พ่นสารสกัดจากสาบเลือกกับผลพริกมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคต่ำเท่ากับ 43.33% และกับต้นกล้าพริกเท่ากับ 46.67% ภายหลังจากการปลูกสปอร์ของเชื้อราสาดเหตุ โรคพืชเมื่อเทียบกับชุดควบคุม