การศึกษาประสิทธิภาพของ nano – elicitors จากเชื้อรา *Chaetomium* spp. ในการควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าในทุเรียนพันธุ์ก้านยาว

Efficacy of nano elicitors from *Chaetomium* spp. to control root rot disease of Durian Kan-yao variety.

นาย ดนุภัทร ทองคำ

DANUPAT THONGKHAM

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเกษตรศาสตร์

คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2563

KMITL-2020-AG-M-065-322

การศึกษาประสิทธิภาพของ nano – elicitors จากเชื้อรา *Chaetomium* spp. ในการควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าในทุเรียนพันธุ์ก้านยาว

Efficacy of nano elicitors from *Chaetomium* spp. to control root rot disease of Durian Kan-yao variety.

นาย ดนุภัทร ทองคำ

DANUPAT THONGKHAM

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเกษตรศาสตร์

คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2563

KMITL-2020-AG-M-XXX-XXX

Efficacy of nano elicitors from *Chaetomium* spp. to control root rot disease of Durian Kan-yao variety.

DANUPAT THONGKHAM

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT

OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF

MASTER OF SCIENCE IN AGRICULTURE

FACULTY OF AGRICULTURAL TECHNOLOGY

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

2020

KMITL-2020-AG-M-XXX-XXX

COPYRIGHT 2020

FACULTY OF AGRICULTURAL TECHNOLOGY

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การศึกษาประสิทธิภาพของ nano – elicitors จากเชื้อรา *Chaetomium* spp. ในการควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าในทุเรียนพันธุ์ก้านยาว
นักศึกษา	นายดนุภัทร ทองคำ
รหัสประจำตัว	60604003
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา	เกษตรศาสตร์
พ.ศ.	2563
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	รศ.ดร.เกษม สร้อยทอง

บทคัดย่อ

การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *Chaetomium cupreum, Chaetomium elatum,* และ *Chaetomium lucknowense* ในการควบคุมเชื้อรา *Phytophthora palmivora* ที่เป็นเชื้อราสาเหตุของโรครากเน่าโคนเน่าในทุเรียน ด้วยวิธีเลี้ยงเชื้อบนอาหารร่วม, สารสกัดจากเชื้อรา และ nano – elicitors จากเชื้อรา *Chaetomium* spp. ทั้งในห้องปฏิบัติการและกระถางทดลอง พบว่าการทดสอบประสิทธิภาพเชื้อรา *Ch. lucknowense* มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเส้นใยและการสร้างสปอร์สูงที่สุด ด้วยวิธีเลี้ยงเชื้อบนอาหารร่วม และในการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากเชื้อรา *Chaetomium* spp. ในการควบคุมเชื้อรา *P. palmivora* พบว่า ที่ความเข้มข้น 1000 ppm สารสกัดจากเชื้อรา *Ch. cupreum* ที่สกัดด้วย methanol มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อรา *P. palmivora* ได้สูงที่สุด มีค่า ED_{50} เท่ากับ 35.15 ppm รองลงมา คือ สารสกัดจากเชื้อรา *Ch. elatum* ที่สกัดด้วย ethyl acetate และสารสกัดจากเชื้อรา *Ch. lucknowense* ที่สกัดด้วย methanol โดยมีค่า ED_{50} เท่ากับ 35.31 และ 68.16 ppm ตามลำดับ สำหรับการทดสอบประสิทธิภาพ nano - elicitors จากเชื้อรา *Chaetomium* spp ที่ความเข้มข้น 15 ppm พบว่าการใช้ nano - elicitors จากเชื้อรา *Ch. cupreum* ที่สกัดด้วย methanol มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อรา *P. palmivora* ได้สูงที่สุด มีค่า ED_{50} เท่ากับ 3.81 ppm รองลงมา คือ nano - elicitors จากเชื้อรา *Ch. lucknowense* ที่สกัดด้วย ethyl acetate และสารสกัดของเชื้อรา *Ch. elatum* ที่สกัดด้วย methanol มีค่า ED_{50} เท่ากับ 5.35 และ27.61 ppm ตามลำดับ เมื่อนำ nano - elicitors จากเชื้อรา *Chaetomium* spp. มาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อรา *P. palmivora* ในสภาพกระถางทดลอง พบว่า ประสิทธิภาพของการฉีดพ่นด้วย nano - elicitors จากเชื้อรา *Ch. cupreum, Ch. elatum, Ch. lucknowense* และสารเคมี metalaxyl มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าที่เกิดจากเชื้อรา *P. palmivora* ในทุเรียนได้ดีอีกด้วย

Thesis	Efficacy of nano elicitors from *Chaetomium* spp. to control root rot disease of Durian Kan-yao variety.
Student	Mr. Danupat Thongkham
Student ID.	60604003
Degree	Master of Science
Program	Agriculture
Year	2020
Thesis Advisor	Asst. Prof. Dr. Kasem Soytong

ABSTRACT

Testing antagonistic fungi *Chaetomium cupreum, Chaetomium elatum* and *Chaetomium lucknowense* to control the *Phytophthora palmivora* causing root rot of durian by dual culture method, Crude extract test and nano elicitors were conducted. Bi-culture test showed that *Ch. lucknowense* gave significantly highest against *P. palmivora*. Crude extracts of antagonistic fungi were tested for antifungal biological activities. The crude extracts from antagonistic fungi with hexane, ethyl acetate and methanol were tested against *P. palmivora*. Crude methanol from *Ch. cupreum* gave significantly highest against pathogen of *P. palmivora* at the concentration of 1000 ppm which the ED_{50} of 35.15 ppm, and followed by crude ethyl acetate from *Ch. elatum* and crude methanol from *Ch. lucknowense* which the ED_{50} values were 35.31 and 68.16 ppm, respectively. Testing nano elicitors of antagonistic fungi were tested for antifungal biological activities. The results showed nano elicitor from *Ch. cupreum* gave significantly highest against *P. palmivora* at the concentration of 15 ppm which the ED_{50} of 3.81 ppm, and followed by nano elicitor from *Ch. lucknowense* and nano elicitor from *Ch. elatum* which the ED_{50} values were 5.35 and 27.61 ppm, respectively. Testing nano elicitors from antagonistic fungi gave effectively to control the *P. palmivora* causing root rot of durian in pot experiment. The nano elicitors from *Ch. cupreum, Ch. elatum,Ch. lucknowense* and metalaxyl gave high control root rot of durian.

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์เล่มนี้สำเร็จได้ด้วยความกรุณาจากอาจารย์ที่ปรึกษารศ.ดร.เกษม สร้อยทองที่ให้ความช่วยเหลือ ให้คำชี้แนะช่วยแก้ปัญหาตลอดจนให้ความรู้และประการณ์ที่ดีแก่ข้าพเจ้า

ขอขอบคุณ คุณรุจิรา ทองอ่อน คุณ JiaoJiao Song ที่ให้คำปรึกษาความช่วยเหลือในการทำวิทยานิพนธ์

ขอขอบคุณ คุณมงกุฎกานต์ อุดมพงษ์สุข ที่คอยให้ความช่วยเหลือในการทำวิทยานิพนธ์ การเก็บผลการทดลอง วิเคราะห์ผลการทดลอง และคอยให้กำลังใจตลอดมา

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณ บิดา มารดา และครอบครัวเป็นอย่างสูงที่ได้ให้โอกาสทางการศึกษาให้แก่ข้าพเจ้า ไม่ว่าจะเป็นค่าศึกษาเล่าเรียน การให้กำลังใจจนทำให้ข้าพเจ้าสามารถทำวิทยานิพนธ์สำเร็จได้ด้วยดี

ดนุภัทร ทองคำ

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....I

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....II

กิตติกรรมประกาศ.....III

สารบัญ.....IV

สารบัญตาราง.....VII

สารบัญภาพ.....VIII

บทที่ 1 บทนำ.....1

1.1 ความสำคัญของวิทยานิพนธ์.....1

1.2 วัตถุประสงค์ของการศึกษา.....2

1.2.1 เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของ nano – elicitors จากเชื้อรา *Chaetomium* spp. ในการควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าของส้มเขียวหวานในสภาพห้องปฏิบัติการ.....2

1.2.2 เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของ nano – elicitors จากเชื้อรา *Chaetomium* spp. ในการควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าของส้มเขียวหวานในกระถางทดลอง.....2

1.2.3 เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของ nano – elicitors จากเชื้อรา *Chaetomium* spp. ในการกระตุ้นให้พืชเกิดความต้านทานต่อโรครากเน่าโคนเน่าในส้มเขียวหวาน.....2

1.3 ขอบเขตโครงการวิจัย.....3

บทที่ 2 ตรวจเอกสาร.....3

2.1 ประวัติของทุเรียน…….....3

2.2 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์.....3

2.3 พันธุ์ทุเรียนในประเทศไทย…….....4

2.4 โรคและแมลงที่สำคัญในส้มเขียวหวาน.....5

2.4.1 โรครากเน่าโคนเน่า.....5

2.4.2 โรคราสีชมพู.....5

2.4.3 โรคใบติดหรือใบไหม้.….....5

2.4.4 โรคแอนแทรกโนส.....6

2.4.5 โรคใบจุดสาหร่าย…….....6

2.4.6 โรคดอกเน่าดำ.....6

2.4.7 โรคราแป้ง.....6

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

2.4.8 โรคแผลเน่า.....6
2.4.9โรคราดำ…….....6
2.5 การศึกษาการควบคุมเชื้อรา Phytophthora spp.....7
บทที่ 3 อุปกรณ์ และวิธีการ.....10
3.1 การแยกเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียน…….....10
3.1.1 วิธี baiting.....10
3.1.2 วิธี tissue transplanting 10
3.1.3 วิธี soil plate…….....10
3.2 การศึกษาสัณฐานวิทยา (morphology) 11
3.2.1 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อราสาเหตุโรค.....11
3.2.2 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Chaetomium* spp.....11
3.3 การตรวจสอบเชื้อด้วยลำดับนิวคลิโอไทด์.....11
3.3.1 การสกัดดีเอ็นเอ.....11
3.3.2 เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิค polymerace chain reaction (PCR).....12
3.3.3 การตรวจสอบผลิตภัณฑ์ที่ได้จากกระบวนการ PCR ด้วยเทคนิค agarose gel electrophoresis.....12
3.3.4 การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์.....12
3.4 การทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรค (pathogenicity test) 13
3.4.1 การทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดอาการรากเน่าโคนเน่าบนใบ.....13
3.4.2 การทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดอาการรากเน่าโคนเน่าบนต้น.....13
3.5 การทดสอบด้วยการเลี้ยงเชื้อบนอาหารร่วม (bi-culture test).....14
3.6 การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดเชื้อรา *Chaetomium* spp. ในห้องปฏิบัติการ (crude extract test).....14
3.7 การทดสอบประสิทธิภาพของ nano – elicitors เชื้อรา *Chaetomium* spp. ในห้องปฏิบัติการ.....15
3.8 การทดสอบประสิทธิภาพของ nano – elicitors จากเชื้อรา Chaetomium spp. ในกระถางทดลอง….....15
3.9 การตรวจสอบหา phytoalexin.....16

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

บทที่ 4ผลการทดลอง.....17
4.1 การแยกเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียน.....17
4.2 การศึกษาสัณฐานวิทยา(morphology).....17
3.2.1 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อราสาเหตุโรค.....17
4.2.2 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Chaetomium* spp.....18
4.3 การตรวจสอบเชื้อด้วยลำดับนิวคลิโอไทด์.....21
4.4 การทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรค (pathogenicity test).....22
4.4.1 การทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดอาการรากเน่าโคนเน่าบนใบ.....22
4.4.2 การทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดอาการรากเน่าโคนเน่าบนต้น.....22
4.5 การทดสอบด้วยการเลี้ยงเชื้อบนอาหารร่วม (bi-culture test).....23
4.6 การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดเชื้อรา *Chaetomium* spp. ในห้องปฏิบัติการ (crude extract test).....26
4.7 การทดสอบประสิทธิภาพของ nano – elicitors เชื้อรา *Chaetomium* spp. ในห้องปฏิบัติการ.....38
4.8 การทดสอบประสิทธิภาพของ nano – elicitors จากเชื้อรา *Chaetomium* spp. ในกระถางทดลอง.....50
4.9 การตรวจสอบหา phytoalexin.....60
วิจารณ์ผลการทดลอง.....61
บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง.....64
เอกสารอ้างอิง.....66
ประวัติผู้เขียน.....68

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

4.1 ไอโซเลทและวิธีการแยกเชื้อ ของเชื้อราสาเหตุโรคที่แยกได้.....17

4.2 การทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคของเชื้อรา *P. palmivora* บนใบทุเรียน…….....22

4.3 ผลจากการทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคบนต้นทุเรียน.....22

4.4 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *Chaetomium* spp. ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใย และสปอร์ของเชื้อรา *P. palmivora* ด้วยวิธี bi – culture.....24

4.5 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากเชื้อรา *Ch. cupreum* ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *P. palmivora*.....27

4.6 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากเชื้อรา *Ch. elatum* ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *P. palmivora*.....31

4.7 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากเชื้อรา *Ch. lucknowense* ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *P. palmivora*.....35

4.8 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของ nano – elicitors จากสารสกัดเชื้อรา Ch. cupreum ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *P. palmivora*.....39

4.9 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของ nano – elicitors จากสารสกัดเชื้อรา *Ch. elatum* ในการยับยั้งการการเจริญของเชื้อรา *P. palmivora*.....43

4.10 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของ nano – elicitors จากสารสกัดเชื้อรา *Ch. lucknowense* ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *P.palmivora*.....47

4.11 ระดับการเกิดโรคเฉลี่ยของต้นทุเรียนที่ทำการทดสอบประสิทธิภาพของ nano – elicitors จากเชื้อรา *Chaetomium* spp. เดือนที่ 1 – 7 ในกระถางทดลอง……...……...51

4.12 ความสูงเฉลี่ยของต้นทุเรียนที่ทำการทดสอบประสิทธิภาพของ nano – elicitors จากเชื้อรา *Chaetomium* spp. เดือนที่ 1 – 7 ในกระถางทดลอง…….....52

สารบัญภาพ

ภาพที่ หน้า

4.1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *P. palmivora* ….....18

4.2 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ *Ch. cupreum*.....19

4.3 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ *Ch. elatum*.....19

4.4 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ *Ch. lucknowense*….....20

4.5 Phylogenetic tree ของเชื้อรา *P. palmivora*.....21

4.6 การทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคบนใบทุเรียน…….....22

4.7 การทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคบนต้นทุเรียน.....23

4.8 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *Ch. cupreum* ในการยับยั้งการเจริญ
ของ *P. palmivora* ด้วยวิธี bi – culture.....24

4.9 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *Ch. elatum* ในการยับยั้งการเจริญ
ของ *P. palmivora* ด้วยวิธี bi – culture …….....25

4.10 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *Ch. lucknowense* ในการยับยั้งการเจริญ
ของ *P. palmivora* ด้วยวิธี bi – culture …….....25

4.11 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดเชื้อรา *Ch. cupreum* ที่สกัดด้วย hexane
ในการยับยั้งการเจริญของ *P. palmivora*.....28

4.12 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดเชื้อรา *Ch. cupreum* ที่สกัดด้วย ethyl acetate
ในการยับยั้งการเจริญของ *P. palmivora*.....29

4.13 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดเชื้อรา *Ch. cupreum* ที่สกัดด้วย methanol
ในการยับยั้งการเจริญของ *P. palmivora*.....29

4.14 เปรียบเทียบลักษณะของ sporangia.....30

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่ หน้า

4.15 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดเชื้อรา *Ch. elatum* ที่สกัดด้วย hexane ในการยับยั้งการเจริญของ *P. palmivora*.....32
4.16 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดเชื้อรา *Ch. elatum* ที่สกัดด้วย ethyl acetate ในการยับยั้งการเจริญของ *P. palmivora*.....33
4.17 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดเชื้อรา *Ch. elatum* ที่สกัดด้วย methanol ในการยับยั้งการเจริญของ *P. palmivora*.....33
4.18 เปรียบเทียบลักษณะของ sporangia.....34
4.19 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดเชื้อรา *Ch. lucknowense* ที่สกัดด้วย hexane ในการยับยั้งการเจริญของ *P. palmivora*.....36
4.20 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดเชื้อรา *Ch. lucknowense* ที่สกัดด้วย ethyl acetate ในการยับยั้งการเจริญของ *P. palmivora*.....37
4.21 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดเชื้อรา *Ch. lucknowense* ที่สกัดด้วย methanol ในการยับยั้งการเจริญของ *P. palmivora*.....37
4.22 เปรียบเทียบลักษณะของ sporangia.....38
4.23 ผลการทดสอบการยับยั้งการเจริญของ *P. palmivora* โดยใช้ nano – elicitors จากสารสกัดเชื้อรา *Ch. cupreum* ที่สกัดด้วย hexane.....40
4.24 ผลการทดสอบการยับยั้งการเจริญของ *P. palmivora* โดยใช้ nano – elicitors จากสารสกัดเชื้อรา *Ch. cupreum* ที่สกัดด้วย ethylacetate.....41
4.25 ผลการทดสอบการยับยั้งการเจริญของ *P. palmivora* โดยใช้ nano – elicitors จากสารสกัดเชื้อรา *Ch. cupreum* ที่สกัดด้วย methanol.....41
4.26 เปรียบเทียบลักษณะของ sporangia.....42
4.27 ผลการทดสอบการยับยั้งการเจริญของ *P. palmivora* โดยใช้ nano – elicitors จากสารสกัดเชื้อรา *Ch. elatum* ที่สกัดด้วยhexane.....44
4.28 ผลการทดสอบการยับยั้งการเจริญของ *P. palmivora* โดยใช้ nano – elicitors จากสารสกัดเชื้อรา *Ch. elatum* ที่สกัดด้วย ethylacetate.....45
4.29 ผลการทดสอบการยับยั้งการเจริญของ *P. palmivora* โดยใช้ nano – elicitors จากสารสกัดเชื้อรา *Ch. elatum* ที่สกัดด้วย methanol.....45
4.30 เปรียบเทียบลักษณะของ sporangia.....46

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่ หน้า

4.31 ผลการทดสอบการยับยั้งการเจริญของ *P. palmivora* โดยใช้ nano – elicitors
จากสารสกัดเชื้อรา *Ch. lucknowense* ที่สกัดด้วยhexane.....48
4.32 ผลการทดสอบการยับยั้งการเจริญของ *P. palmivora* โดยใช้ nano – elicitors
จากสารสกัดเชื้อรา *Ch. lucknowense* ที่สกัดด้วย ethylactate.....49
4.33 ผลการทดสอบการยับยั้งการเจริญของ *P. palmivora* โดยใช้ nano – elicitors
จากสารสกัดเชื้อรา *Ch. lucknowense* ที่สกัดด้วยmethanol.....49
4.34 เปรียบเทียบลักษณะของ sporangia.....50
4.35 ต้นทุเรียนที่ทำการทดสอบประสิทธิภาพของ nano – elicitors
จากสารสกัดเชื้อรา *Chaetomium* spp. เป็นระยะเวลา 1 เดือน.....53
4.36 ต้นทุเรียนที่ทำการทดสอบประสิทธิภาพของ nano – elicitors
จากสารสกัดเชื้อรา *Chaetomium* spp. เป็นระยะเวลา 2 เดือน.....54
4.37 ต้นทุเรียนที่ทำการทดสอบประสิทธิภาพของ nano – elicitors
จากสารสกัดเชื้อรา *Chaetomium* spp. เป็นระยะเวลา 3 เดือน.....55
4.38 ต้นทุเรียนที่ทำการทดสอบประสิทธิภาพของ nano – elicitors
จากสารสกัดเชื้อรา *Chaetomium* spp. เป็นระยะเวลา 4 เดือน.....56
4.39 ต้นทุเรียนที่ทำการทดสอบประสิทธิภาพของ nano – elicitors
จากสารสกัดเชื้อรา *Chaetomium* spp. เป็นระยะเวลา 5 เดือน.....57
4.40 ต้นทุเรียนที่ทำการทดสอบประสิทธิภาพของ nano – elicitors
จากสารสกัดเชื้อรา *Chaetomium* spp. เป็นระยะเวลา 6 เดือน.....58
4.41 ต้นทุเรียนที่ทำการทดสอบประสิทธิภาพของ nano – elicitors
จากสารสกัดเชื้อรา *Chaetomium* spp. เป็นระยะเวลา 7 เดือน.....59
4.42 โครมาโทแกรมของสารวัฏเคลื่อนที่ toluene : ethyl acetate, 1 : 1.....60

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความสำคัญของวิทยานิพนธ์

ทุเรียน (*Durio zibethinus* Murr.) จัดอยู่ในวงศ์ Bambaceae ทุเรียนเป็นผลไม้เมืองร้อนที่เก่าแก่ มีถิ่นกำเนิดอยู่ในแถบเอเชียตอนใต้ ทุเรียนเป็นผลไม้ที่มีคุณค่าทางอาหารสูงมากทั้งในด้านไขมันที่ให้พลังงานความร้อน โปรตีน คาร์โบไฮเดรต และแร่ธาตุต่าง ๆ ที่มีประโยชน์ อีกทั้งยังมีรสชาติและกลิ่นที่เป็นเอกลักษณ์ ทุเรียนจึงเป็นไม้ผลเศรษฐกิจที่สำคัญชนิดหนึ่งของประเทศไทย จึงจัดให้ทุเรียนเป็นราชาแห่งผลไม้ (king of fruit) ประเทศไทยเป็นแหล่งผลิตทุเรียนที่มีคุณภาพสูง ในแต่ละปีจะมีรายได้จากการส่งออกทุเรียนไปยังตลาดต่างประเทศเป็นมูลค่าสูงมาก ปัจจุบันมีการปลูกทุเรียนทั่วทุกภาคของประเทศ รวมพื้นที่ปลูก 581,659 ไร่ โดยจะให้ผลผลิตรวม 517,955 ตัน และจะมีแนวโน้มสูงขึ้นเรื่อย ๆ (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2559) จากข้อมูลแสดงให้เห็นแล้วว่า ประเทศไทยเป็นแหล่งผลิตทุเรียนรายใหญ่ของโลก อีกทั้งเป็นผลไม้ส่งออกที่มีศักยภาพการผลิตและมีแนวโน้มที่ดีในการส่งออก ส่งผลดีต่อเกษตรกรไทยในอาชีพทำสวนทุเรียน โดยส่วนใหญ่พื้นที่ที่มักพบการปลุกทุเรียนมากอยู่ในเขตภาคตะวันออกของประเทศ ได้แก่ จันบุรี ระยอง ชลบุรี และตราด ในภาคใต้ ได้แก่ ชุมพร สุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราช ปัญหาที่สำคัญในการผลิตทุเรียนคือปัญหาทางด้านโรคพืชที่สร้างความเสียหายให้กับทุเรียนโดยเฉพาะในช่วงฤดูฝน เนื่องจากมีฝนตกชุก มีการระบายน้ำที่ไม่ดี ทำให้มีการแพร่ระบาดของโรครากเน่าโคนเน่าที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *Phytophthora palmivora* ทำให้เกิดความเสียหายต่อต้นทุเรียนอย่างมาก เนื่องจากทุเรียนที่เป็นโรครากเน่าโคนเน่าจะทำให้ต้นทุเรียนมีการทรุดโทรมและตายในที่สุด นอกจากนั้นโรคนี้ยังแพร่ระบาดไปยังต้นอื่นๆ ผ่านทางดินได้อีกด้วย

สำหรับการควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าส่วนใหญ่มักใช้สารเคมีจำพวก etridiazole, fosetyl-Al, phosphonic และmetalaxyl (Ferrin and Kobashima, 1991) ในการป้องกันกำจัดเชื้อรา ซึ่งหากใช้สารเคมีในปริมาณมาก และติดต่อกันเป็นเวลานาน ส่งผลให้เชื้อราเกิดการกลายพันธุ์และมีความต้านทานต่อสารเคมี จากปัญหาดังกล่าวส่งผลให้เกษตรกรมีต้นทุนค่าใช้จ่ายจากการซื้อสารเคมีเพื่อกำจัดเชื้อราสาเหตุโรคเพิ่มสูงขึ้น รวมทั้งก่อให้เกิดการสะสมของสารพิษในสภาพแวดล้อม ตัวเกษตรกร และผู้บริโภค จึงริเริ่มมีการศึกษาวิจัยถึงการควบคุมโรคโดยใช้ nano – elicitors จากเชื้อราต่อต้านในการป้องกันกำจัดโรครากเน่าโคนเน่าในระยะยาว (Joselito and Soytong, 2014)

1.2 วัตถุประสงค์ของการศึกษา

1.2.1 เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของ nano – elicitors จากเชื้อรา *Chaetomium* spp. ในการยับยั้ง การเจริญเติบโตของเชื้อรา *Phytophthora palmivora* สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าในสภาพห้องปฏิบัติการ

1.2.เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของ nano – elicitors จากเชื้อรา *Chaetomium* spp. ในการยับยั้ง การเจริญเติบโตของเชื้อรา *Phytophthora palmivora* สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าในสภาพกระถางทดลอง

1.2.3 เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของ nano – elicitor จากเชื้อรา *Chaetomium* spp. ในการกระตุ้นให้พืชเกิดความต้านทานต่อโรครากเน่าโคนเน่าในทุเรียน

1.3 ขอบเขตของโครงการวิจัย

1.3.1 สถานที่ดำเนินการ

ห้องปฏิบัติการราวิทยา ตึกเห็ดรา สาขาเทคโนโลยีการผลิตพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ

1.3.2 ระยะเวลาที่ทำการวิจัย

2 ปี 4 เดือน

บทที่ 2
ตรวจเอกสาร

2.1 ประวัติของทุเรียน (พันธิตร์ มะลิสุวรรณ, 2549)

สันนิษฐานว่าถิ่นเดิมของทุเรียนก่อนที่จะแพร่เข้ามาในประเทศไทยนั้น มีอยู่แถบเมืองทะวาย มะริด และตะนาวศรีของพม่า แล้วจึงเข้ามาสู่ประเทศไทย 2 ทาง คือ เข้ามากับกองทัพที่พระบาทสมเด็จพระพุทธยอดฟ้าจุฬาโลกครั้งที่พระองค์เสด็จยกกองทัพไปตีเมืองมะริดและตะนาวศรีเมื่อปี พ.ศ. 2330 ได้พบทุเรียน เมื่อรับประทานแล้วเห็นว่ารสชาติอร่อยดีจึงได้นำเอาเมล็ดทุเรียนเข้ามาปลูกในกรุงเทพ ดังนั้นจึงปรากฏว่าทุเรียนมีอายุประมาณ 100 – 150 ปีขึ้นไป และอีกสันนิษฐานเชื่อกันว่าทุเรียนเข้ามาจาก ทะวาย มะริด และตะนาวศรีของพม่าเช่นกัน แต่แพร่อยู่ทางใต้ก่อนโดยทางเรือสินค้า จึงเข้าใจว่าทุเรียนที่นำมาปลูกในกรุงเทพสมัยนั้นได้มาจากจังหวัดนครศรีธรรมราช

2.2 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ (พันธิตร์ มะลิสุวรรณ, 2549)

ลำต้น ทุเรียนเป็นไม้ยืนต้นขนาดใหญ่ มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 6 - 24 นิ้ว ความสูงตั้งแต่ 70 - 80 ฟุต เปลือกแข็งสีเทาแก่ เป็นสะเก็ดขรุขระ มีรอยแตกเป็นทางยาว เป็นประเภทไม้เนื้ออ่อน มีกิ่งออกจากลำต้นโดยรอบสลับทิศทางกัน

ใบ พืชใบเลี้ยงคู่ชนิดใบกว้าง เป็นแบบเดียว ขนาดกว้าง 2 - 3 นิ้ว ยาว 6 - 8 นิ้ว ปลายใบแหลม มีก้านใบสีน้ำตาลยาวประมาณ 1 นิ้ว บนใบสีเขียวแก่ถึงเขียวเข้ม ใต้ใบเป็นสีน้ำตาล เมื่อยังอ่อนอยู่จะพับครึ่งตามยาวของก้านกลางใบติดต่อกันอยู่ เมื่อใบเริ่มแก่จะค่อยๆคลี่ออกมาเรื่อยๆ เส้นใบของทุเรียนสานกันเป็นร่างแห

ดอก ดอกทุเรียนมีลักษณะคล้ายระฆัง มีส่วนของดอกครบถ้วนและเป็นดอกสมบูรณ์เพศ มีรังไข่อยู่เหนือส่วนอื่นของดอก มักออกดอกเป็นช่อ ในช่อหนึ่งมีตั้งแต่ 1- 30 ดอก ดอกรวมอยู่กันเป็นพวง พวงหนึ่งมี 1 - 8 ดอก

ผล เปลือกหนา มีหนามแหลมแข็งเป็นรูปพีรามิดตลอดผล ทรงผลมีมากมายหลายแบบ เช่น กลมรี ก้นป้าน กลมท้ายตัด เป็นต้น ผลมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 15 - 20 เซนติเมตร ยาว 25 - 35 เซนติเมตร

ราก ทุเรียนเป็นพันธุ์ไม้ที่มีรากหาอาหารตามผิวดินจนถึงระดับ 5 เซนติเมตร มีรากพิเศษที่เกิดจากบริเวณโคนต้นอยู่มากมายตามผิวดิน ส่วนรากแขนงที่เกิดจากรากแก้วนั้นหาได้ยากมาก ตามผิวของรากทุกประเภทมีตาซึ่งพร้อมที่จะเจริญเป็นรากได้เสมอ ทุเรียนไม่มีรากขนอ่อน รากแก้วของทุเรียนทำหน้าที่ยึดลำต้น ส่วนรากแขนงและรากฝอยทำหน้าที่หาอาหารและช่วยยึดลำต้น

2.3 พันธุ์ทุเรียนในประเทศไทย (พันธิตร์ มะลิสุวรรณ, 2549)

พันธุ์หมอนทอง เป็นทุเรียนหนึ่งที่นิยมปลูกกันมาก เพราะเป็นที่ต้องการของตลาดและขายได้ราคาดี เป็นพันธุ์ที่อยู่ในตระกูลลวง กิ่งตั้งฉากกับลำต้น กิ่งมีแขนงยาว ลักษณะใบยาวปลายใบเรียวเด่นชัดกว่าพันธุ์อื่น ดอกมีรูปทรงค่อนข้างยาว ส่วนกว้างสั้นกว่าส่วนยาว ก้านดอกสั้นประมาณ 3 – 4 เซนติเมตร ผลมีขนาดใหญ่ยาวประมาณ 30 เซนติเมตร เนื้อหนา สีเนื้อเหลืองอ่อนมากแต่ไม่ถึงกับซีด เมล็ดค่อนข้างเล็ก เนื้อไม่แฉะ ทุเรียนพันธุ์หมอนทองมีข้อเสียบางอย่าง คือ อ่อนแอ เป็นโรคง่าย

พันธุ์ก้านยาว ลักษณะเด่นเป็นพิเศษ คือ มีก้านยาวกว่าพันธุ์อื่น ๆ ประมาณ 14 เซนติเมตร ลักษณะลำต้นกลมสูงชะลูด เปลือกสีน้ำตาลมีสะเก็ดบ้างเล็กน้อย กิ่งยาวมากทรงพุ่มเป็นรูปกรวย ใบใหญ่ปลายใบเรียว ใบเขียวมัน ดอกเป็นรูปไข่ยาวรี ปลายดอกแหลม โคนดอกเรียว ตรงกลางดอกโป่ง ก้านดอกยาวมากเห็นได้ชัด ทรงผลกลม เนื้อละเอียด รสหวานมันกลมกล่อม กลิ่นน้อย เปลือกค่อนข้างหนา เนื้อหนา เมล็ดเต็มมากกว่าเมล็ดลีบ พูชัดเจน ทุกพูขนาดเท่ากัน ความเจริญของพูดีเท่ากันทุกผล

พันธุ์ทองย้อยฉัตร มีต้นกำเนิดมาจากพันธุ์ทองย้อยเดิม เพาะขึ้นที่ตำบลนาคสีทอง จังหวัดนนทบุรี ตั้งชื่อว่าทองย้อยฉัตรตามชื่อของผู้เพาะและทุเรียนพันธุ์เดิมรวมกัน ทรงพุ่มคล้ายรูปฉัตร ใบค่อนข้างใหญ่และหนา แผ่นใบด้านบนสีเขียวเข้ม เป็นมัน แผ่นใบหนา ด้านใต้ใบมีสีน้ำตาลบรอนซ์ แผ่นใบหนาเป็นคลื่นห่าง ๆ เห็นได้ชัด เส้นกลางใบใหญ่นูน ผลทรงอ้วนป้อมมีขนาดปานกลาง บริเวณขั้วผล ปุ่มลงเล็กน้อย ก้นผลย้อยออกมาไม่แหลม ซึ่งเป็นลักษณะประจำพันธุ์ ตรงจุดศูนย์กลางของก้นผลปุ่มลงเป็นหลุมตื้นๆ มีรอยร่องของเส้นกลางพูมาบรรจบกันที่จุดศูนย์กลางเห็นได้ชัด

พันธุ์กบแม่เฒ่า เพาะได้จากเมล็ดทุเรียนการะเกดแม่เฒ่า ขนาดผลโตปานกลาง เนื้อละเอียดรสหวานฉ่ำ เนื้อสีจำปาจัด มักมีเมล็ดลีบเกือบทุกพู

พันธุ์ชะนี ลักษณะลำต้นตรงสูงพอประมาณ ทรงพุ่ม ค่อนข้างแคบทึบ ใบมีขนาดเล็กมาก โคนใบมน แผ่นใบหนาและกรอบแข็ง ใบค่อนข้างเรียบมีสีเขียวด้านไม่มัน ด้านหลังมีสีเขียวอ่อนปนน้ำตาล ลักษณะผลกลมยาว กลางผลป่อง หัวเรียวก้นป้าน หนามใหญ่สั้นห่างแต่ตามร่องพูเป็นหนามเล็ก

พันธุ์กบเล็บเหยี่ยว ลำต้นตั้งตรงสูงชะลูด ทรงพุ่มแคบคล้ายต้นสน ใบมีขนาดใหญ่หนา โคนใบแคบ ใบห่อขึ้นเล็กน้อย ด้านหน้าใบสีเขียวแก่เข้มเป็นมัน หลังใบสีน้ำตาลปนแดง ก้านใบยาวสีน้ำตาลอมแดง ขนาดของผลค่อนข้างใหญ่และป้อม ทรงผลเป็นแบบดอกบัวหลวง

พันธุ์ลวง เป็นพันธุ์ทุเรียนดั้งเดิมและเป็นพันธุ์ต้นกำเนิดของพันธุ์ใหม่ๆ เช่น พันธุ์ชะนี ลักษณะของพันธุ์นี้ทรงไม่ค่อยสูงนัก ทรงพุ่ม ค่อนข้างกว้างทำให้ดูเตี้ย ขนาดของใบค่อนข้างใหญ่ แผ่นใบหนา เป็นคลื่นแบบลูกฟูก หลังใบสีน้ำตาลอ่อนอมเขียวเป็นเงาคล้ายสีบรอนซ์ หลังใบสีน้ำตาลปนแดง ก้านกลางใบเป็นร่องใหญ่มีสีเขียวอมขาว เส้นใบนูน ผลคอนข้างยาวหัวท้ายมน

2.4 โรคและอาการผิดปกติ ในทุเรียน (พันธิตร์ มะลิสุวรรณ, 2549)

โรคและแมลงเป็นอุปสรรคในการผลิตทุเรียน ตั้งแต่เริ่มปลูกจนถึงเวลาออกดอกติดผล ก็จะพบการเข้าทำลายมากขึ้นตามอายุของต้น การปลูกทุเรียนในลักษณะเป็นพื้นที่แปลงใหญ่ ปัญหาเรื่องโรคและแมลงก็จะมามากขึ้นและอาจเกิดการระบาดรุนแรงได้ โรคแมลงบางชนิดแม้ไม่เกิดความเสียหายรุนแรงในระยะแรก แต่เมื่อปล่อยสะสมไว้นานๆ อาจกลายเป็นปัญหาที่สำคัญได้ ดังนั้น การปลูกทุเรียนในยุคปัจจุบันจึงควรที่จะวางแผนกำหนดการป้องกันโรคและแมลงไว้เพื่อจะได้ไม่เกิดความเสียหายต่อผลผลิต

2.4.1 โรครากเน่าโคนเน่า

โรครากเน่าโคนเน่า เกิดจากเชื้อรา *Phytophthora palmivora* ซึ่งอาศัยและแพร่ระบาดทางดิน ในสภาพที่มีฝนตกชุก จะมีการระบาดรุนแรง เชื้อราเข้าทำลายระบบรากหรือลุกลามเข้าสู่โคนต้นจะมีลักษณะฉ่ำน้ำ และมีร่องรอยน้ำทะลักออกมา เมื่อใช้มีดปาดจะพบน้ำส่งกลิ่นเหม็น เนื้อเยื่อเปลือกและเนื้อไม้เน่าเป็นสีน้ำตาลเข้มลุกลามออกไปรอบต้นหรือขึ้นสู่ลำต้น พร้อม ๆ กับแสดงอาการยอดเหลือง ในบริเวณปลายกิ่งใบร่วงมาก ต้นที่เป็นโรคถ้าขาดการดูแลรักษาก็จะยืนต้นตายภายในเวลาอันสั้น Suzui และคณะ (1979) รายงานลักษณะของเชื้อรา *P. palmivora* สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่า ของทุเรียนไว้ดังนี้ คือ เส้นใยมีขนาด 3.6 x 5.7 ไมโครเมตร ผนังเรียบ sporangiophore เรียวยาว แตกกิ่งก้านแบบ sympodial หรือไม่แน่นอน มีความกว้าง 2.3 - 4.5 ไมโครเมตร sporangium รูปร่างแบน ovate หรือ elongate elliptical ขนาด 35 - 115 x 23 - 46 ไมโครเมตร สัดส่วนความยาวต่อความกว้างของ sporangium เป็น 1.6 : 1 ส่วนปลายของ sporangium มี papilla ผนังหนา 4.7 ไมโครเมตร pedicel ยาว 2.3 - 4.5 ไมโครเมตร sporangium เมื่อแก่จะหลุดออกจากกัน บริเวณปลายเส้นใยสร้าง chlamydospore รูปร่างกลมขนาด 25 - 42 ไมโครเมตร ผนังเรียบและบาง สืบพันธุ์แบบอาศัยเพศเป็น heterothallic สร้าง oogonium รูปร่างกลม ผนังบางขรุขระ ขนาด 20 - 28 ไมโครเมตร มีสีเหลืองถึงสีทอง antheridium เป็นแบบ amphigynous รูปร่างกลม ขนาดเฉลี่ย 13 x 13 ไมโครเมตร oospore เจริญเกือบเต็ม oogonium ขนาดเฉลี่ย 22 ไมโครเมตร ผนังหนา 2.1 ไมโครเมตร สีเหลืองถึงสีเหลืองน้ำตาล

2.4.2 ราสีชมพู

ราสีชมพู เกิดจากเชื้อรา *Corticium* sp. ลักษณะอาการเชื้อราทำลายบริเวณง่ามกิ่ง โคนกิ่ง และสร้างเส้นใยสีขาวแกมชมพูคลุมผิวกิ่งขยายลุกลามไปตามกิ่ง เมื่อถากเปลือกดูจะพบเนื้อไม้เปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้ม ส่วนยอดที่ถูกทำลายจะแสดงอาการใบเหลือง ในร่วง เชื้อรา ทำให้ยอดตายเป็นกิ่ง ๆ เชื้อราแพร่ระบาดได้ดีในสภาพที่มีอากาศชุ่มชื้นมีฝนตกชุก

2.4.3 โรคใบติดหรือใบไหม้

โรคใบติดหรือใบไหม้ เกิดจากเชื้อรา *Rhizoctonia solani* ซึ่งแพร่ระบาดโดยอาศัยลมและเม็ดฝน ทำให้โรคลุกลามไปยังบริเวณอื่นๆ และต้นใกล้เคียง ทำให้ใบทุเรียนมีลักษณะคล้ายถูกน้ำร้อนลวกเป็นแผลลุกลามมีสีซีดและแห้งตาย ด้านใต้ใบจะพบกลุ่มเส้นใยของเชื้อราเจริญหนาแน่นคล้ายใยแมงมุม ซึ่งลุกลามสู่ใบใกล้เคียงทำให้ใบติดกันและมีเชื้อราเจริญยึดระหว่างใบอย่างเหนียวแน่นใบที่แห้งตายที่หลุดจากก้าน

ยังคงถูกยึดโดยเส้นใยของเชื้อรา ห้อยค้างกับกิ่งไม้ร่วงหล่นสู่พื้น เมื่อใบไม้ร่วงมากต้นพืชจะชะงักการเจริญเติบโต มักพบโรคในสภาพที่มีฝนตกสลับกับอากาศร้อน

2.4.4 โรคแอนแทรกโนส

โรคแอนแทรกโนส เกิดจากเชื้อรา *Collectortrichum zibethnium* ซึ่งแพร่ระบาดทางลมและฝน ทำให้ใบมีสีซีดเป็นหย่อม ๆ และต่อมาใบจะร่วงมาก ใบที่เป็นโรคก็จะเจริญเป็นใบแก่มีจุดซีดจางที่เกิดสองข้างใบ หรือเป็นจุดลุกลามบริเวณขอบใบมีขอบแผลสีน้ำตาลเข้ม บริเวณกลางจุดจะมีสีซีดขาว มีจุดดำ ๆ จากการขยายพันธุ์ของเชื้อรา (acervulus) เกิดกระจายทั่วไป โรคแอนแทรคโนสมีความรุนแรงในสภาพอากาศที่มีอากาศร้อนชื้น ทุเรียนช่วงอายุประมาณ 3 - 4 ปี หรือต่ำกว่า และสภาพสวนที่ทึบโรคจะระบาดได้ง่าย

2.4.5 โรคใบจุดสาหร่าย

โรคใบจุดสาหร่าย เกิดจากสาหร่าย *Cephaleuros viresscens* ซึ่งแพร่ระบาดในสภาพอากาศร้อนชื้น และไม่มีแสงแดด สาหร่ายเจริญบนใบเป็นจุดฟูสีเขียวแกมส้มหรือน้ำตาลเกิดกระจัดกระจายบนใบในปริมาณมาก มีผลในการยับยั้งการสังเคราะห์แสง ทำให้ต้นชะงักการเจริญเติบโตและผลิดอกออกผล

2.4.6 โรคดอกเน่าดำ

โรคดอกเน่าดำ เกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ทำให้ดอกทุเรียนระยะก่อนบาน เน่าดำ โดยสังเกตได้จากก้านดอกแห้งดำ หรือก่อนหน้านั้นดอกจะมีรอยซีดดำจางๆ ทำให้ดอกทุเรียนเน่าเสียหาย

2.4.7 โรคราแป้ง

โรคราแป้ง มีสาเหตุจากเชื้อรา *Oidium* sp. แพร่ระบาดทางลมเข้าทำลายทุเรียนตั้งแต่ระยะช่อดอก อาการของเชื้อรามีลักษณะคล้ายฝุ่นแป้งสีขาวเกิดกระจัดกระจายผิวผล ทำให้แลดูผิวไม่สะอาดจัดเป็นทุเรียนคุณภาพต่ำ รสชาติจืดกว่าปกติ

2.4.8 โรคแผลเน่า

โรคแผลเน่า มีสาเหตุจากเชื้อรา *P. palmivora* ซึ่งเป็นชนิดเดียวกับสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าแต่เชื้อราแพร่ระบาดทางอากาศโดยลม ฝน เข้าทำลายผลทุเรียนทำให้เป็นจุดซีดดำขยายโต ผลแตกและร่วง หรือเชื้อราพักตัวที่ผลไม่แสดงอาการของโรค เมื่อเก็บรักษาในสภาพอากาศอบอ้าวหรือร้อนชื้นจะแสดงอาการจุดเน่าขยายตัวอย่างรวดเร็ว ทำให้ทุเรียนผลเน่าระยะหลังเก็บเกี่ยวจำนวนมาก จึงเป็นปัญหาในการส่งออกด้วย มักถูกทำลายซ้ำเติมด้วยเชื้อรา *Botryodiplodia theoebromae* ทำให้ผลเน่าดำ ผลแตก เนื้อทุเรียนเป็นเต่าเผาสุกไม่สม่ำเสมอและเน่าเละ

2.4.9 โรคราดำ

โรคราดำ เกิดจากเชื้อรา *Meliola* sp. แพร่ระบาดในอากาศร้อนชื้นและอบอ้าว สารขับถ่ายของแมลง (Honeyew) เป็นอาการของราดำ จึงมีการระบาดภายหลังการเข้าทำลายของเพลี้ยแป้งทุเรียน หรือเพลี้ยหอยที่ดูดกินใบและกิ่ง ขับถ่ายสารดังกล่าวเกิดบนผลทุเรียนที่โตแล้ว และมีราดำเจริญเป็นคราบสีดำเกิดกระจัดกระจายบนผล ทำให้ผิวไม่สะอาด จัดเป็นทุเรียนที่คุณภาพต่ำส่งออกต่างประเทศไม่ได้

2.5 การศึกษาการควบคุมเชื้อรา *Phytophthora* spp.

Aukkasarakul *et al*. (2014) ศึกษาการใช้เชื้อรา *A. niger* , *A. tubingensis* ในการทดสอบการยับยั้งเชื้อรา สาเหตุโรคพืช *P. palmivora* ด้วยวิธี bi - culture พบว่า สามารถยับยั้งเชื้อรา *P. palmivora* ได้เท่ากับ 77.8 และ 45.8 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และสำหรับการยับยั้งเชื้อรา *P. palmivora* ด้วยวิธี poisoned food technique โดยนำ culture filtrate ที่กรองได้จากเชื้อรา *Aspergillus* spp. มาทำการทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *P. palmivora* ได้ 77.1 เปอร์เซ็นต์

Ferrin และ Kobashima (1991) มีการศึกษาประสิทธิภาพในการใช้สารเคมี metalaxyl ซึ่งเป็นสารเคมีประเภทดูดซึมซึ่งอยู่ในกลุ่ม acylalanines เป็นสารเคมี มีผลเจาะจงต่อเชื้อราในกลุ่มOomycetes และมีประสิทธิภาพสูงในการควบคุมโรคที่เกิดจากเชื้อรา *Phytophthora* spp. และ*Pythium* sp.

Hung *et al*. (2015a) การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *Ch. globosum*, *Ch. cupreum* และ *Ch. lucknowense* ในการยับยั้งเชื้อรา *P. palmivora* สาเหตุโรครากเน่าในส้มโอ โดยวิธี bi-culture สามารถยับยั้งได้ 61.0, 49.7 และ 59.2 เปอเซ็นต์ ตามลำดับ และการทดสอบประสิทธิภาพสารสกัดจากเชื้อรา *Ch. globosum*, *Ch. cupreum* และ *Ch. lucknowense* ที่สกัดด้วย hexane, EtOAc และMeOH ในการยับยั้งเชื้อรา *P. palmivora* จากการทดสอบประสิทธิภาพสารสกัดจากเชื้อรา *Ch. globosum* ที่สกัดด้วย methanol มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราได้ดีที่สุด มีค่า ED_{50} 2.3 ppm

Hung *et al*. (2015b) การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *Ch. globosum*, *Ch. cupreum* และ *Ch. lucknowense* ในการยับยั้งเชื้อรา *P. nicotianae* KA1 สาเหตุโรครากเน่าในส้ม โดยวิธี bi - culture สามารถยับยั้งได้ 50.6, 59.7 และ 52.5 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และการทดสอบประสิทธิภาพสารสกัดจากเชื้อรา *Ch. globosum*, *Ch. cupreum* และ *Ch. lucknowense* ที่สกัดด้วย hexane, EtOAc และMeOH ในการยับยั้งเชื้อรา *P. nicotianae* KA1 จากการทดสอบประสิทธิภาพสารสกัดจากเชื้อรา *Ch. globosum* และ *Ch. lucknowense* ที่สกัดด้วย hexane มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราได้ดีที่สุด มีค่า ED50 67.2 และ 101.4 ppm ตามลำดับ และจากการทดสอบประสิทธิภาพสารสกัดจากเชื้อรา *Ch. cupreum* ที่สกัดด้วย EtOAc มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราได้ดีที่สุด มีค่า ED_{50} 41.2 ppm

Intana *et al*. (2007) จากการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *T. harzianum* ทั้ง 4 สายพันธุ์ ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *P. palmivora* โดยวิธี bi culture พบว่าเชื้อรา *T. harzianum* ทุกสายพันธุ์สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *P. palmivora* ได้ โดยเฉพาะสายพันธุ์กลาย T-35-co4 มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งมากที่สุด คือ 82.2 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือสายพันธุ์กลาย T-35-co5, สายพันธุ์ดั้งเดิม T-35-wt และ T-CB-Pin-01 ยับยั้งได้ 80.50, 75.60 และ 57.80 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ จากการทดสอบเชื้อรา *T. harzianum* ทุกสายพันธุ์มีประสิทธิภาพสูงในการเจริญคลุมทับเส้นใยของเชื้อรา *P. palmivora* โดยเฉพาะสายพันธุ์กลาย T-35-co4 และ T-35-co5 มีเปอร์เซ็นต์การคลุมทับสูงเท่ากัน คือ ที่ 52.50 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่สายพันธุ์ดั้งเดิม T-35-wt และ T-CB-Pin-01 มีเปอร์เซ็นต์การคลุมทับที่ 36.25 และ 34.50 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

Jantasorn *et al*. (2016) ศึกษาการใช้สารสกัดจากเชื้อรา *Talaromyces flavus*, *Neosartorya fischeri* และ *Eurotium* sp. ที่ความเข้มข้น 1, 10, 100, 1000 และ 10000 ppm ในการยับยั้งเชื้อรา *P. palmivora* จากสารสกัดของเชื้อรา *T. flavus* สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *P. palmivora* ที่ความเข้มข้น 1000 และ 10000 ppm ที่ 20 และ 48 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ จากสารสกัดของเชื้อรา *N. fischeri* สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *P. palmivora* ที่ความเข้มข้น 1000 และ 10000 ppm ที่ 64.44 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และจากสารสกัดของเชื้อรา *Eurotium* sp. สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *P. palmivora* ที่ความเข้มข้น 100, 1000 และ 10000 ppm ที่ 5.56, 37.78 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

Joselito and Soytong (2014) การศึกษาโครงสร้างและลักษณะของสารออกฤทธิ์ที่ถูกสร้างขึ้นจากเชื้อรา *Chaetomium* sp. ในระดับอนุภาคนาโน โดยนำเชื้อรา *Ch. globosum* และ *Ch. cupreum* ไปสกัดเป็นสารสกัดหยาบโดยใช้ hexane และ ethyl acetate ในเครื่อง rotary evaporator แล้วนำสารสกัดที่ได้ไปเข้าเครื่อง electrospinning เพื่อทำให้สารสกัดของเชื้อรา *Ch. globosum* และ *Ch. cupreum* อยู่ในอนุภาคนาโน โดยทำการตรวจสอบลักษณะของผลิตภัณฑ์ที่ได้ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน

Nor Dalila *et al*. (2016) ศึกษาการใช้แบคทีเรียสายพันธุ์ B68, CD7, 8C และ CA21 มาทำการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *P. palmivora* ด้วยวิธี bi-culture พบว่าการใช้ส่วนผสมของแบคทีเรีย B68, CD7 และ 8C สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *P. palmivora* ได้สูงที่สุดถึง 62.29 เปอร์เซ็นต์

Sibounnavong *et al*. (2012) จากการทดสอบประสิทธิภาพในการใช้สารสกัดจากเชื้อรา *Ch. cupreum* ที่สกัดด้วย methanol ในการควบคุมเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* race 2 ที่ 1000 ppm สามารถยับยั้งการเจริญของโคโลนี และการสร้างสปอร์ได้ดีที่สุด เท่ากับ 35.00 และ 97.37 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยมีค่า ED_{50} เท่ากับ 2.65 ppm

Song and Soytong (2016) จากการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *Ch. elatum* ในการยับยั้งโรค rice blast ที่เกิดจากเชื้อรา *Pyricularia oryzae* โดยวิธี bi-culture พบว่าเชื้อรา *Ch. elatum* สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *P. oryzae* ได้ 60.44 เปอร์เซ็นต์ และสำหรับการทดสอบในการใช้สารสกัดจากเชื้อรา *Ch. elatum* ที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด ได้แก่ hexane, EtOAc และMeOH สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตเส้นใย และการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *P. oryzae* ได้เป็นอย่างดี

Soytong (2010) การใช้สารชีวภัณฑ์ *Chaetomium* sp. ในการยับยั้ง *P. palmivora* สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียน โดยทำการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *Ch. cupreum* strain CC6 ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *P. palmivora* ได้ 64.77 เปอร์เซ็นต์ ด้วยวิธี bi-culture ในสภาพโรงเรือนการใช้สารชีวภัณฑ์ *Chaetomium* sp. มีประสิทธิภาพในการลดอัตราการเกิดโรคลงถึง 85.56 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมากกว่าการใช้สารเคมี metalaxyl ที่สามารถลดอัตราการเกิดโรคลงได้เพียง 71.68 เปอร์เซ็นต์

Soytong (2015) ได้ทำการศึกษาการใช้เชื้อรา *Ch. elatum* ChE01 เป็นเชื้อราควบคุมต่อเชื้อรา *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* ที่เป็นสาเหตุของโรคเหี่ยวมะเขือเทศ โดยทำ การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดและสาร Chaetoglobosin – C เพื่อศึกษาดูการยับยั้งของการสร้างสปอร์ของเชื้อรา

F. oxysporum f. sp. *lycopersici* โดยสารสกัดที่สกัดขึ้นทำการสกัดโดยใช้ hexane และ EtOAc มีค่า ED_{50} 0.65 และ 3.39 ppm ตามลำดับ และสาร Chaetoglobosin – C ซึ่งเป็นสารบริสุทธิ์ที่ถูกสร้างขึ้นจากเชื้อรา *Ch. elatum* ChE01 มีค่า ED_{50} 5.94 ppm หลังจากนั้นนำสาร Chaetoglobosin – C ไปทดสอบการยับยั้งเชื้อรา *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* ในสภาพแปลงปลูก พบว่าที่ 21 วันหลังการใช้สาร Chaetoglobosin – C ที่ความเข้มข้น 10, 50 และ 100 ppm ร่วมกับการปลูกเชื้อรา *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* ไม่พบอาการของโรค ซึ่งแตกต่างจากต้นที่ทำการปลูกเชื้อรา *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* เพียงอย่างเดียวที่มีอัตราการเกิดโรคและความรุนแรงในการเกิดโรคสูงมากขึ้นอย่างเห็นได้ชัด

Tann and Soytong (2016) จากการทดสอบประสิทธิภาพ nano – elicitor จากเชื้อรา *Ch. cupreum* ที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด ได้แก่ hexane, EtOAc และMeOH ในการยับยั้งการเจริญเติบโตเส้นใย และการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *Drechslera oryzae* ที่เป็นสาเหตุของโรคใบจุดในข้าว มีค่า ED_{50} เท่ากับ 6.41, 0.83 และ 7.81 ppm ตามลำดับ

บทที่ 3
อุปกรณ์ และวิธีการ

3.1 การแยกเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียนพันธุ์ก้านยาว

3.1.1 วิธี baiting

เก็บตัวอย่างดินบริเวณโคนของต้นทุเรียนที่มีอาการโรครากเน่าโคนเน่ามีความลึกประมาณ 15 - 30 เซนติเมตรจากผิวดิน ละลายดินกับน้ำกลั่นในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ คนให้ดินละลายเข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ให้ดินตกตะกอน ตัดใบทุเรียนก้านยาว ให้มีขนาด 3 × 3 มิลลิเมตร ปล่อยให้ใบไม้ลอยอยู่ที่บริเวณผิวน้ำเหนือดินที่ละลายไว้ บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 24 – 48 ชั่วโมง นำไปตรวจสอบใต้กล้องจุลทรรศน์ และเขี่ยเส้นใยเชื้อราที่กระจายตัวอยู่รอบใบไปลงในอาหารเลี้ยงเชื้อราที่เหมาะสมจนได้เชื้อที่บริสุทธิ์

3.1.2 วิธี tissue transplanting

เก็บตัวอย่างชิ้นส่วนพืชบริเวณโคนและรากของต้นทุเรียนที่เป็นโรค มาทำการแยกให้ได้เชื้อบริสุทธิ์ โดยฆ่าเชื้อที่บริเวณผิวนอกของชิ้นส่วนพืชที่เป็นโรค ด้วยการแช่ใน sodium hypochlorite 10 เปอร์เซ็นต์ นาน 1 นาที หลังจากนั้นใช้ปากคีบที่ฆ่าเชื้อแล้ว คีบชิ้นส่วนพืชไปล้างในน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ แล้วนำไปวางบนอาหาร water agar (WA) บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 - 36 ชั่วโมง เมื่อมีเส้นใยของเชื้อราเจริญออกมาจากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค ทำการแยกเชื้อโดยการตัดปลายเส้นใยของเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์ นำไปเลี้ยงไว้บนอาหาร PDA จนได้เชื้อที่บริสุทธิ์

3.1.3 วิธี soil plates

เก็บตัวอย่างดินบริเวณโคนต้นทุเรียนที่เป็นโรคจากแหล่งต่าง ๆ ทำการแยกให้ได้เชื้อบริสุทธิ์ โดยนำดินแต่ละตัวอย่าง บดให้ละเอียด โรยลงบนอาหาร glucose ammonium nitrate agar (GANA) บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อมีเส้นใยของเชื้อราเจริญออกมาจากดินที่โรยไว้ในตอนแรก ทำการแยกเชื้อโดยการตัดปลายเส้นใยของเชื้อราใต้กล้องจุลทรรศน์ นำไปเลี้ยงไว้บนอาหาร potato dextrose agar (PDA) จนได้เชื้อที่บริสุทธิ์

3.2 การศึกษาสัณฐานวิทยา (morphology)

3.2.1 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียน

นำเชื้อรา *P. palmivora* ที่ได้จากการแยกเชื้อ มาเลี้ยงบนอาหาร V8 บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง สังเกตการเจริญเติบโตของเชื้อรา ลักษณะโคโลนี และลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์

3.2.2 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Chaetomium* spp.

เลี้ยงเชื้อรา *Chaetomium cupreum*, *Chaetomium elatum*, และ *Chaetomium lucknowense* ที่ได้รับการอนุเคราะห์จาก รศ.ดร. เกษม สร้อยทอง บนอาหาร PDA บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง ที่แสงสามารถเข้าถึงได้ สังเกตการเจริญเติบโตของเชื้อ ลักษณะโคโลนีและลักษณะสำคัญของเชื้อรา ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ และทำการจัดจำแนกโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา

3.3 การตรวจสอบเชื้อด้วยลำดับนิวคลิโอไทด์

3.3.1 การสกัดดีเอ็นเอ

ทำการเลี้ยงเชื้อในอาหาร potato dextrose broth (PDB) เป็นเวลา 3 วัน ที่อุณหภูมิห้อง สกัดดีเอ็นเอด้วยวิธีการ CTAB (cetyl trimethyl ammonium bromide) โดยประยุกต์จากวิธีการของ Ivors (2015) ทำการล้างเส้นใยที่เลี้ยงในอาหาร PDB ด้วย 25 มิลลิโมลาร์ EDTA จากนั้นปั่นเหวี่ยงที่ 6000 รอบต่อนาที เทส่วนใสทิ้งแล้วล้างซ้ำ แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 6000 รอบต่อนาทีและเทส่วนใสทิ้งอีกรอบ บดส่วนของเส้นใยด้วยไนโตรเจนเหลวจนละเอียดเป็นผง ใส่ลงในหลอดทดลองขนาด 1.5 มิลลิลิตร เติม 2X CTAB buffer ปริมาตร 700 ไมโครลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 – 2 ชั่วโมง กลับหลอดทุก ๆ 15 นาที ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 นาที เติม chloroform : isoamyl alcohol (24 : 1) ปริมาตร 700 ไมโครลิตร กลับหลอดไปมาเบา ๆ ทันที นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 14000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที ที่ 4 องศาเซลเซียส ดูดสารละลายส่วนใสด้านบนใส่ในหลอดทดลองขนาด 1.5 มิลลิลิตร หลอดใหม่ เติมเอนไซม์ RNase A ความเข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 2 ไมโครลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที เติม 10% CTAB ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน เติม chloroform : isoamyl alcohol (24 : 1) ปริมาตร 700 ไมโครลิตร พลิกหลอดทันที และปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 14000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที ดูดสารละลายส่วนใสด้านบน ใส่หลอดทดลอง 1.5 มิลลิลิตร หลอดใหม่ เติม isopropanol ที่เย็น ปริมาตรเท่ากับส่วนใสที่ดูดมาได้ บ่มที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 14000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 นาที เทส่วนใสทิ้ง เก็บตะกอน แล้วล้างตะกอนดีเอ็นเอด้วยเอทานอล 70 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 1000 ไมโครลิตร ทิ้งไว้ 3 นาที ปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 14000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 นาที เทส่วนใสออก ล้างด้วย absolute ethanol ปริมาตร 1000 ไมโครลิตร ปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 14,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 นาที เทส่วนใสทิ้ง นำตะกอนที่ได้ บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที เพื่อระเหยเอทานอล เมื่อตะกอนดีเอ็นเอแห้ง ละลายตะกอนดีเอ็นเอด้วย TE

buffer ปริมาตร 20 ไมโครลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 – 3 ชั่วโมง เมื่อตะกอนละลายหมด เก็บสารละลายดีเอ็นเอที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

3.3.2 เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิค polymerace chain reaction (PCR)

ทำการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิค polymerase chain reaction (PCR) โดยเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอบริเวณ ITS1 – 5.8s – ITS2 ด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส โดยใช้ไพรเมอร์สากล คือ ITS6 และ ITS4 สารที่ใช้ในปฏิกิริยามีจำนวนทั้งหมด 20 ไมโครลิตร ประกอบด้วยดีเอ็นเอ 200 นาโนกรัม, dNTPs 1 ไมโครลิตร, ไพรเมอร์แต่ละไพรเมอร์ 1 ไมโครลิตร, เอ็นไซม์ Taq DNA polymerase 0.2 ไมโครลิตร (1 ยูนิต) และ 10X standard Taq reaction buffer ปริมาตร 2 ไมโครลิตร (1X) โดยมีสภาวะในกระบวนการ PCR (White *et al*., 1990 และ Cooke *et al*., 2000) ดังนี้

initial denaturation	ที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที	จำนวน 1 รอบ
denaturation	ที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที	จำนวน 30 รอบ
annealing	ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 นาที	
extension	ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 นาที	
final extension	ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที	จำนวน 1 รอบ

3.3.3 การตรวจสอบผลิตภัณฑ์ที่ได้จากกระบวนการ PCR ด้วยเทคนิค agarose gel electrophoresis

นำผลิตภัณฑ์ที่ได้จากกระบวนการ PCR มาตรวจสอบผลด้วยวิธี gel electrophoresis โดยใช้ 1% agarose gel เปิดเครื่องให้มีความต่างศักย์ 100 volt เป็นเวลา 30 นาที เทียบขนาดชิ้นส่วนดีเอ็นเอกับ marker ขนาด 100 bp จากนั้นย้อมเจลด้วย ethidium bromide เป็นเวลา 5 นาที แล้วล้างออกด้วยการแช่น้ำกลั่นเป็นเวลา 10 นาที นำเจลไปส่องดูชิ้นส่วนดีเอ็นเอภายใต้แสง ultraviolet

3.3.4 การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์

นำผลิตภัณฑ์ที่ได้จากกระบวนการ PCR ส่งบริษัทเพื่อวิเคราะห์ไปหาลำดับนิวคลีโอไทด์ (nucleotide sequence) จากนั้นนำข้อมูลที่ได้มาเปรียบเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์ในฐานข้อมูล GenBank โดยใช้ Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) และวิเคราะห์หาแผนภูมิความสัมพันธ์ (phylogenetic tree) โดยโปรแกรม Mega X (Neighbor-joining method, NJ)

3.4 การทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรค (pathogenicity test)

3.4.1 การทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคบนใบ

ทำการทดสอบการก่อโรคบนใบทุเรียนก้านยาวด้วยวิธี detached leaf ซึ่งประยุกต์วิธีการของ ธิติยา และคณะ (2556) เลี้ยงเชื้อรา *P. palmivora* บนอาหาร PDA เป็นเวลา 5 วัน จากนั้นใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร เจาะบริเวณขอบโคโลนีแล้วย้ายชิ้นวุ้นที่มีเชื้อสาเหตุโรคลงบนใบทุเรียนก้านยาว ที่ทำแผลด้วยปลายเข็มหมุดลนไฟฆ่าเชื้อใบละ 2 แผล การทดลองเปรียบเทียบ (control) ใช้อาหาร PDA ที่ปราศจากเชื้อก่อโรค ปฏิบัติเช่นเดียวกัน นำใบทุเรียนก้านยาวไปเก็บไว้ในสภาพ moist chamber วาง

แผนการทดลองแบบ completely randomized design (CRD) จำนวน 4 ซ้ำ เก็บผลการทดลองหลังจากการปลูกเชื้อไปได้ 3 วัน ทำการประเมินระดับการเกิดโรค เกณฑ์การแบ่งระดับอาการออกเป็น 3 ระดับ ดัดแปลงจากของ Soytong (2010)

ระดับที่ 1 = ไม่เกิดอาการของโรค

ระดับที่ 2 = ใบทุเรียนมีอาการเน่า 1 – 25 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่ใบ

ระดับที่ 3 = ใบทุเรียนมีอาการเน่า 25 – 50 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่ใบ

3.4.2 การทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคบนต้นทุเรียน

ทำการทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคบนต้นทุเรียนก้านยาวอายุ 6 เดือน โดยเตรียม sporangial suspension ที่ความเข้มข้น $3x10^5$ sporagia/ml (Soytong, 2010) ทำการล้างรากพืชให้สะอาดและตัดปลายราก 0.5 เซนติเมตร ด้วยกรรไกรที่ปราศจากเชื้อ นำต้นทุเรียนที่ตัดปลายรากแล้วไปแช่ใน sporangial suspension นาน 15 นาที แล้วจึงนำปลูกลงกระถาง เปรียบเทียบผลกับกระถางที่แช่รากพืชในน้ำกลั่นปราศจากเชื้อ วางแผนการทดลองแบบ randomized complete block design (RCBD) จำนวน 4 ซ้ำ เมื่อครบ 30 วัน ทำการประเมินการเกิดโรค โดยใช้เกณฑ์การแบ่งระดับอาการออกเป็น 6 ระดับ (ดัดแปลงจาก Soytong, 2010) ดังนี้

ระดับที่ 1 = พืชไม่เกิดอาการของโรค ใบพืชสีเขียวและเงา

ระดับที่ 2 = ใบมีสีเขียวแต่ไม่เงา

ระดับที่ 3 = ใบมีสีเหลือง และรากมีอาการเน่า 1 – 25 เปอร์เซ็นต์

ระดับที่ 4 = ใบเริ่มร่วง มีสีเหลือง และรากมีอาการเน่า 26 – 50 เปอร์เซ็นต์

ระดับที่ 5 = ใบร่วง มีสีเหลือง และรากมีอาการเน่า 51 – 75 เปอร์เซ็นต์

ระดับที่ 6 = ใบร่วง มีสีเหลือง และรากมีอาการเน่า 76 –100 เปอร์เซ็นต์

3.5 การทดสอบด้วยการเลี้ยงเชื้อบนอาหารร่วม (bi-culture test)

นำเชื้อราต่อต้านทั้ง 3 สปีชีส์ ได้แก่ *Ch. cupreum*, *Ch. elatum* และ *Ch. lucknowense* มาทดสอบการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *P. palmivora* สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าบนอาหารร่วม ทำการทดลองแบบ CRD จำนวน 4 ซ้ำ โดยเลี้ยงเชื้อราสาเหตุ บนอาหาร PDA เป็นเวลา 5 วัน จากนั้นใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร เจาะบริเวณขอบโคโลนี โดยเชื้อราต่อต้านก็ปฏิบัติเช่นเดียวกัน แล้วย้ายชิ้นวุ้นของเชื้อราต่อต้าน และเชื้อราสาเหตุโรควางบนอาหาร PDA ในลักษณะตรงข้ามกันให้มีระยะห่าง 5 เซนติเมตร และทำการเลี้ยงเชื้อราต่อต้านและเชื้อราสาเหตุโรคแยกเป็นโคโลนีเดี่ยวบนอาหาร PDA เพื่อเป็นการทดลองเปรียบเทียบ เสร็จแล้วนำไปบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง ทำการวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีและนับจำนวนสปอร์เมื่อเชื้อราเปรียบเทียบ เจริญเต็มบนผิวหน้าอาหาร PDA หลังจากนั้น คำนวณหาเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญเติบโต (growth inhibition, GI)

โดยใช้สูตร GI=(R1-R2)/R1 x 100

เมื่อ R1 = ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีหรือจำนวนสปอร์เชื้อราสาเหตุในการทดลองเปรียบเทียบ

R2 = ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีหรือจำนวนสปอร์เชื้อราสาเหตุโรคของจานอาหารเลี้ยงเชื้อร่วม

วิเคราะห์ค่าความแตกต่างโดยเปรียบเทียบ treatment mean แบบ duncan multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น P = 0.05

3.6 การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดเชื้อรา *Chaetomium* spp. ในห้องปฏิบัติการ (crude extract test)

เลี้ยงเชื้อราต่อต้าน *Ch. cupreum*, *Ch. elatum* และ *Ch. lucknowense* ในอาหาร potato dextrose broth (PDB) เป็นเวลา 30 วัน ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นกรองเอาแต่เส้นใยเชื้อราแล้วทำให้แห้ง นำไปแช่ในตัวทำละลาย hexane เป็นเวลา 5 วัน แล้วกรองแยกกากออกจากนั้นนำกากที่แยกออกแช่ใน ethyl acetate และ methanol ตามลำดับ ส่วนของสารละลายนำไประเหยเอาตัวทำละลายออกด้วยเครื่อง rotary evaporator จะได้สารสกัดออกมา (crude extract) นำสารที่ได้ไปทดสอบการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *P. palmivora* ทำการทดลองแบบ CRD ทั้งหมด 4 ซ้ำ โดยใช้ความเข้มข้นของสารสกัด ดังนี้ 0, 10, 50, 100, 500 และ 1000 ppm นำสารสกัดละลายด้วย 2% dimethylsulfoxide (DMSO) ผสมในอาหาร PDA แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อ หลังจากนั้นนำ cork borer เจาะขอบโคโลนีของเชื้อรา *P. palmivora* ที่เลี้ยงบนอาหาร PDA อายุ 5 วัน และนำไปวางบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมกับสารสกัดในแต่ละความเข้มข้น บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องเมื่อเชื้อราในการทดลองที่ความเข้มข้น 0 ppm เจริญจนเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ วัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี และนับจำนวนสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรค แล้วนำมาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใย การสร้างสปอร์ของเชื้อสาเหตุโรค ค่า effective dose (ED50) และวิเคราะห์ค่าความแตกต่างโดยเปรียบเทียบ treatment mean แบบ DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น P = 0.05

3.7 การทดสอบประสิทธิภาพของ nano – elicitors จากเชื้อรา *Chaetomium* spp. ในห้องปฏิบัติการ

ผลิต nano – elicitors ของเชื้อรา *Ch. cupreum*, *Ch. elatum* และ *Ch. lucknowense* ตามวิธีของ Jeselito และ Soytong (2014) ทำการทดลองแบบ CRD โดยใช้ความเข้มข้นของ nano – elicitors ดังนี้ 0, 3, 5, 10 และ 15 ppm ทำการทดลองทั้งหมด 4 ซ้ำ จากนั้นละลายด้วย DMSO บนเครื่องให้ความร้อน ผสมกับอาหาร PDA เติม chitosan ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 30 นาที แล้วนำอาหารผสม nano – elicitors ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว เทลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 เซนติเมตร หลังจากนั้นนำ cork borer เจาะขอบโคโลนีของเชื้อรา *P. palmivora* ที่เลี้ยงบนอาหาร PDA อายุ 5 วัน แล้วจึงนำไปวางบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่

ผสมกับ nano – elicitors ในแต่ละความเข้มข้น เมื่อโคโลนีเส้นใยของการทดลองเปรียบเทียบเจริญเต็มผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ วัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี และนับจำนวนสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรค แล้วนำมาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใย การสร้างสปอร์ของเชื้อสาเหตุโรค และค่า ED_{50} และวิเคราะห์ค่าความแตกต่างโดยเปรียบเทียบ treatment mean แบบ DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น P = 0.05

3.8 การทดสอบประสิทธิภาพของ nano – elicitors จากเชื้อรา *Chaetomium* spp. ในกระถางทดลอง

เตรียมต้นทุเรียนก้านยาวอายุ 6 เดือน นำมาปลูกลงในกระถาง และเตรียมเชื้อรา *P. palmivora* โดยเลือกไอโซเลทที่รุนแรงต่อการเกิดโรคที่สุดมาเลี้ยงบนอาหาร V8 ทำการปลูกเชื้อลงต้นทุเรียนก้านยาว โดยนำ sporangial suspension ที่ความเข้มข้น $3x10^5$ sporagia/ml (Soytong, 2010) ราดไปยังโคนต้นทุเรียนก้านยาว การทดลองเปรียบเทียบ ใช้น้ำกลั่นปราศจากเชื้อ ทำการทดลองแบบ RCBD มีจำนวน 6 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 4 ซ้ำ ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ไม่ปลูกเชื้อสาเหตุโรค

กรรมวิธีที่ 2 ปลูกเชื้อสาเหตุโรค / ราดและฉีดพ่นน้ำกลั่น (การทดลองเปรียบเทียบ)

กรรมวิธีที่ 3 ปลูกเชื้อสาเหตุโรค / ราดและฉีดพ่น nano – elicitor *Ch. cupreum*

กรรมวิธีที่ 4 ปลูกเชื้อสาเหตุโรค / ราดและฉีดพ่น nano – elicitor *Ch. elatum*

กรรมวิธีที่ 5 ปลูกเชื้อสาเหตุโรค / ราดและฉีดพ่น nano – elicitor *Ch. lucknowense*

กรรมวิธีที่ 6 ปลูกเชื้อสาเหตุโรค / ราดและฉีดพ่นสารเคมี metalaxyl

ใช้ผลิตภัณฑ์นาโนที่ระดับความเข้มข้น 15 ppm ปริมาณ 20 มิลลิลิตร/ต้น ใส่ทุก ๆ 7 วัน สังเกตอาการและบันทึกผล หลังจากทำการปลูกเชื้อราสาเหตุโรคเป็นระยะเวลา 7 เดือน ทำการประเมินความรุนแรงของโรค และวิเคราะห์ค่าความแตกต่างโดยเปรียบเทียบ treatment mean แบบ DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น P = 0.05

เกณฑ์การแบ่งระดับอาการออกเป็น 6 ระดับ (Soytong, 2010) ดังนี้

ระดับที่ 1 = พืชไม่เกิดอาการของโรค ใบพืชสีเขียวและเงา

ระดับที่ 2 = ใบมีสีเขียวแต่ไม่เงา

ระดับที่ 3 = ใบมีสีเหลือง และรากมีอาการเน่า 1 – 25 เปอร์เซ็นต์

ระดับที่ 4 = ใบเริ่มร่วง มีสีเหลือง และรากมีอาการเน่า 26 – 50 เปอร์เซ็นต์

ระดับที่ 5 = ใบร่วง มีสีเหลือง และรากมีอาการเน่า 51 – 75 เปอร์เซ็นต์

ระดับที่ 6 = ใบร่วง มีสีเหลือง และรากมีอาการเน่า 76 –100 เปอร์เซ็นต์

3.9 การตรวจสอบหา phytoalexin

เก็บตัวอย่างของใบทุเรียน จากทุกทรีตเมนต์ นำมาสกัดสาร โดยดัดแปลงจากวิธีของ พันธ์วศรี แสงสุวรรณ (2547) โดยบดใบทุเรียนกับน้ำนึ่งฆ่าเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง เติม ethyl acetate แล้วเพิ่มความเข้มข้นด้วยเครื่อง rotary vacuum evaporator ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส และแยกสารด้วยวิธี Thin layer chromatography (TLC) โดยหยดสารสกัดที่ได้ลงบนแผ่น TLC plates silica gel แล้ววางใน developing chamber ที่บรรจุ toluene:ethyl acetate อัตราส่วน 1:1 เมื่อตัวทำละลายเคลื่อนที่ถึงเส้นขอบบน ตรวจสอบแถบสารสกัดที่ปรากฏบนแผ่น TLC ภายใต้แสง UV ที่ความยาวคลื่น 254 nm และคำนวนหาค่าคงที่อัตราไหล (Rate of flow, Rf)

โดยใช้สูตร $Rf = \frac{\text{ระยะที่สารตัวอย่างเคลื่อนที่}}{\text{ระยะที่ตัวทำละลายเคลื่อนที่}}$

บทที่ 4

ผลการทดลอง

4.1 การแยกเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียน

จากการเก็บตัวอย่างดินและชิ้นส่วนพืชที่เป็นโรคมาแยกเชื้อราสาเหตุโรคด้วยวิธี baiting, tissue transplanting และ soil plate เชื้อราสาเหตุโรคที่แยกได้ ดังนี้ ไอโซเลท P01, P02 และ P03 โดยไอโซเลท P01 แยกเชื้อราสาเหตุโรคได้จากวิธี baiting ส่วนไอโซเลท PN02 และ PN03 วิธี soil plate (ตารางที่ 4.1)

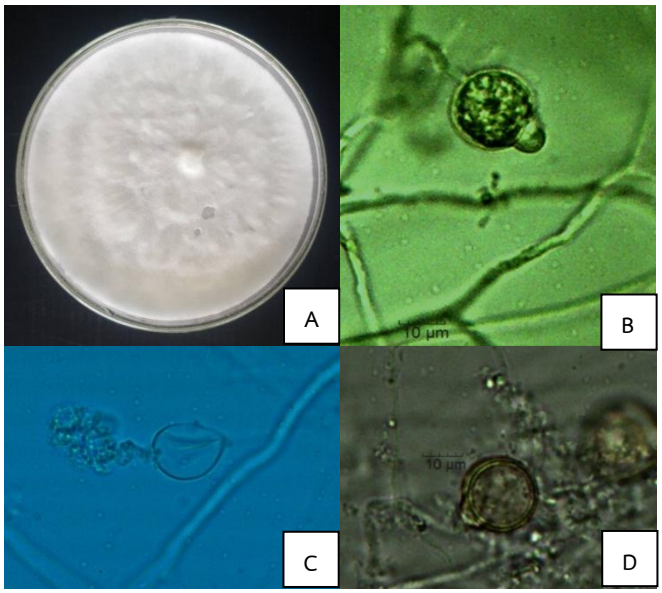
ตารางที่ 4.1 ไอโซเลทและวิธีการแยกเชื้อ ของเชื้อราสาเหตุโรคที่แยกได้

ไอโซเลท	ตัวอย่าง	วิธีการแยกเชื้อ
P01	ดิน	baiting
P02	ดิน	soil plate
P03	ดิน	soil plate

4.2 การศึกษาสัณฐานวิทยา (morphology)

4.2.1 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อราสาเหตุโรค

จากการศึกษาลักษณะการเจริญบนอาหาร PDA ไอโซเลท P01 ลักษณะโคโลนีของเชื้อรา *P. palmivora* บนอาหารเลี้ยงเชื้อรา PDA เชื้อราเจริญฟูเรียบสีขาวเป็นแบบ chrysanthemum pattern เจริญเติบโตเต็ม plate ใช้ระยะเวลา 8 วัน เมื่อนำไปตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่า เส้นใยใสไม่มีสี (hyaline) ไม่มีผนังกั้น sporangia มีลักษณะเป็นทรงกลม หรือเป็นรูปไข่ zoospore จะถูกดันออกมาทางปลาย sporangia ทางด้านที่มี papilla สำหรับการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศจะพบการสร้าง oogonium และ antheridium (ภาพที่ 4.1)

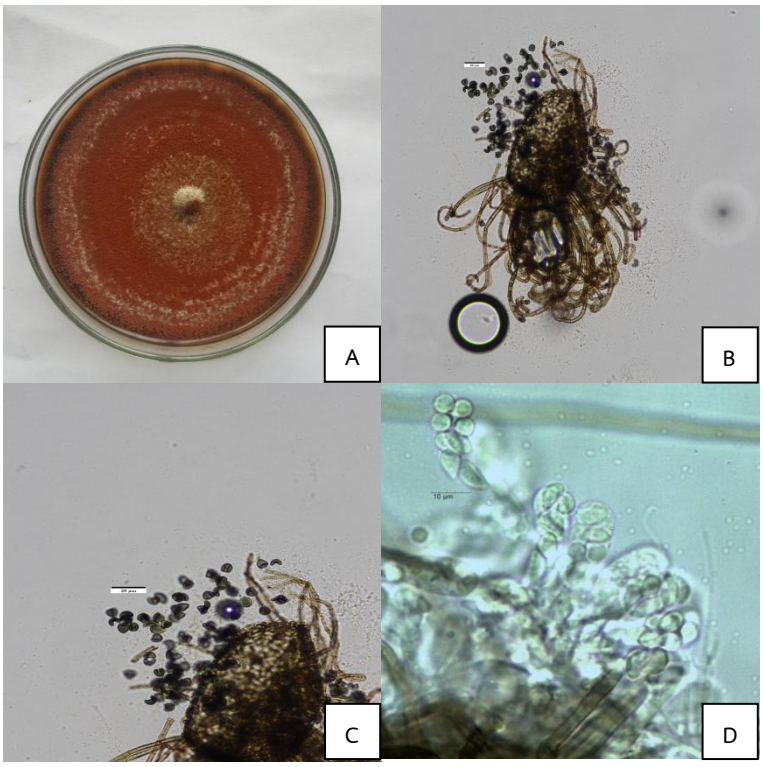


ภาพที่ 4.1 ลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *P. palmivora* ที่เลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA A = ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA, B = ลักษณะของ sporangia (40x), C = zoospore ที่ถูกปล่อยจาก sporangia (40x), D = ลักษณะของ oogonia (40x)

4.2.2 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Chaetomium* spp.

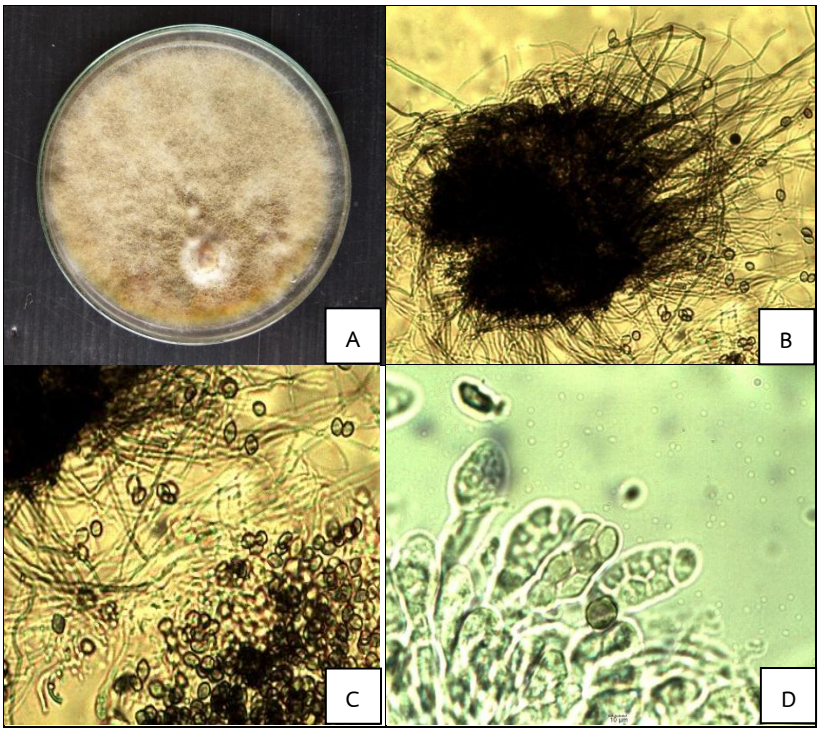
จากการศึกษาลักษณะการเจริญของเชื้อรา *Chaetomium spp.* ทั้ง 3 สปีชีส์ที่เลี้ยงบนอาหาร PDA และลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 40X

เชื้อรา *Chaetomium cupreum* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง พบว่าลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA (Potato Dextrose Agar) เจริญเป็นปุยสีขาว มีการสร้าง ascus เป็นเม็ดสีแดงเจริญปกคลุมด้านของโคโลนี สร้างสีแดงบน PDA มีการเจริญเติบโตค่อนข้างช้า เส้นใยมีลักษณะสีน้ำตาลอ่อน มีผนังกั้น (septate hypha) perithecium สีน้ำตาลมีลักษณะค่อนข้างกลมรีถึงรูปไข่ บริเวณด้านบนมีขนปกคลุมเป็นจำนวนมาก terminal hair มีลักษณะปลายม้วนเป็นวง ascospore สีน้ำตาล ลักษณะกลมถึงรูปไข่ (ภาพที่ 4.2)



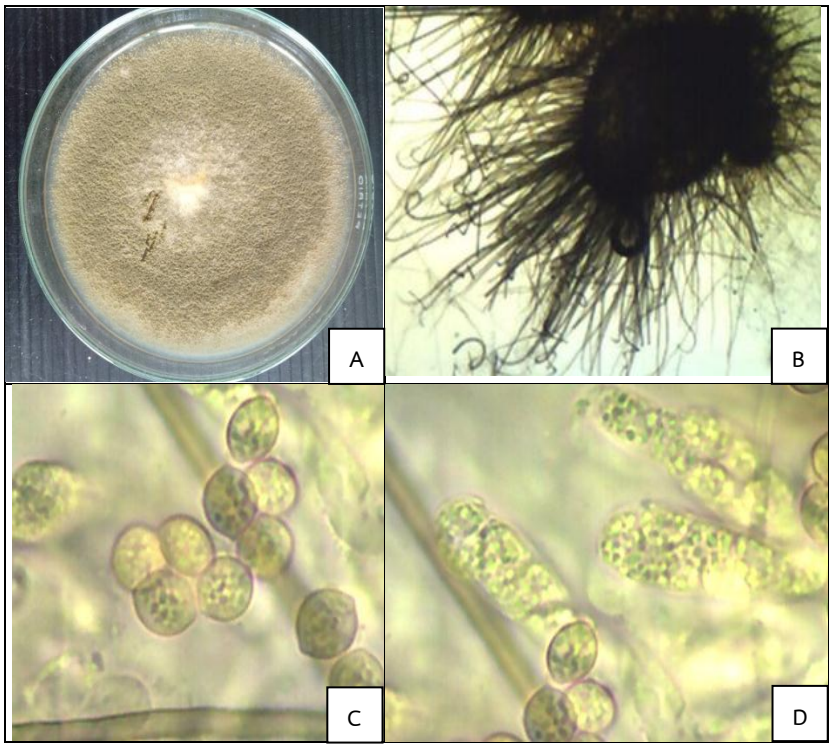
ภาพที่ 4.2 ลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Ch. cupreum* ที่เลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA A = ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA, B = ลักษณะของ perithecium (40x), C = ลักษณะ ascospore (40x), D = ลักษณะ ascus (40x)

เชื้อรา *Chaetomium elatum* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง พบว่าลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA (Potato Dextrose Agar) เจริญเป็นปุยสีขาวในระยะแรก เมื่อแก่จะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลอ่อน มีเม็ดสีน้ำตาลเข้มเจริญปกคลุมโคโลนี สร้างสีเหลืองบน PDA มีการเจริญเติบโตค่อนข้างเร็ว เส้นใยมีลักษณะสีน้ำตาลอ่อน มีผนังกั้น (septate hypha) peritheciam สีดำมีลักษณะค่อนข้างกลมรีถึงรูปไข่ บริเวณด้านบนมีขนปกคลุมเป็นจำนวนมาก terminal hair มีลักษณะปลายตรง ascospore สีน้ำตาล ลักษณะกลมรีถึงรูปไข่ (ภาพที่ 4.3)



ภาพที่ 4.3 ลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Ch. elatum* ที่เลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA A = ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA, B = ลักษณะของ Perithecium (40x), C = ลักษณะ ascospore (40x), D = ลักษณะ ascus (40x)

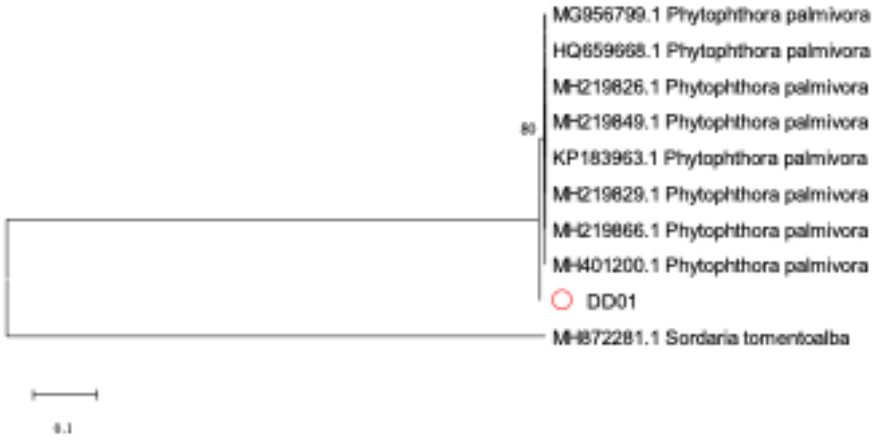
เชื้อรา *Chaetomium lucknowense* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง พบว่าลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เจริญเป็นปุยสีขาวในระยะแรก เมื่อแก่จะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลอ่อน มีเม็ดสีเขียวมะกอกเจริญปกคลุมโคโลนี สร้างสีเหลืองบน PDA มีการเจริญเติบโตค่อนข้างเร็ว เส้นใยมีลักษณะสีน้ำตาลอ่อน มีผนังกั้น (septate hypha) peritheciam สีดำมีลักษณะค่อนข้างกลมรีถึงรูปไข่ บริเวณด้านบนมีขนปกคลุมเป็นจำนวนมาก terminal hair มีลักษณะปลายม้วน ascospore สีน้ำตาล ลักษณะกลมรีถึงรูปไข่ (ภาพที่ 4.4)



ภาพที่ 4.4 ลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Ch. lucknowense* ที่เลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA A = ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA, B = ลักษณะของ Perithecium (40x) C = ลักษณะ ascospore (40x), D = ลักษณะ ascus (40x)

4.3 การตรวจสอบเชื้อด้วยลำดับนิวคลิโอไทด์

จากการตรวจสอบเชื้อราที่แยกได้ ด้วยลำดับนิวคลิโอไทด์ เมื่อนำลำดับนิวคลิโอไทด์ที่วิเคราะห์ได้มาเปรียบเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์ในฐานข้อมูล GenBank โดยใช้ BLAST พบว่า ไอโซเลท P01 มีความเหมือน (identity) กับไอโซเลท MG956799, HQ659668, MH29626, MH29629, KP183963, MH219629, MH219629, MH219866 และ MH4D1200 80 เปอร์เซ็นต์ เป็นเชื้อรา *P. palmivora* การวิเคราะห์หาแผนภูมิความสัมพันธ์ (phylogenetic tree) วิเคราะห์ลำดับนิวคลิโอไทด์ด้วยวิธี neighbor-joining และทดสอบค่า bootstrap 1000 ซ้ำ ดังภาพที่ 4.5



ภาพที่ 4.5 Phylogenetic tree ของเชื้อรา *P. palmivora*

4.4 การทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรค (pathogenicity test)

4.4.1 การทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคบนใบ

จากการนำใบทุเรียน มาทดสอบความสามารถในการเกิดโรคของเชื้อรา *P. palmivora* ลงบนใบทุเรียน เมื่อครบ 3 วัน พบว่าใบทุเรียนแสดงอาการฉ่ำน้ำสีน้ำตาลขยายเป็นวงกว้างจากบริเวณที่วางวุ้นลงไป ส่วนการทดลองควบคุมไม่พบอาการของโรค เมื่อทำการประเมินการเกิดโรค การทดลองที่ได้ทำการปลูกเชื้อรา *P. palmivora* มีระดับการเกิดโรคอยู่ที่ระดับ 3 เมื่อเทียบกับการทดลองควบคุม ที่มีระดับการเกิดโรคอยู่ที่ระดับ 0 (ตารางที่ 4.2, ภาพที่ 4.6)

ตารางที่ 4.2 การทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคของเชื้อรา *P. palmivora* บนใบทุเรียน

Treatments	ระดับการเกิดโรค
control	1b
P01	3a

ภาพที่ 4.6 ผลการทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคของเชื้อรา *P. palmivora* บนใบทุเรียน

A = Inoculated Control, B = Non - Inoculated Control

4.4.2 การทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดอาการรากเน่าโคนเน่าบนต้นทุเรียน

นำเชื้อรา *P. palmivora* ที่แยกได้มาทดสอบการเกิดโรคบนต้นทุเรียนในกระถางทดลอง โดยเปรียบเทียบกับการทดลองควบคุมที่ไม่ได้ทำการปลูกเชื้อ พบว่า ต้นทุเรียนที่ทำการปลูกเชื้อลงไปแสดงอาการใบเหลืองร่วง และต้นมีอาการทรุดโทรม(ตารางที่ 4.3, ภาพที่ 4.7)

ตารางที่ 4.3 ผลจากการทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคบนต้นทุเรียน

Treatments	ระดับการเกิดโรค
Non inoculated control	1.00b
Inoculated control	3.25a

ภาพที่ 4.7 การทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคบนต้นทุเรียน; A = Non - Inoculated Control, B = Inoculated Control

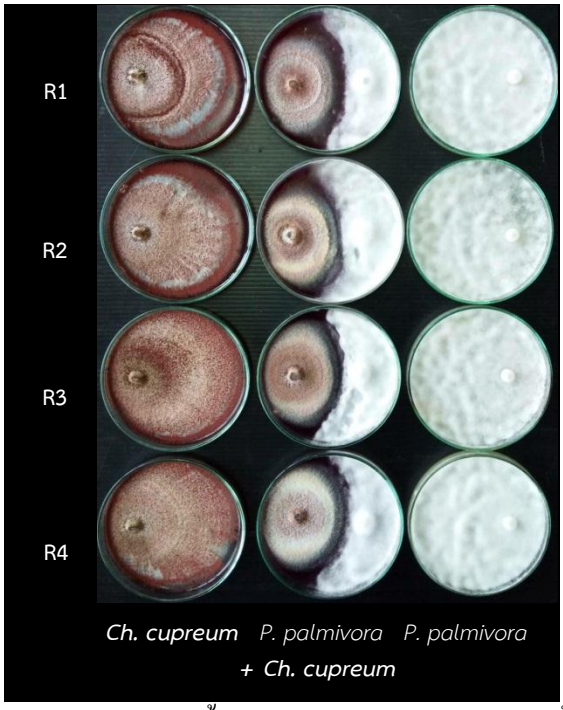
4.5 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *Chaetomium* spp. ด้วยการเลี้ยงเชื้อบนอาหารร่วม (bi-culture test)

จากการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *Ch. cupreum*, *Ch. elatum* และ*Ch. lucknowense* ในการยับยั้งการเจริญเติบโตเส้นใยของเชื้อรา *P. palmivora* ด้วยวิธี Bi – Culture โดยการวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของเชื้อรา พบว่าเชื้อรา *Ch. lucknowense* มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *P. palmivora* สูงที่สุด และรองลงมาได้แก่ เชื้อรา *Ch. cupreum* และ*Ch. elatum* โดยมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ยเท่ากับ 4.51, 5.43และ 5.43เซนติเมตร ตามลำดับ และมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตเส้นใยเท่ากับ 49.88, 39.66 และ39.66 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 4.4, ภาพที่ 4.8 – 4.10)

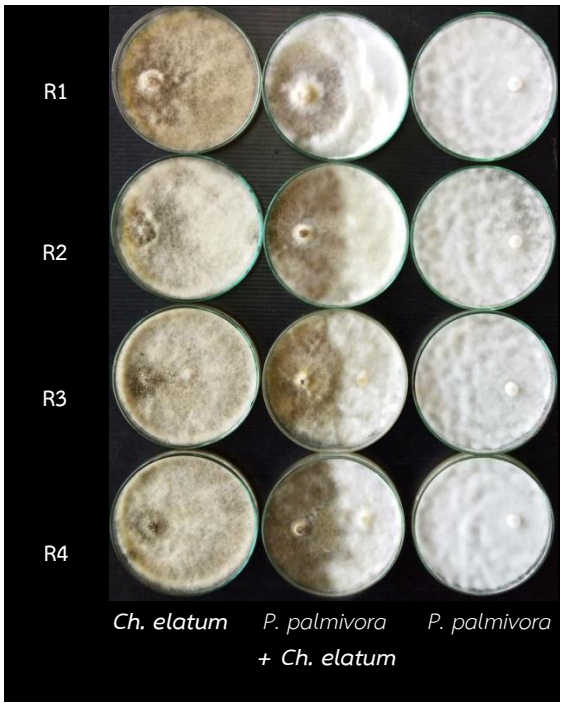
ส่วนการทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญสปอร์ของเชื้อรา *P. palmivora* ด้วยวิธี Bi – Culture พบว่าเชื้อรา *Ch. lucknowense* มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญสปอร์ของเชื้อรา *P. palmivora* สูงที่สุด โดยมีเปอร์เซ็นต์ในการยับยั้งการเจริญของสปอร์ เท่ากับ 69.10 เปอร์เซ็นต์ และรองลงมาได้แก่ เชื้อรา *Ch. elatum* และ*Ch. cupreum* โดยมีเปอร์เซ็นต์ในการยับยั้งการเจริญของสปอร์ เท่ากับ 58.58 และ46.13 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 4.4)

ตารางที่ 4.4 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *Chaetomium* spp. ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใย และสปอร์ของเชื้อรา *P. palmivora* ด้วยวิธี bi – culture

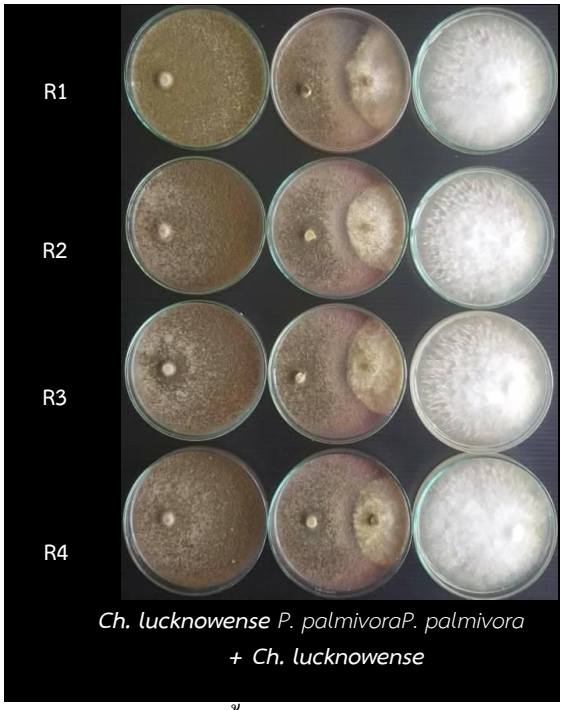
Treatments	เชื้อรา *P. palmivora*			
	ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี (ซม.) [/1]	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโต (%) [/2,3]	ปริมาณสปอร์ (10^4 สปอร์/มล.) [/4]	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการสร้างสปอร์ (%) [/5,6]
Control	9.00a	-	91.43a	-
Ch. cupreum	5.43b	39.66	49.25b	46.13
Ch. elatum	5.43b	39.66	37.87c	58.58
Ch. lucknowense	4.51c	49.88	28.25d	69.10
C.V. (%)	3.50		5.40	



ภาพที่ 4.8 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *Ch. cupreum* ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *P. palmivora* ด้วยวิธี bi – culture



ภาพที่ 4.9 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *Ch. elatum* ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *P. palmivora* ด้วยวิธี bi – culture



ภาพที่ 4.10 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *Ch. lucknowense* ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *P. palmivora* ด้วยวิธี bi – culture

4.6 การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดเชื้อรา *Chaetomium* spp. ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *P. palmivora* ในห้องปฏิบัติการ (crude extract test)

การทดสอบประสิทธิภาพสารสกัดจากเชื้อรา *Ch. cupreum* ที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด ได้แก่ hexane, ethyl acetate และ methanol ในการยับยั้งการเจริญเติบโตเส้นใย และการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *P. palmivora*

จากการทดสอบพบว่าการใช้สารสกัดจากเชื้อรา *Ch. cupreum* ที่สกัดด้วย hexane ในการยับยั้งการเจริญเติบโตเส้นใย ที่ระดับความเข้มข้น 1000 ppm ได้ดีที่สุด ซึ่งมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ยอยู่ที่ 2.86 เซนติเมตร มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญเติบโตเส้นใย เท่ากับ 42.80 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาที่ระดับความเข้มข้น 500, 100, 50 และ 10 ppm มีเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ยอยู่ที่ 3.02, 3.30, 3.58 และ 3.81 เซนติเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 4.5, ภาพที่ 4.11) เมื่อเปรียบเทียบกับความเข้มข้นที่ 0 ppm โดยที่ระดับความเข้มข้น 500, 100, 50 และ 10 ppm มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญเติบโตเส้นใย เท่ากับ 39.60, 34.00, 28.40 และ 23.80 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อนำเชื้อรา *P. palmivora* ทำการตรวจนับปริมาณสปอร์พบว่า ที่ความเข้มข้น 1000 ppm พบปริมาณสปอร์เฉลี่ยน้อยที่สุด เท่ากับ 22.81×10^4 สปอร์/มิลลิลิตร มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการสร้างสปอร์ได้ดีที่สุด เท่ากับ 65.23 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาที่ระดับความเข้มข้น 500, 100, 50 และ 10 ppm พบปริมาณสปอร์เฉลี่ย 35.06×10^4, 42.25×10^4, 49.43×10^4 และ 52.11×10^4 สปอร์/มิลลิลิตร ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับความเข้มข้นที่ 0 ppm โดยที่ระดับความเข้มข้น 500, 100, 50 และ 10 ppm มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้ง

การสร้างสปอร์ เท่ากับ 46.57, 35.61, 24.66 และ 20.59 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ จากการทดสอบพบว่าการใช้สารสกัดจากเชื้อรา *Ch. cupreum* ที่สกัดด้วย Hexane มีค่า ED_{50} เท่ากับ 58.96 µg/ml (ตารางที่ 4.5)

การใช้สารสกัดจากเชื้อรา *Ch. cupreum* ที่สกัดด้วย ethyl acetate ในการยับยั้งการเจริญเติบโตเส้นใย ที่ระดับความเข้มข้น 1000 ppm ได้ดีที่สุด ซึ่งมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ยอยู่ที่ 2.22 เซนติเมตร มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญเติบโตเส้นใย เท่ากับ 55.50 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาที่ระดับความเข้มข้น 500, 100, 50 และ 10 ppm มีเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ยอยู่ที่ 2.37, 3.08, 3.30 และ 3.60 เซนติเมตร ตามลำดับ(ตารางที่ 4.5, ภาพที่ 4.12) เมื่อเปรียบเทียบกับความเข้มข้นที่ 0 ppm โดยที่ระดับความเข้มข้น 500, 100, 50 และ 10 ppm มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญเติบโตเส้นใย เท่ากับ 52.50, 38.25, 34.00 และ 28.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อนำเชื้อรา *P. palmivora* ทำการตรวจนับปริมาณสปอร์พบว่า ที่ความเข้มข้น 1000 ppm พบปริมาณสปอร์เฉลี่ยน้อยที่สุด เท่ากับ 15.56×10^4 สปอร์/มิลลิลิตร มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการสร้างสปอร์ได้ดีที่สุด เท่ากับ 76.28 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาที่ระดับความเข้มข้น 500, 100, 50 และ 10 ppm พบปริมาณสปอร์เฉลี่ย 22.56×10^4, 36.50×10^4, 42.87×10^4 และ 50.68×10^4 สปอร์/มิลลิลิตร ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับความเข้มข้นที่ 0 ppm โดยที่ระดับความเข้มข้น 500, 100, 50 และ 10 ppm มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการสร้างสปอร์เท่ากับ 65.62, 44.38, 34.66 และ 22.76 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ จากการทดสอบพบว่าการใช้สารสกัดจากเชื้อรา *Ch. cupreum* ที่สกัดด้วย ethyl acetate มีค่า ED_{50} เท่ากับ 44.23 µg/ml (ตารางที่ 4.5)

การใช้สารสกัดจากเชื้อรา *Ch. cupreum* ที่สกัดด้วย methanol ในการยับยั้งการเจริญเติบโตเส้นใย ที่ระดับความเข้มข้น 1000 ppm ได้ดีที่สุด ซึ่งมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ยอยู่ที่ 1.92 เซนติเมตร มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญเติบโตเส้นใย เท่ากับ 61.50 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาที่ระดับความเข้มข้น 500, 100, 50 และ 10 ppm มีเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ยอยู่ที่ 1.87, 2.42, 2.92 และ 3.25 เซนติเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 4.5, ภาพที่ 4.13) เมื่อเปรียบเทียบกับความเข้มข้นที่ 0 ppm โดยที่ระดับความเข้มข้น 500, 100, 50 และ 10 ppm มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญเติบโตเส้นใย เท่ากับ 62.50, 51.50, 41.50 และ 36.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อนำเชื้อรา *P. palmivora* มาทำการตรวจนับปริมาณสปอร์พบว่า ที่ความเข้มข้น 1000 ppm พบปริมาณสปอร์เฉลี่ยน้อยที่สุด เท่ากับ 12.12×10^4 สปอร์/มิลลิลิตร มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการสร้างสปอร์ได้ดีที่สุด เท่ากับ 81.52 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาที่ระดับความเข้มข้น 500, 100, 50 และ 10 ppm พบปริมาณสปอร์เฉลี่ย 18.87×10^4, 23.31×10^4, 36.37×10^4 และ 47.37×10^4 สปอร์/มิลลิลิตร ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับความเข้มข้นที่ 0 ppm โดยที่ระดับความเข้มข้น 500, 100, 50 และ 10 ppm มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการสร้างสปอร์ได้เท่ากับ 71.23, 64.47, 44.57 และ 27.81 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ จากการทดสอบพบว่าการใช้สารสกัดจากเชื้อรา *Ch. cupreum* ที่สกัดด้วย methanol มีค่า ED_{50} เท่ากับ 35.15 µg/ml (ตารางที่ 4.5)

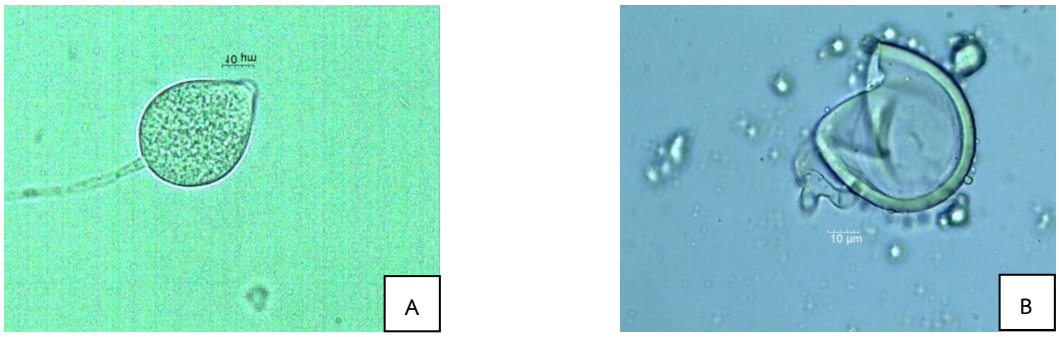
ตารางที่ 4.5 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากเชื้อรา *Ch. cupreum* ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *P. palmivora*

สารสกัด	ความเข้มข้น (ppm)	ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี (ซม.) [1]	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโต [2,3]	ปริมาณสปอร์ (10^4 สปอร์/มล.) [4]	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการสร้างสปอร์ [5,6]	ED_{50} (ppm)
hexane	0	5.00a	-	65.63a	-	58.96
	10	3.81b	23.80i	52.11b	20.59j	
	50	3.58c	28.40h	49.43bc	24.66ji	
	100	3.30d	34.00g	42.25d	35.61h	
	500	3.02fg	39.60ed	35.06f	46.57f	
	1000	2.86g	42.80d	22.81g	65.23e	
ethyl acetate	0	5.00a	-	65.63a	-	44.23
	10	3.60c	28.00h	50.68b	22.76j	
	50	3.30d	34.00g	42.87e	34.66g	
	100	3.08ef	38.25fe	36.50f	44.38f	
	500	2.37hi	52.50cb	22.56h	65.62d	
	1000	2.22i	55.50b	15.56j	76.28b	
methanol	0	5.00a	-	65.63a	-	35.15
	10	3.25de	35.00gf	47.37cd	27.81ih	
	50	2.92fg	41.50ed	36.37f	44.57f	
	100	2.42h	51.50c	23.31h	64.47d	
	500	1.87j	62.50a	18.87i	71.23c	
	1000	1.92j	61.50a	12.12k	81.52a	
	C.V. (%)	3.83		5.01		

ภาพที่ 4.11 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากเชื้อรา *Ch. cupreum* ที่สกัดด้วย hexane ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *P. palmivora*

ภาพที่ 4.12 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากเชื้อรา *Ch. cupreum* ที่สกัดด้วย ethyl acetate ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *P. palmivora*

ภาพที่ 4.13 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากเชื้อรา *Ch. cupreum* ที่สกัดด้วย methanol ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *P. palmivora*



ภาพที่ 4.14 ศึกษาเปรียบเทียบลักษณะของ sporangia ; A = sporangia ที่ระดับความเข้มข้น 0 ppm, B = sporangia ที่ระดับความเข้มข้น 1000 ppm

จากการทดสอบประสิทธิภาพสารสกัดจากเชื้อรา *Ch. elatum* ที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด ได้แก่ hexane, ethyl acetate และ methanol ในการยับยั้งการเจริญเติบโตเส้นใย และการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *P. palmivora*

การใช้สารสกัดจากเชื้อรา *Ch. elatum* ที่สกัดด้วย hexane ในการยับยั้งการเจริญเติบโตเส้นใย ที่ระดับความเข้มข้น 1000 ppm ได้ดีที่สุด ซึ่งมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ยอยู่ที่ 2.02 เซนติเมตร มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญเติบโตเส้นใย ได้เท่ากับ 58.5 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาที่ระดับความเข้มข้น 500, 100, 50 และ 10 ppm มีเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ยอยู่ที่ 2.1, 2.67, 3.03 และ 4.03 เซนติเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 4.6, ภาพที่ 4.15) เมื่อเปรียบเทียบกับความเข้มข้นที่ 0 ppm โดยที่ระดับความเข้มข้น 500, 100, 50 และ 10 ppm มี

เปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญเติบโตเส้นใย เท่ากับ 58.00, 46.5, 39.25 และ 19.25 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อนำเชื้อรา *P. palmivora* ทำการตรวจนับปริมาณสปอร์พบว่า ที่ความเข้มข้น 1000 ppm พบปริมาณสปอร์เฉลี่ยน้อยที่สุด เท่ากับ 22.31 $\times 10^4$ สปอร์/มิลลิลิตร มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการสร้างสปอร์ได้ดีที่สุด เท่ากับ 62.73 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาที่ระดับความเข้มข้น 500, 100, 50 และ 10 ppm พบปริมาณสปอร์เฉลี่ย 27.62 $\times 10^4$, 36.93 $\times 10^4$, 44.37 $\times 10^4$ และ 51.81 $\times 10^4$ สปอร์/มิลลิลิตร ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับความเข้มข้นที่ 0 ppm โดยที่ระดับความเข้มข้น 500, 100, 50 และ 10 ppm มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการสร้างสปอร์ เท่ากับ 53.86, 38.30, 25.88 และ 13.46 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ จากการทดสอบพบว่าการใช้สารสกัดจากเชื้อรา *Ch. elatum* ที่สกัดด้วย Hexane มีค่า ED_{50} เท่ากับ 71.97 µg/ml (ตารางที่ 4.6)

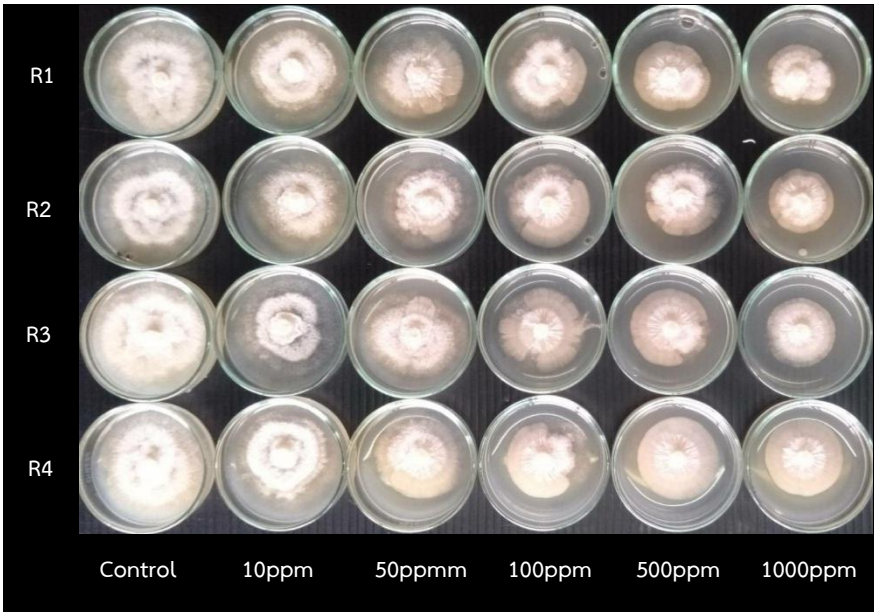
การใช้สารสกัดจากเชื้อรา *Ch. elatum* ที่สกัดด้วย ethyl acetate ในการยับยั้งการเจริญเติบโตเส้นใย ที่ระดับความเข้มข้น 1000 ppm ได้ดีที่สุด ซึ่งมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ยอยู่ที่ 1.17 เซนติเมตร มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญเติบโตเส้นใย เท่ากับ 76.5 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาที่ระดับความเข้มข้น 500, 100, 50 และ 10 ppm มีเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ยอยู่ที่ 1.97, 2.71, 3.01 และ 3.12 เซนติเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 4.6, ภาพที่ 4.16) เมื่อเปรียบเทียบกับความเข้มข้นที่ 0 ppm โดยที่ระดับความเข้มข้น 500, 100, 50 และ 10 ppm มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญเติบโตเส้นใย เท่ากับ 60.5, 45.75, 39.75 และ 37.5 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อนำเชื้อรา *P. palmivora* ทำการตรวจนับปริมาณสปอร์พบว่า ที่ความเข้มข้น 1000 ppm พบปริมาณสปอร์เฉลี่ยน้อยที่สุด เท่ากับ 11.5 $\times 10^4$ สปอร์/มิลลิลิตร มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการสร้างสปอร์ได้ดีที่สุด เท่ากับ 80.79 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาที่ระดับความเข้มข้น 500, 100, 50 และ 10 ppm พบปริมาณสปอร์เฉลี่ย 26.06 $\times 10^4$, 36.00 $\times 10^4$, 42.15 $\times 10^4$ และ 47.87 $\times 10^4$ สปอร์/มิลลิลิตร ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับความเข้มข้นที่ 0 ppm โดยที่ระดับความเข้มข้น 500, 100, 50 และ 10 ppm มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการสร้างสปอร์ เท่ากับ 56.47, 39.87, 30.68 และ 20.04 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ จากการทดสอบพบว่าการใช้สารสกัดจากเชื้อรา *Ch. elatum* ที่สกัดด้วย ethyl acetate มีค่า ED_{50} เท่ากับ 35.31 µg/ml (ตารางที่ 4.6)

การใช้สารสกัดจากเชื้อรา *Ch. elatum* ที่สกัดด้วย methanol ในการยับยั้งการเจริญเติบโตเส้นใย ที่ระดับความเข้มข้น 1000 ppm ได้ดีที่สุด ซึ่งมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ยอยู่ที่ 2.45 เซนติเมตร มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญเติบโตเส้นใย เท่ากับ 51.00 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาที่ระดับความเข้มข้น 500, 100, 50 และ 10 ppm มีเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ยอยู่ที่ 2.71, 2.73, 3.46 และ 4.38 เซนติเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 4.6, ภาพที่ 4.17) เมื่อเปรียบเทียบกับความเข้มข้นที่ 0 ppm โดยที่ระดับความเข้มข้น 500, 100, 50 และ 10 ppm มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญเติบโตเส้นใย เท่ากับ 45.75, 42.25, 30.75 และ 12.25 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อนำเชื้อรา *P. palmivora* ทำการตรวจนับปริมาณสปอร์พบว่า ที่ความเข้มข้น 1000 ppm พบปริมาณสปอร์เฉลี่ยน้อยที่สุด เท่ากับ 27.12 $\times 10^4$ สปอร์/มิลลิลิตร มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการสร้างสปอร์ได้ดีที่สุด เท่ากับ 54.69 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาที่ระดับความเข้มข้น 500, 100, 50 และ 10 ppm พบปริมาณสปอร์เฉลี่ย 33.68 $\times 10^4$, 41.06 $\times 10^4$, 47.62 $\times 10^4$ และ 51.43 $\times 10^4$ สปอร์/มิลลิลิตร ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับความเข้มข้นที่ 0 ppm โดยที่ระดับความเข้มข้น 500, 100, 50 และ 10 ppm มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการสร้างสปอร์ เท่ากับ 43.73, 31.41, 20.45

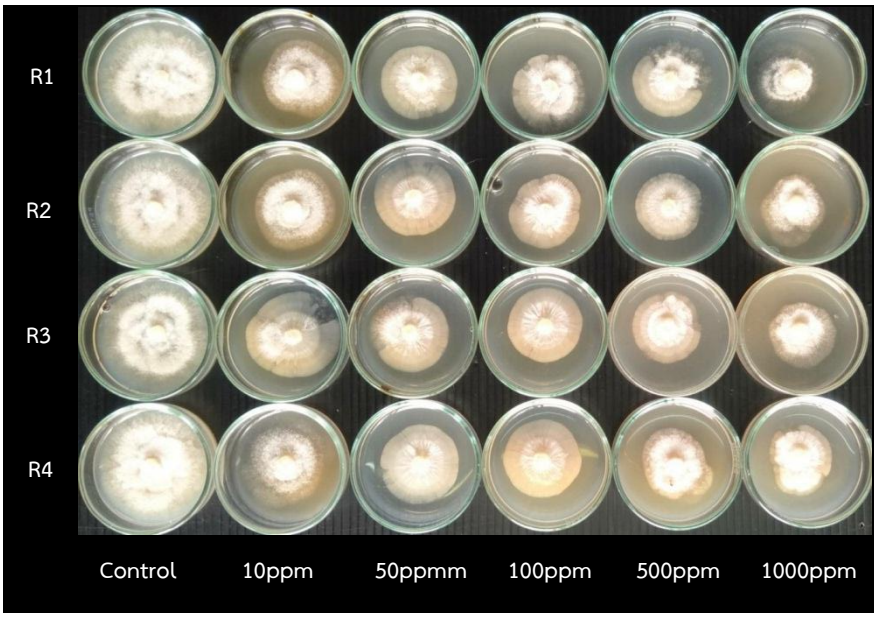
และ 14.09 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ จากการทดสอบพบว่าการใช้สารสกัดจากเชื้อรา *Ch. elatum* ที่สกัดด้วย methanol มีค่า ED_{50} เท่ากับ 58.96 µg/ml (ตารางที่ 4.6)

ตารางที่ 4.6 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากเชื้อรา *Ch. elatum* ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *P. palmivora*

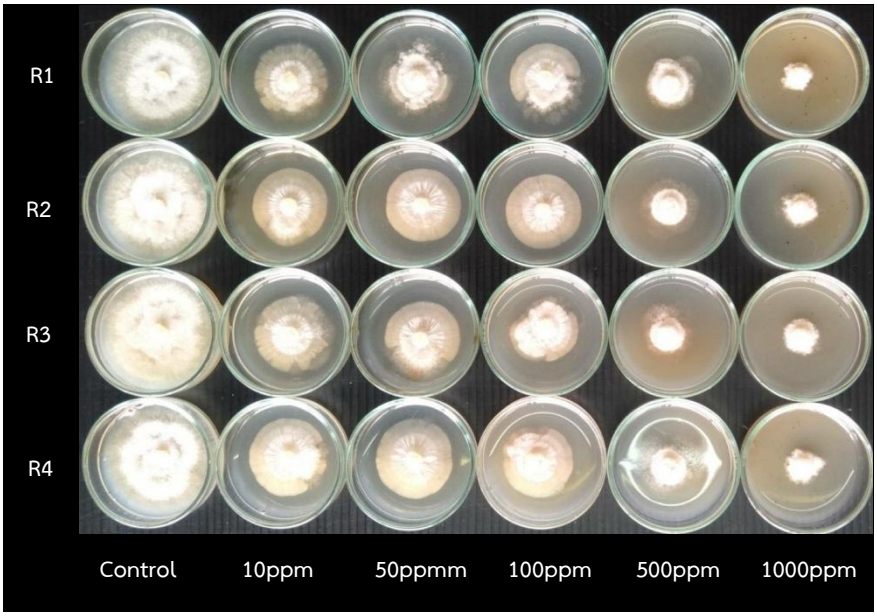
สารสกัด	ความเข้มข้น (ppm)	ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี (ซม.) /1	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโต /2,3	ปริมาณสปอร์ (10^4 สปอร์/มล.) /4	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการสร้างสปอร์ /5,6	ED_{50} (ppm)
hexane	0	5.00a	0i	59.87a	0h	71.97
	10	4.03c	19.25g	51.81b	13.46g	
	50	3.03e	39.25e	44.37cd	25.88fe	
	100	2.67g	46.5d	36.93e	38.30d	
	500	2.1h	58.00b	27.62f	53.86c	
	1000	2.02h	58.5b	22.31g	62.73b	
ethyl acetate	0	5.00a	0i	59.87a	0h	35.31
	10	3.12e	37.5e	47.87c	20.04f	
	50	3.01e	39.75e	41.5d	30.68e	
	100	2.71f	45.75d	36.00e	39.87d	
	500	1.97h	60.5b	26.06f	56.47c	
	1000	1.17i	76.5a	11.5h	80.79a	
methanol	0	5.00a	0i	59.87a	0h	58.96
	10	4.38b	12.25h	51.43b	14.09g	
	50	3.46d	30.75f	47.62c	20.45f	
	100	2.73f	45.25d	41.06d	31.41e	
	500	2.71f	45.75d	33.68f	43.73d	
	1000	2.45h	51.00c	27.12f	54.69c	
	C.V. (%)	4.16		5.93		



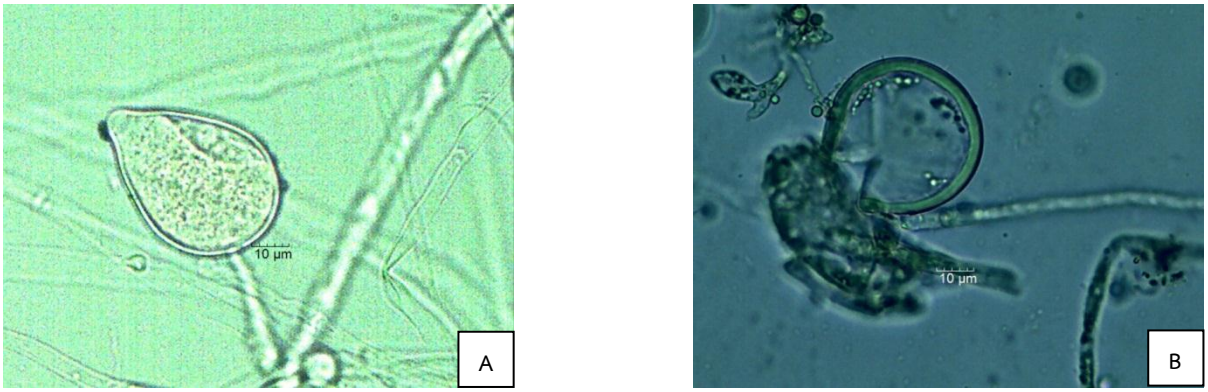
ภาพที่ 4.15 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากเชื้อรา *Ch. elatum* ที่สกัดด้วย hexane ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *P. palmivora*



ภาพที่ 4.16 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากเชื้อรา *Ch. elatum* ที่สกัดด้วย ethyl acetate ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *P. palmivora*



ภาพที่ 4.17 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากเชื้อรา *Ch. elatum* ที่สกัดด้วย methanol ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *P. palmivora*



ภาพที่ 4.18 ศึกษาเปรียบเทียบลักษณะของ sporangia ; A = sporangia ที่ระดับความเข้มข้น 0 ppm, B = sporangia ที่ระดับความเข้มข้น 1000 ppm

จากการทดสอบประสิทธิภาพสารสกัดจากเชื้อรา *Ch. lucknowense* ที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด ได้แก่ hexane, ethyl acetate และ methanol ในการยับยั้งการเจริญเติบโตเส้นใย และการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *P. palmivora*

จากการทดสอบพบว่าการใช้สารสกัดจากเชื้อรา *Ch. lucknowense* ที่สกัดด้วย hexane ในการยับยั้งการเจริญเติบโตเส้นใย ที่ระดับความเข้มข้น 1000 ppm ได้ดีที่สุด ซึ่งมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ยอยู่ที่ 4.60 เซนติเมตร มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญเติบโตเส้นใย ได้เท่ากับ 8.00 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาที่ระดับความเข้มข้น 500, 100, 50 และ 10 ppm มีเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ยอยู่ที่ 4.66, 4.72, 4.82 และ 5.00 เซนติเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 4.7, ภาพที่ 4.19) เมื่อเปรียบเทียบกับความเข้มข้นที่ 0 ppm โดยที่ระดับความเข้มข้น 500,

100, 50 และ 10 ppm มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญเติบโตเส้นใย เท่ากับ 6.80, 5.60, 3.60 และ 0 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อนำเชื้อรา *P. palmivora* ทำการตรวจนับปริมาณสปอร์พบว่า ที่ความเข้มข้น 1000 ppm พบปริมาณสปอร์เฉลี่ยน้อยที่สุด เท่ากับ 41.00×10^4 สปอร์/มิลลิลิตร มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการสร้างสปอร์ได้ดีที่สุด เท่ากับ 40.03 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาที่ระดับความเข้มข้น 500, 100, 50 และ 10 ppm พบปริมาณสปอร์เฉลี่ย 45.31×10^4, 45.31×10^4, 49.56×10^4 และ 53.50×10^4 สปอร์/มิลลิลิตร ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับความเข้มข้นที่ 0 ppm โดยที่ระดับความเข้มข้น 500, 100, 50 และ 10 ppm มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการสร้างสปอร์ เท่ากับ 33.72, 33.72, 27.51 และ 21.74 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ จากการทดสอบพบว่าการใช้สารสกัดจากเชื้อรา *Ch. lucknowense* ที่สกัดด้วย Hexane มีค่า ED_{50} เท่ากับ 94.37 µg/ml (ตารางที่ 4.7)

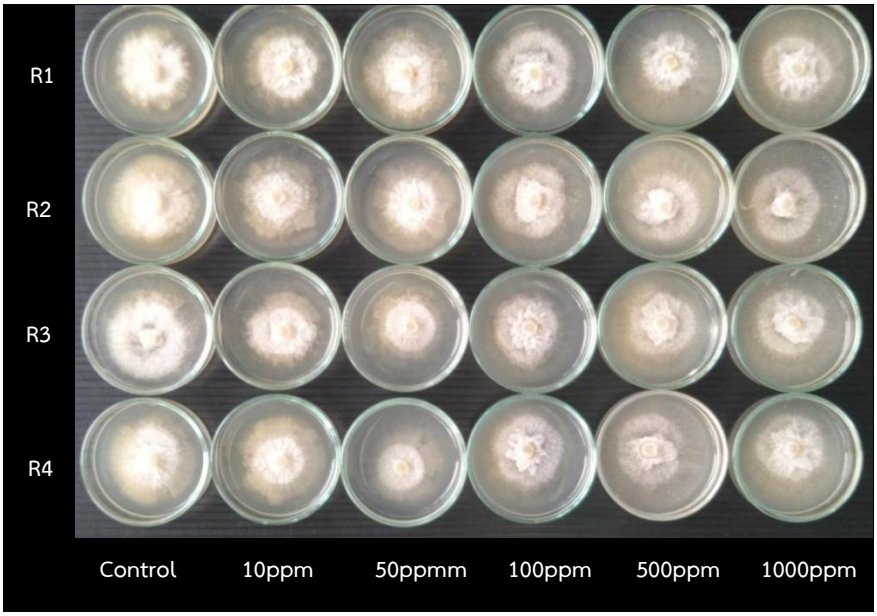
การใช้สารสกัดจากเชื้อรา *Ch. lucknowense* ที่สกัดด้วย ethyl acetate ในการยับยั้งการเจริญเติบโตเส้นใยที่ระดับความเข้มข้น 1000 ppm ได้ดีที่สุด ซึ่งมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ยอยู่ที่ 1.71 เซนติเมตร มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญเติบโตเส้นใย ได้เท่ากับ 65.80 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาที่ระดับความเข้มข้น 500, 100, 50 และ 10 ppm มีเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ยอยู่ที่ 2.22, 3.37, 3.90 และ 4.40 เซนติเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 4.7, ภาพที่ 4.20) เมื่อเปรียบเทียบกับความเข้มข้นที่ 0 ppm โดยที่ระดับความเข้มข้น 500, 100, 50 และ 10 ppm มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญเติบโตเส้นใย เท่ากับ 55.50, 32.50, 22.00 และ 12.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อนำเชื้อรา *P. palmivora* ทำการตรวจนับปริมาณสปอร์พบว่า ที่ความเข้มข้น 1000 ppm พบปริมาณสปอร์เฉลี่ยน้อยที่สุด เท่ากับ 15.93×10^4 สปอร์/มิลลิลิตร มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการสร้างสปอร์ได้ดีที่สุด เท่ากับ 76.70 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาที่ระดับความเข้มข้น 500, 100, 50 และ 10 ppm พบปริมาณสปอร์เฉลี่ย 21.31×10^4, 56.31×10^4, 59.25×10^4 และ 64.43×10^4 สปอร์/มิลลิลิตร ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับความเข้มข้นที่ 0 ppm โดยที่ระดับความเข้มข้น 500, 100, 50 และ 10 ppm มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการสร้างสปอร์ เท่ากับ 68.83, 17.63, 13.33 และ 5.76 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ จากการทดสอบพบว่าการใช้สารสกัดจากเชื้อรา *Ch. lucknowense* ที่สกัดด้วย ethyl acetate มีค่า ED_{50} เท่ากับ 45.34 µg/ml (ตารางที่ 4.7)

การใช้สารสกัดจากเชื้อรา *Ch. lucknowense* ที่สกัดด้วย methanol ในการยับยั้งการเจริญเติบโตเส้นใย ที่ระดับความเข้มข้น 1000 ppm ได้ดีที่สุด ซึ่งมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ยอยู่ที่ 1.18 เซนติเมตร มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญเติบโตเส้นใย ได้เท่ากับ 76.40 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาที่ระดับความเข้มข้น 500, 100, 50 และ 10 ppm มีเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ยอยู่ที่ 1.88, 3.28, 3.33 และ 4.32 เซนติเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 4.7, ภาพที่ 4.21) เมื่อเปรียบเทียบกับความเข้มข้นที่ 0 ppm โดยที่ระดับความเข้มข้น 500, 100, 50 และ 10 ppm มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญเติบโตเส้นใย เท่ากับ 62.40, 34.40, 33.40 และ 13.60 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อนำเชื้อรา *P. palmivora* ทำการตรวจนับปริมาณสปอร์พบว่า ที่ความเข้มข้น 1000 ppm พบปริมาณสปอร์เฉลี่ยน้อยที่สุด เท่ากับ 4.00×10^4 สปอร์/มิลลิลิตร มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการสร้างสปอร์ได้ดีที่สุด เท่ากับ 94.13 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาที่ระดับความเข้มข้น 500, 100, 50 และ 10 ppm พบปริมาณสปอร์เฉลี่ย 21.56×10^4, 52.31×10^4, 57.50×10^4 และ 67.06×10^4 สปอร์/มิลลิลิตร ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับความเข้มข้นที่ 0 ppm โดยที่ระดับความเข้มข้น 500, 100, 50 และ 10 ppm มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการสร้างสปอร์ ได้

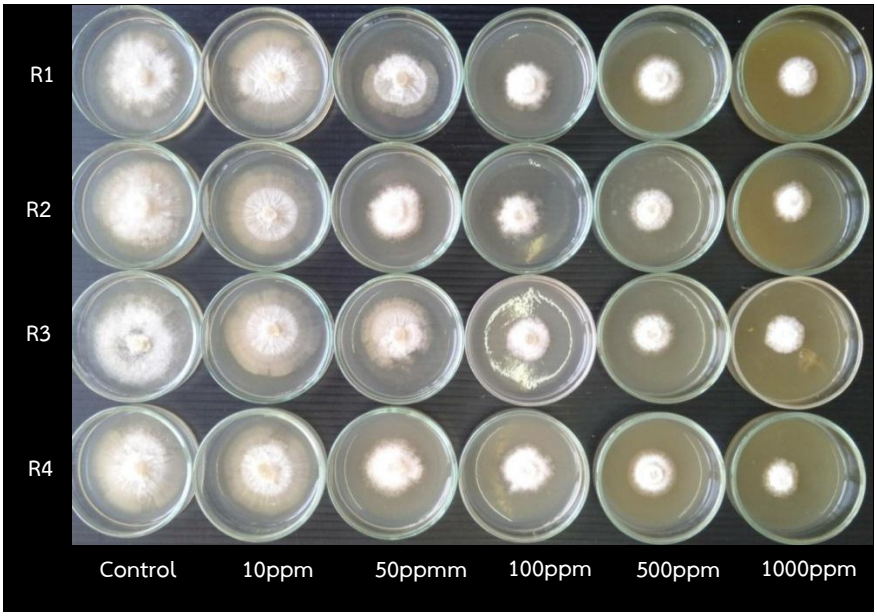
เท่ากับ 68.46, 23.48, 15.89 และ 1.91 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ จากการทดสอบพบว่าการใช้สารสกัดจากเชื้อรา *Ch. lucknowense* ที่สกัดด้วย methanol มีค่า ED_{50} เท่ากับ 68.16 µg/ml (ตารางที่ 4.7)

ตารางที่ 4.7 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากเชื้อรา *Ch. lucknowense* ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *P. palmivora*

สารสกัด	ความเข้มข้น (ppm)	ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี (ซม.) [/1]	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโต [/2,3]	ปริมาณสปอร์ (10^4 สปอร์/มล.) [/4]	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการสร้างสปอร์ [/5,6]	ED_{50} (ppm)
hexane	0	5.00a	0i	68.37a	0i	94.37
	10	5.00a	0i	53.50cde	21.74gfe	
	50	4.82ab	3.60ih	49.56e	27.51e	
	100	4.72b	5.60h	45.31f	33.72d	
	500	4.66b	6.80h	45.31f	33.72d	
	1000	4.60bc	8.00hg	41.00f	40.03d	
ethyl acetate	0	5.00a	0i	68.37a	0i	45.34
	10	4.40cd	12.00gf	64.43a	5.76i	
	50	3.90e	22.00e	59.25b	13.33h	
	100	3.37f	32.50d	56.31bcd	17.63hgf	
	500	2.22g	55.50c	21.31g	68.83c	
	1000	1.71h	65.80b	15.93h	76.70b	
methanol	0	5.00a	0i	68.37a	0i	68.16
	10	4.32d	13.60f	67.06a	1.91i	
	50	3.33f	33.40d	57.50bc	15.89hg	
	100	3.28f	34.40d	52.31de	23.48fe	
	500	1.88h	62.40b	21.56g	68.46c	
	1000	1.18i	76.40a	4.00i	94.13a	
	C.V. (%)	3.99		6.08		

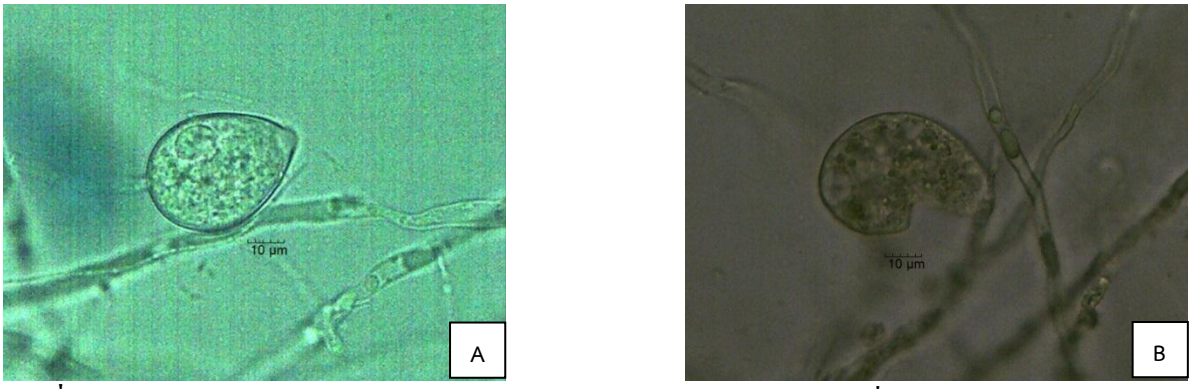


ภาพที่ 4.19 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากเชื้อรา *Ch. lucknowense* ที่สกัดด้วย hexane ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *P. palmivora*



ภาพที่ 4.20 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากเชื้อรา *Ch. lucknowense* ที่สกัดด้วย ethyl acetate ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *P. palmivora*

ภาพที่ 4.21 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากเชื้อรา *Ch. lucknowense* ที่สกัดด้วย methanol ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *P. palmivora*



ภาพที่ 4.22 ศึกษาเปรียบเทียบลักษณะของ sporangia ; A = sporangia ที่ระดับความเข้มข้น 0 ppm, B = sporangia ที่ระดับความเข้มข้น 1000 ppm

4.7 การทดสอบประสิทธิภาพของ nano – elicitors จากสารสกัดเชื้อรา *Chaetomium* spp. ในห้องปฏิบัติการ

การทดสอบประสิทธิภาพ nano – elicitors จากเชื้อรา *Ch. cupreum* ที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด ได้แก่ hexane, ethyl acetate และ methanol ในการยับยั้งการเจริญเติบโตเส้นใย และการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *P. palmivora*

จากการทดสอบประสิทธิภาพ nano – elicitor จากเชื้อรา *Ch. cupreum* ที่สกัดด้วย hexane ในการยับยั้งการเจริญเติบโตเส้นใย ที่ระดับความเข้มข้น 15 ppm ได้ดีที่สุด ซึ่งมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ยอยู่ที่ 0.7 เซนติเมตร มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญเติบโตเส้นใย เท่ากับ 86.00 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาที่ระดับความ

เข้มข้น 10, 5 และ 3 ppm มีเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ยอยู่ที่ 1.55, 1.91และ 2.43 เซนติเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 4.8, ภาพที่ 4.23) เมื่อเปรียบเทียบกับความเข้มข้นที่ 0 ppm โดยที่ระดับความเข้มข้น 10, 5 และ 3 ppm มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญเติบโตเส้นใย เท่ากับ 69.00, 61.75 และ 51.25 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อนำเชื้อรา *P. palmivora* ทำการตรวจนับปริมาณสปอร์พบว่า ที่ความเข้มข้น 15 ppm พบปริมาณสปอร์เฉลี่ยน้อยที่สุด เท่ากับ 2×10^4 สปอร์/มิลลิลิตร มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการสร้างสปอร์ได้ดีที่สุด เท่ากับ 96.42 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาที่ระดับความเข้มข้น 10, 5และ 3 ppm พบปริมาณสปอร์เฉลี่ย 9.87×10^4, 19.93×10^4 และ 30.81×10^4 สปอร์/มิลลิลิตร ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับความเข้มข้นที่ 0 ppm โดยที่ระดับความเข้มข้น 10, 5 และ 3 ppm มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการสร้างสปอร์ เท่ากับ 82.36, 64.39และ 44.97 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ จากการทดสอบประสิทธิภาพ nano – elicitor จากเชื้อรา *Ch. cupreum* ที่สกัดด้วย hexane มีค่า ED_{50} เท่ากับ 3.49 µg/ml (ตารางที่ 4.8)

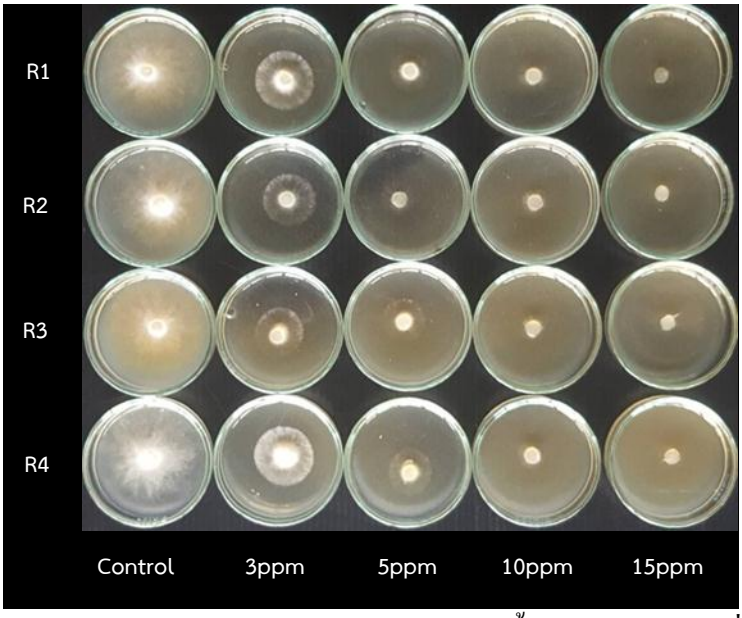
จากการทดสอบประสิทธิภาพ nano – elicitor จากเชื้อรา *Ch. cupreum* ที่สกัดด้วย ethyl acetate ในการยับยั้งการเจริญเติบโตเส้นใย ที่ระดับความเข้มข้น 15 ppm ได้ดีที่สุด ซึ่งมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ยอยู่ที่ 0.7 เซนติเมตร มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญเติบโตเส้นใย ได้เท่ากับ 86.00 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาที่ระดับความเข้มข้น 10, 5 และ 3 ppm มีเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ยอยู่ที่ 1.61, 1.97 และ 2.16 เซนติเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 4.8, ภาพที่ 4.24) เมื่อเปรียบเทียบกับความเข้มข้นที่ 0 ppm โดยที่ระดับความเข้มข้น 10, 5 และ 3 ppm มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญเติบโตเส้นใย เท่ากับ 27.50, 24.50 และ 17.25 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อนำเชื้อรา *P. palmivora* ทำการตรวจนับปริมาณสปอร์พบว่า ที่ความเข้มข้น 15 ppm พบปริมาณสปอร์เฉลี่ยน้อยที่สุด เท่ากับ 1.5×10^4 สปอร์/มิลลิลิตร มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการสร้างสปอร์ได้ดีที่สุด เท่ากับ 97.32 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาที่ระดับความเข้มข้น 10, 5 และ 3 ppm พบปริมาณสปอร์เฉลี่ย 11.75×10^4, 19.87×10^4 และ 30.25×10^4 สปอร์/มิลลิลิตร ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับความเข้มข้นที่ 0 ppm โดยที่ระดับความเข้มข้น 10, 5 และ 3 ppm มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการสร้างสปอร์ ได้เท่ากับ 79.01, 64.50 และ 45.98 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ จากการทดสอบประสิทธิภาพ nano – elicitor จากเชื้อรา *Ch. cupreum* ที่สกัดด้วย ethyl acetate มีค่า ED_{50} เท่ากับ 3.47 µg/ml (ตารางที่ 4.8)

จากการทดสอบประสิทธิภาพ nano – elicitor จากเชื้อรา *Ch. cupreum* ที่สกัดด้วย methanol ในการยับยั้งการเจริญเติบโตเส้นใย ที่ระดับความเข้มข้น 30 ppm ได้ดีที่สุด ซึ่งมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ยอยู่ที่ 0.7 เซนติเมตร มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญเติบโตเส้นใย ได้เท่ากับ 86.00 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาที่ระดับความเข้มข้น 10, 5 และ 3 ppm มีเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ยอยู่ที่ 1.26, 1.91 และ 2.76เซนติเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 4.8, ภาพที่ 4.25) เมื่อเปรียบเทียบกับความเข้มข้นที่ 0 ppm โดยที่ระดับความเข้มข้น 10, 5 และ 3 ppm มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญเติบโตเส้นใย เท่ากับ 74.75, 61.75 และ 44.75 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อนำเชื้อรา *P. palmivora* มาทำการตรวจนับปริมาณสปอร์พบว่า ที่ความเข้มข้น 30 ppm พบปริมาณสปอร์เฉลี่ยน้อยที่สุด เท่ากับ 0.25×10^4 สปอร์/มิลลิลิตร มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการสร้างสปอร์ได้ดีที่สุด เท่ากับ 99.55 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาที่ระดับความเข้มข้น 10, 5 และ 3 ppm พบปริมาณสปอร์เฉลี่ย 5.75×10^4, 15.00×10^4 และ 38.00×10^4

สปอร์/มิลลิลิตร ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับความเข้มข้นที่ 0 ppm โดยที่ระดับความเข้มข้น 10, 5 และ 3 ppm มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการสร้างสปอร์ ได้เท่ากับ 89.73, 73.21 และ32.14 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ จากการทดสอบประสิทธิภาพ nano – elicitor จากเชื้อรา *Ch. cupreum* ที่สกัดด้วย methanol มีค่า ED_{50} เท่ากับ 3.81 µg/ml (ตารางที่ 4.8)

ตารางที่ 4.8 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของ nano – elicitors จากเชื้อรา *Ch. cupreum* ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *P. palmivora*

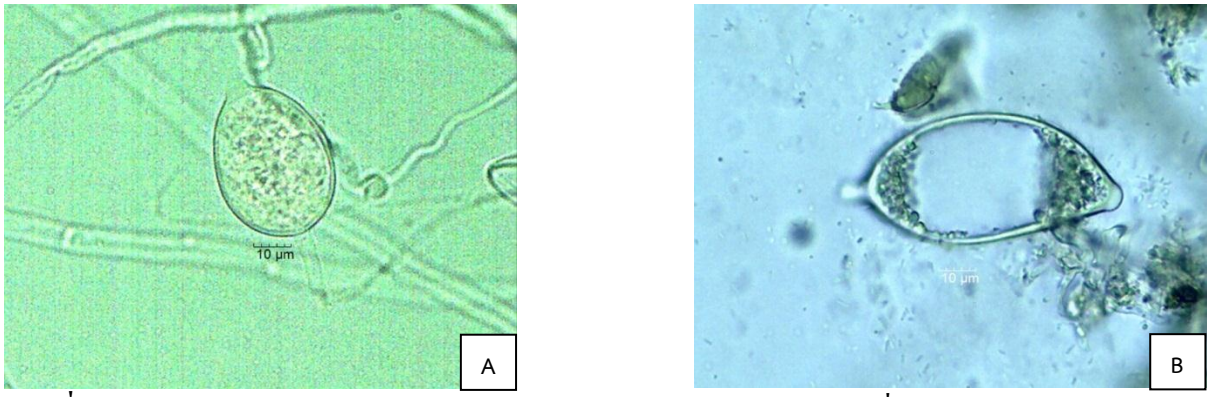
ผลิตภัณฑ์นาโน	ความเข้มข้น (ppm)	ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี (ซม.) [/1]	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโต [/2,3]	ปริมาณสปอร์ (10^4 สปอร์/มล.) [/4]	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการสร้างสปอร์ [/5,6]	ED_{50} (µg/ml)
hexane	0	5.00a	-	56.00a	-	3.49
	3	2.43c	51.25f	30.81c	44.97f	
	5	1.91e	61.75d	19.93d	64.39e	
	10	1.55f	69.00c	9.87f	82.36c	
	15	0.70h	86.00a	2.00h	96.42a	
ethyl acetate	0	5.00a	-	56.00a	-	3.47
	3	2.16d	56.75e	30.25c	45.98f	
	5	1.97e	60.50d	19.87d	64.50e	
	10	1.61f	67.75c	11.75f	79.01c	
	15	0.70h	86.00a	1.50h	97.32a	
methanol	0	5.00a	-	56.00a	-	3.81
	3	2.76b	44.75g	38.00b	32.14g	
	5	1.91e	61.75d	15.00e	73.21d	
	10	1.26g	74.75b	5.75g	89.73b	
	15	0.70h	86.00a	0.25h	99.55a	
	C.V. (%)	5.01		7.02		



ภาพที่ 4.23 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของ nano – elicitors จากเชื้อรา *Ch. cupreum* ที่สกัดด้วย hexane ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *P. palmivora*

ภาพที่ 4.24 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของ nano – elicitors จากเชื้อรา *Ch. cupreum* ที่สกัดด้วย ethyl acetate ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *P. palmivora*

ภาพที่ 4.25 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของ nano – elicitors จากเชื้อรา *Ch. cupreum* ที่สกัดด้วย methanol ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *P. palmivora*



ภาพที่ 4.26 ศึกษาเปรียบเทียบลักษณะของ sporangia ; A = sporangia ที่ระดับความเข้มข้น 0 ppm, B = sporangia ที่ระดับความเข้มข้น 1000 ppm

การทดสอบประสิทธิภาพของ nano – elicitors จากเชื้อรา *Ch. elatum* ที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด ได้แก่ hexane, ethyl acetate และ methanol ในการยับยั้งการเจริญเติบโตเส้นใย และการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *P. palmivora*

จากการทดสอบประสิทธิภาพ nano – elicitor จากเชื้อรา *Ch. elatum* ที่สกัดด้วย hexane ในการยับยั้งการเจริญเติบโตเส้นใย ที่ระดับความเข้มข้น 15 ppm ได้ดีที่สุด ซึ่งมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ยอยู่ที่ 1.81 เซนติเมตร มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญเติบโตเส้นใย ได้เท่ากับ 63.80 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาที่ระดับความเข้มข้น 10, 5 และ 3 ppm มีเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ยอยู่ที่ 2.12, 2.42 และ 2.53 เซนติเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 4.9, ภาพที่ 4.27) เมื่อเปรียบเทียบกับความเข้มข้นที่ 0 ppm โดยที่ระดับความเข้มข้น 10, 5 และ 3 ppm มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญเติบโตเส้นใย เท่ากับ 57.60, 51.60 และ 49.40 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อนำเชื้อรา

P. palmivora ทำการตรวจนับปริมาณสปอร์พบว่า ที่ความเข้มข้น 15 ppm พบปริมาณสปอร์เฉลี่ยน้อยที่สุด เท่ากับ 14.50 × 10^4 สปอร์/มิลลิลิตร มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการสร้างสปอร์ได้ดีที่สุด เท่ากับ 76.65 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาที่ระดับความเข้มข้น 10, 5และ 3 ppm พบปริมาณสปอร์เฉลี่ย 30.06 × 10^4, 36.68 × 10^4 และ 38.87 × 10^4 สปอร์/มิลลิลิตร ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับความเข้มข้นที่ 0 ppm โดยที่ระดับความเข้มข้น 10, 5 และ 3 ppm มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการสร้างสปอร์ ได้เท่ากับ 51.60, 40.94 และ 37.42 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ จากการทดสอบประสิทธิภาพ nano – elicitor จากเชื้อรา *Ch. elatum* ที่สกัดด้วย hexane มีค่า ED_{50} เท่ากับ 28.54 µg/ml (ตารางที่ 4.9)

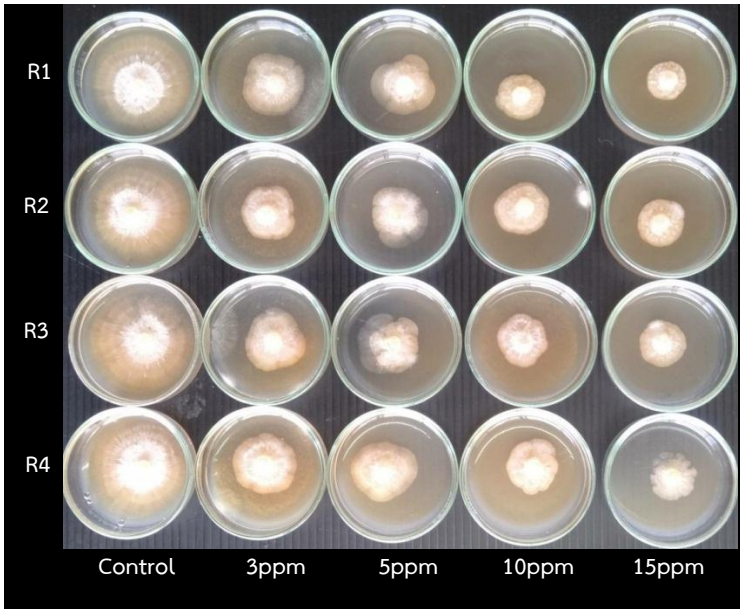
จากการทดสอบประสิทธิภาพ nano – elicitor จากเชื้อรา *Ch. elatum* ที่สกัดด้วย ethyl acetate ในการยับยั้งการเจริญเติบโตเส้นใย ที่ระดับความเข้มข้น 15 ppm ได้ดีที่สุด ซึ่งมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ยอยู่ที่ 1.58 เซนติเมตร มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญเติบโตเส้นใย ได้เท่ากับ 68.40 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาที่ระดับความเข้มข้น 10, 5 และ 3 ppm มีเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ยอยู่ที่ 2.21, 2.38 และ 2.63 เซนติเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 4.9, ภาพที่ 4.28) เมื่อเปรียบเทียบกับความเข้มข้นที่ 0 ppm โดยที่ระดับความเข้มข้น 10, 5 และ 3 ppm มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญเติบโตเส้นใย เท่ากับ 55.80, 52.40 และ 47.40 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อนำเชื้อรา *P. palmivora* มาทำการตรวจนับปริมาณสปอร์พบว่า ที่ความเข้มข้น 15 ppm พบปริมาณสปอร์เฉลี่ยน้อยที่สุด เท่ากับ 13.12 ×10^4 สปอร์/มิลลิลิตร มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการสร้างสปอร์ได้ดีที่สุด เท่ากับ 78.87 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาที่ระดับความเข้มข้น 10, 5 และ 3 ppm พบปริมาณสปอร์เฉลี่ย 25.68 × 10^4, 34.43 × 10^4 และ 39.56 × 10^4 สปอร์/มิลลิลิตร ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับความเข้มข้นที่ 0 ppm โดยที่ระดับความเข้มข้น 10, 5 และ 3 ppm มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการสร้างสปอร์ ได้เท่ากับ 58.56, 44.56 และ 36.31เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ จากการทดสอบประสิทธิภาพ nano – elicitor จากเชื้อรา *Ch. elatum* ที่สกัดด้วย ethyl acetate มีค่า ED_{50} เท่ากับ 23.34 µg/ml (ตารางที่ 4.9)

จากการทดสอบประสิทธิภาพ nano – elicitor จากเชื้อรา *Ch. elatum* ที่สกัดด้วย methanol ในการยับยั้งการเจริญเติบโตเส้นใย ที่ระดับความเข้มข้น 15 ppm ได้ดีที่สุด ซึ่งมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ยอยู่ที่ 0.91 เซนติเมตร มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญเติบโตเส้นใย ได้เท่ากับ 81.80 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาที่ระดับความเข้มข้น 10, 5 และ 3 ppm มีเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ยอยู่ที่ 2.17, 2.50 และ 3.37 เซนติเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 4.9, ภาพที่ 4.29) เมื่อเปรียบเทียบกับความเข้มข้นที่ 0 ppm โดยที่ระดับความเข้มข้น 10, 5 และ 3 ppm มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญเติบโตเส้นใย เท่ากับ 56.50, 50.00 และ 32.60 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อนำเชื้อรา *P. palmivora* ทำการตรวจนับปริมาณสปอร์พบว่า ที่ความเข้มข้น 15 ppm พบปริมาณสปอร์เฉลี่ยน้อยที่สุด เท่ากับ 7.50 × 10^4 สปอร์/มิลลิลิตร มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการสร้างสปอร์ได้ดีที่สุด เท่ากับ 88.83 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาที่ระดับความเข้มข้น 10, 5 และ 3 ppm พบปริมาณสปอร์เฉลี่ย 19.68 × 10^4, 22.56 × 10^4 และ 44.18 × 10^4 สปอร์/มิลลิลิตร ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับความเข้มข้นที่ 0 ppm โดยที่ระดับความเข้มข้น 10, 5 และ 3 ppm มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการสร้างสปอร์ ได้เท่ากับ 68.30, 63.68 และ 28.87 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ จากการ

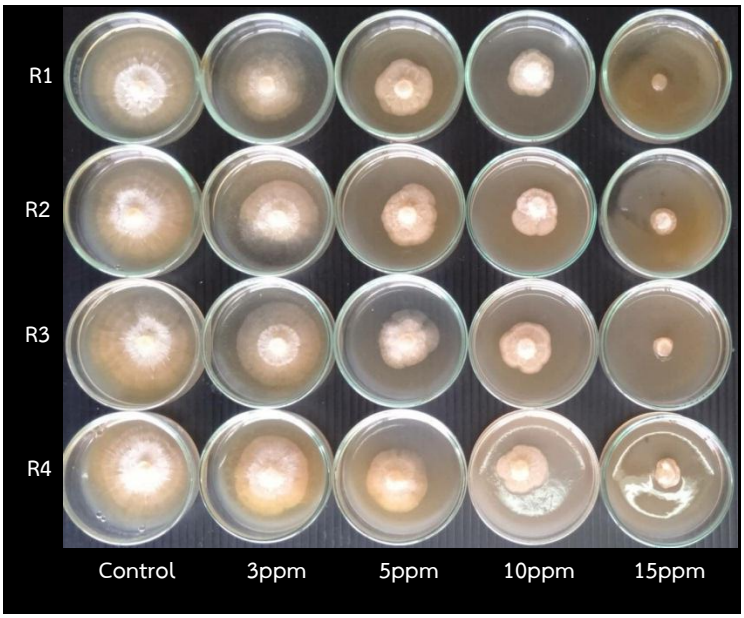
ทดสอบประสิทธิภาพ nano – elicitor จากเชื้อรา *Ch. elatum* ที่สกัดด้วย methanol มีค่า ED_{50} เท่ากับ 27.61 µg/ml (ตารางที่ 4.9)

ตารางที่ 4.9 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของ nano – elicitors จากเชื้อรา *Ch. elatum* ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *P. palmivora*

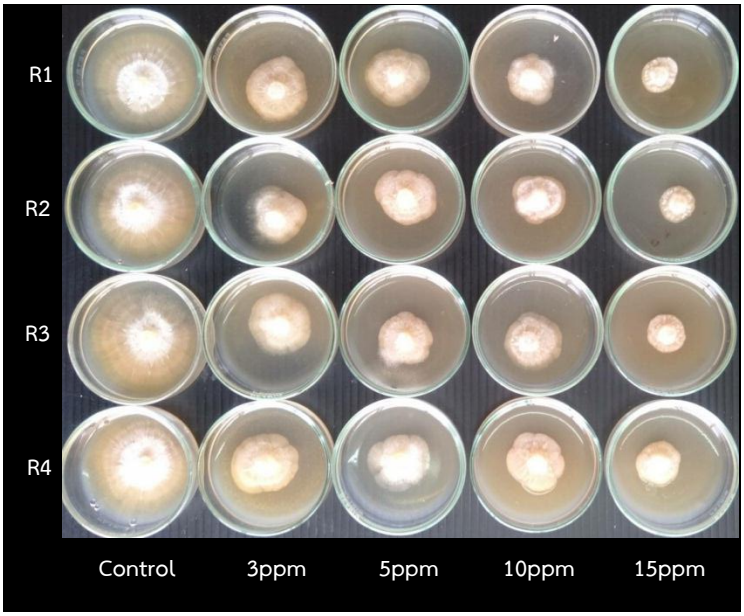
nano - elicitors	ความเข้มข้น (ppm)	ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี (ซม.) [/1]	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโต [/2,3]	ปริมาณสปอร์ (10^4 สปอร์/มล.) [/4]	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการสร้างสปอร์ [/5,6]	ED50 (µg/ml)
hexane	0	5.00a	0h	62.12a	0i	28.54
	3	2.53cd	49.40fe	38.87cd	37.42gf	
	5	2.42d	51.60e	36.68cd	40.94gf	
	10	2.12e	57.60d	30.06e	51.60e	
	15	1.81f	63.80c	14.50h	76.65b	
ethyl acetate	0	5.00a	0h	62.12a	0i	23.34
	3	2.63b	47.40g	39.56c	36.31g	
	5	2.38d	52.40e	34.43d	44.56f	
	10	2.21e	55.80d	25.68f	58.65d	
	15	1.58g	68.40b	13.12h	78.87b	
methanol	0	5.00a	0h	62.12a	0i	27.61
	3	3.37b	32.60g	44.18b	28.87h	
	5	2.50cd	50.00fe	22.56fg	63.68dc	
	10	2.17e	56.60d	19.68g	68.30c	
	15	0.91h	81.8a	7.5i	88.83a	
	C.V. (%)	3.75		8.04		



ภาพที่ 4.27 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของ nano – elicitors จากเชื้อรา *Ch. elatum* ที่สกัดด้วย hexane ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *P. palmivora*



ภาพที่ 4.28 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของ nano – elicitors จากเชื้อรา *Ch. elatum* ที่สกัดด้วย ethyl acetate ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *P. palmivora*



ภาพที่ 4.29 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของ nano – elicitors จากเชื้อรา *Ch. elatum* ที่สกัดด้วย methanol ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *P. palmivora*

ภาพที่ 4.30 ศึกษาเปรียบเทียบลักษณะของ sporangia ; A = sporangia ที่ระดับความเข้มข้น 0 ppm, B = sporangia ที่ระดับความเข้มข้น 1000 ppm

การทดสอบประสิทธิภาพของ nano – elicitors จากเชื้อรา *Ch. lucknowense* ที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด ได้แก่ hexane, ethyl acetate และ methanol ในการยับยั้งการเจริญเติบโตเส้นใย และการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *P. palmivora*

การทดสอบประสิทธิภาพ nano – elicitor จากเชื้อรา *Ch. lucknowense* ที่สกัดด้วย hexane ในการยับยั้งการเจริญเติบโตเส้นใย ที่ระดับความเข้มข้น 15 ppm ได้ดีที่สุด ซึ่งมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ยอยู่ที่ 1.52 เซนติเมตร มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญเติบโตเส้นใย ได้เท่ากับ 69.50 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาที่ระดับความเข้มข้น 10, 5 และ 3 ppm มีเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ยอยู่ที่ 2.10, 2.12และ 2.72 เซนติเมตร ตามลำดับ

(ตารางที่ 4.10, ภาพที่ 4.31) เมื่อเปรียบเทียบกับความเข้มข้นที่ 0 ppm โดยที่ระดับความเข้มข้น 10, 5 และ 3 ppm มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญเติบโตเส้นใย เท่ากับ 58, 57.50และ 45.50 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อนำเชื้อรา *P. palmivora* มาทำการตรวจนับปริมาณสปอร์พบว่า ที่ความเข้มข้น 15 ppm พบปริมาณสปอร์เฉลี่ยน้อยที่สุด เท่ากับ 4 × 10^4 สปอร์/มิลลิลิตร มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการสร้างสปอร์ได้ดีที่สุด เท่ากับ 93.70 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาที่ระดับความเข้มข้น 10, 5และ 3 ppm พบปริมาณสปอร์เฉลี่ย 11.62 × 10^4, 12.75 × 10^4 และ 22.93 × 10^4 สปอร์/มิลลิลิตร ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับความเข้มข้นที่ 0 ppm โดยที่ระดับความเข้มข้น 10, 5 และ 3 ppm มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการสร้างสปอร์ ได้เท่ากับ 81.70, 79.92 และ 63.88 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ จากการทดสอบประสิทธิภาพ nano – elicitor จากเชื้อรา *Ch. lucknowense* ที่สกัดด้วย hexane มีค่า ED_{50} เท่ากับ 8.64 µg/ml (ตารางที่ 4.10)

การทดสอบประสิทธิภาพ nano – elicitor จากเชื้อรา *Ch. lucknowense* ที่สกัดด้วย ethyl acetate ในการยับยั้งการเจริญเติบโตเส้นใย ที่ระดับความเข้มข้น 15 ppm ได้ดีที่สุด ซึ่งมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ยอยู่ที่ 1.81 เซนติเมตร มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญเติบโตเส้นใย ได้เท่ากับ 63.75 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาที่ระดับความเข้มข้น 10, 5 และ 3 ppm มีเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ยอยู่ที่ 2.11, 2.46 และ 2.87 เซนติเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 4.10, ภาพที่ 4.32) เมื่อเปรียบเทียบกับความเข้มข้นที่ 0 ppm โดยที่ระดับความเข้มข้น 10, 5 และ 3 ppm มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญเติบโตเส้นใย เท่ากับ 57.75, 50.75 และ 42.50 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อนำเชื้อรา *P. palmivora* มาทำการตรวจนับปริมาณสปอร์พบว่า ที่ความเข้มข้น 15 ppm พบปริมาณสปอร์เฉลี่ยน้อยที่สุด เท่ากับ 2.43 ×10^4 สปอร์/มิลลิลิตร มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการสร้างสปอร์ได้ดีที่สุด เท่ากับ 96.17 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาที่ระดับความเข้มข้น 10, 5 และ 3 ppm พบปริมาณสปอร์เฉลี่ย 13.93 × 10^4, 13.43 × 10^4 และ 26.18 × 10^4 สปอร์/มิลลิลิตร ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับความเข้มข้นที่ 0 ppm โดยที่ระดับความเข้มข้น 10, 5 และ 3 ppm มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการสร้างสปอร์ ได้เท่ากับ 78.06, 78.85 และ 58.77 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ จากการทดสอบประสิทธิภาพ nano – elicitor จากเชื้อรา *Ch. lucknowense* ที่สกัดด้วย ethyl acetate มีค่า ED_{50} เท่ากับ 5.35 µg/ml (ตารางที่ 4.10)

การทดสอบประสิทธิภาพ nano – elicitor จากเชื้อรา *Ch. lucknowense* ที่สกัดด้วย methanol ในการยับยั้งการเจริญเติบโตเส้นใย ที่ระดับความเข้มข้น 15 ppm ได้ดีที่สุด ซึ่งมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ยอยู่ที่ 2.01 เซนติเมตร มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญเติบโตเส้นใย ได้เท่ากับ 59.80 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาที่ระดับความเข้มข้น 10, 5 และ 3 ppm มีเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ยอยู่ที่ 2.21, 2.17 และ 2.51 เซนติเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 4.10, ภาพที่ 4.33) เมื่อเปรียบเทียบกับความเข้มข้นที่ 0 ppm โดยที่ระดับความเข้มข้น 10, 5 และ 3 ppm มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญเติบโตเส้นใย เท่ากับ 55.75, 56.50 และ 49.75 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อนำเชื้อรา *P. palmivora* มาทำการตรวจนับปริมาณสปอร์พบว่า ที่ความเข้มข้น 15 ppm พบปริมาณสปอร์เฉลี่ยน้อยที่สุด เท่ากับ 6.12 × 10^4 สปอร์/มิลลิลิตร มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการสร้างสปอร์ได้ดีที่สุด เท่ากับ 90.36 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาที่ระดับความเข้มข้น 10, 5 และ 3 ppm พบปริมาณสปอร์เฉลี่ย 12.50 × 10^4, 14.31 × 10^4 และ 22.62 × 10^4 สปอร์/มิลลิลิตร ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับความเข้มข้นที่ 0 ppm โดยที่ระดับความเข้มข้น 10, 5 และ

3 ppm มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการสร้างสปอร์ ได้เท่ากับ 80.31, 77.46 และ 64.37 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ จากการทดสอบประสิทธิภาพ nano – elicitor จากเชื้อรา *Ch. lucknowense* ที่สกัดด้วย methanol มีค่า ED_{50} เท่ากับ 2.21 µg/ml (ตารางที่ 4.10)

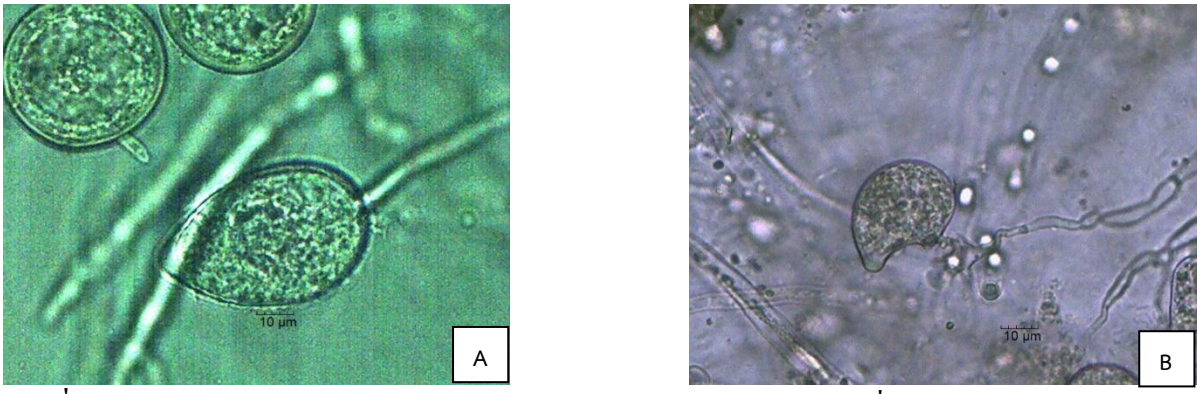
ตารางที่ 4.10 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของ nano – elicitors จากเชื้อรา *Ch. lucknowense* ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *P. palmivora*

nano - elicitors	ความเข้มข้น (ppm)	ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี (ซม.) [/1]	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโต [/2,3]	ปริมาณสปอร์ (10^4 สปอร์/มล.) [/4]	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการสร้างสปอร์ [/5,6]	ED50 (µg/ml)
hexane	0	5.00a	0f	63.50a	0d	8.64
	3	2.72b	45.50e	22.93b	63.88d	
	5	2.12d	57.50c	12.75c	79.92b	
	10	2.10d	58.00c	11.62c	81.70b	
	15	1.52f	69.50a	4.00d	93.70a	
ethyl acetate	0	5.00a	0f	63.50a	0d	5.35
	3	2.87b	42.50e	26.18b	58.77c	
	5	2.46c	50.75d	13.43c	78.85b	
	10	2.11d	57.75c	13.93c	78.06b	
	15	1.81e	63.75b	2.43d	96.17a	
methanol	0	5.00a	0f	63.50a	0d	2.21
	3	2.51c	49.75d	22.62b	64.37c	
	5	2.17d	56.50c	14.31c	77.46b	
	10	2.21d	55.75c	12.50c	80.31b	
	15	2.01d	59.80c	6.12d	90.36a	
	C.V. (%)	3.79		7.73		

ภาพที่ 4.31 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของ nano – elicitors จากเชื้อรา *Ch. lucknowense* ที่สกัดด้วย hexane ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *P. palmivora*

ภาพที่ 4.32 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของ nano – elicitors จากเชื้อรา *Ch. lucknowense* ที่สกัดด้วย ethyl acetate ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *P. palmivora*

ภาพที่ 4.33 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของ nano – elicitors จากเชื้อรา *Ch. lucknowense* ที่สกัดด้วย methanol ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *P. palmivora*



ภาพที่ 4.34 ศึกษาเปรียบเทียบลักษณะของ sporangia ; A = sporangia ที่ระดับความเข้มข้น 0 ppm, B = sporangia ที่ระดับความเข้มข้น 1000 ppm

4.8 การทดสอบประสิทธิภาพของ nano – elicitors จากสารสกัดเชื้อรา *Chaetomium* spp. ในกระถางทดลอง

จากการทดสอบประสิทธิภาพของ nano – elicitors จากเชื้อรา *Ch. cupreum, Ch. elatum, Ch. lucknowense* และสารเคมี metalaxyl ในการยับยั้งโรครากเน่าโค่นเน่าในกระถางทดลอง พบว่าทรีตเมนท์ที่ไม่ได้ทำการปลูกเชื้อรา *P. palmivora* ไม่พบเห็นอาการของโรครากเน่าโค่นเน่า แตกต่างจาก ทรีตเมนท์ที่ทำการปลูกเชื้อรา *P. palmivora* ที่ปราศจากการฉีดพ่นด้วย nano – elicitor และสารเคมี metalaxyl เริ่มแสดงอาการของโรคในเดือนที่ 2 โดยมีระดับการเกิดโรคเฉลี่ยอยู่ที่ระดับ 2.5 และมีระดับการเกิดโรคเฉลี่ยเพิ่มขึ้นในทุกๆ เดือน จนถึงเดือนที่ 6 และ7 มีระดับการเกิดโรคเฉลี่ยสูงที่สุดอยู่ที่ระดับ 6

สำหรับทรีตเมนท์ที่ทำการปลูกเชื้อรา *P. palmivora*. และฉีดพ่นด้วย nano – elicitor จากเชื้อรา *Ch. cupreum, Ch. elatum, Ch. lucknowense* และสารเคมี metalaxyl เริ่มแสดงอาการของโรคในเดือนที่ 2 โดยมีระดับการเกิดโรคเฉลี่ยอยู่ที่ระดับ 3, 2.5, 2.25 และ2.5 ตามลำดับ ซึ่งมีระดับการเกิดโรคเฉลี่ยเพิ่มขึ้นในทุกๆเดือน จนถึงเดือนที่ 4 มีระดับการเกิดโรคเฉลี่ยสูงที่สุดอยู่ที่ระดับ 3.75, 3.50,3.25 และ2.75 ตามลำดับ หลังจากทำการทดสอบทรีตเมนท์ที่ทำการปลูกเชื้อรา *P. palmivora*. และฉีดพ่นด้วย nano – elicitor จากเชื้อรา *Ch. cupreum, Ch. elatum, Ch. lucknowense* และสารเคมี metalaxyl จนถึงเดือนที่ 5 มีระดับการเกิดโรคเฉลี่ยเริ่มลดลงจนถึงเดือนที่ 7 มีระดับการเกิดโรคเฉลี่ยต่ำที่สุดอยู่ที่ระดับ 1, 1.25, 1 และ1.5 ตามลำดับ (ตารางที่ 4.11)

ตารางที่ 4.11 ระดับการเกิดโรคเฉลี่ยของต้นทุเรียนที่ทำการทดสอบประสิทธิภาพของ nano – elicitors จากเชื้อรา *Chaetomium* spp. เดือนที่ 1 – 7 ในกระถางทดลอง

Treatment	ระดับการเกิดโรค (ค่าเฉลี่ย) [/1]						
	เดือนที่ 1	เดือนที่ 2	เดือนที่ 3	เดือนที่ 4	เดือนที่ 5	เดือนที่ 6	เดือนที่ 7
T1	1	1b	1c	1d	1d	1d	1c
T2	1	2.5a	4.5a	5.25a	5.5a	6a	6a
T3	1	3a	3.75ab	3.75b	3b	2.25bc	1c
T4	1	2.5a	3b	3.5bc	3b	2c	1.25bc
T5	1	2.25a	3b	3.25bc	2.5bc	2.5b	1c
T6	1	2.5a	3b	2.75c	2.25c	2c	1.5b
c.v. (%)		23.78	23.04	18.37	15.54	13.42	16.35

จากการทดสอบประสิทธิภาพของ nano – elicitors จากเชื้อรา *Ch. cupreum, Ch. elatum, Ch. lucknowense* และสารเคมี metalaxyl ในการยับยั้งโรครากเน่าโค่นเน่าในกระถางทดลอง พบว่าทรีตเมนท์ที่ทำการปลูกเชื้อรา *P. palmivora* ที่ปราศจากการฉีดพ่นด้วย nano – elicitor และสารเคมี metalaxyl แสดงอาการชะงักการเจริญเติบโตของต้นทุเรียนตั้งแต่เดือนที่ 2 ถึงเดือนที่ 7โดยมีระดับความสูงเฉลี่ยเท่ากับ 50.96 เซนติเมตร

สำหรับต้นทุเรียนที่ทำการทดสอบประสิทธิภาพของ nano – elicitors จากเชื้อรา *Ch. cupreum, Ch. elatum, Ch. lucknowense* และสารเคมี metalaxyl พบว่าในเดือนที่ 1 และ2 มีการเจริญเติบโตของต้นไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยเดือนที่ 1 และเดือนที่ 2 มีความสูงเฉลี่ย 50.00 และ51.45 เซนติเมตร ตามลำดับ สำหรับเดือนที่ 3 มีความสูงเฉลี่ยอยู่ในช่วง 51.50 - 55.50 เซนติเมตร โดยทรีตเมนต์ที่มีความสูงเฉลี่ยสูงที่สุด คือ ทรีตเมนท์ที่ทำการฉีดพ่นด้วย nano – elicitor จากเชื้อรา *Ch. lucknowense* โดยมีความสูงเฉลี่ยเท่ากับ 55.50 เซนติเมตร เดือนที่ 4 มีความสูงเฉลี่ยอยู่ในช่วง 51.50 - 57.50 เซนติเมตร โดยทรีตเมนต์ที่มีความสูงเฉลี่ยสูงที่สุด คือ ทรีตเมนท์ที่ทำการฉีดพ่นด้วย nano – elicitor จากเชื้อรา *Ch. cupreum, Ch. elatum, Ch.*

lucknowense และทรีตเมนต์ที่ปราศจากการปลูกเชื้อรา *P. palmivora* โดยมีความสูงเฉลี่ยเท่ากับ 55.00, 55.00, 57.00 และ 57.50 เซนติเมตร ตามลำดับ เดือนที่ 5 มีความสูงเฉลี่ยอยู่ในช่วง 51.50 - 60.50 เซนติเมตร โดยทรีตเมนต์ที่มีความสูงเฉลี่ยสูงที่สุด คือ ทรีตเมนท์ที่ทำการฉีดพ่นด้วย nano – elicitor จากเชื้อรา *Ch. cupreum, Ch. elatum, Ch. lucknowense* ,สารเคมี metalaxyl และทรีตเมนต์ที่ปราศจากการปลูกเชื้อรา *P. palmivora* โดยมีความสูงเฉลี่ยเท่ากับ 60.00, 60.00, 60.50, 57.00 และ58.25 เซนติเมตร ตามลำดับ เดือนที่ 6 มีความสูงเฉลี่ยอยู่ในช่วง 51.50 - 63.50 เซนติเมตร โดยทรีตเมนต์ที่มีความสูงเฉลี่ยสูงที่สุด คือ ทรีตเมนท์ที่ทำการฉีดพ่นด้วย nano – elicitor จากเชื้อรา *Ch. lucknowense* โดยมีความสูงเฉลี่ยเท่ากับ 63.50 เซนติเมตร เดือนที่ 7 มีความสูงเฉลี่ยอยู่ในช่วง 51.50 - 67.25 เซนติเมตร โดยทรีตเมนต์ที่มีความสูงเฉลี่ยสูงที่สุด คือ ทรีตเมนท์ที่ทำการฉีดพ่นด้วย nano – elicitor จากเชื้อรา *Ch. cupreum* โดยมีความสูงเฉลี่ยเท่ากับ 67.25 เซนติเมตร(ตารางที่ 4.12)

ตารางที่ 4.12 ความสูงเฉลี่ยของต้นทุเรียนที่ทำการทดสอบประสิทธิภาพของ nano – elicitors จากเชื้อรา *Chaetomium* spp. เดือนที่ 1 – 7 ในกระถางทดลอง

Treatment	ความสูงต้น (ซม.)[/1]						
	เดือนที่ 1	เดือนที่ 2	เดือนที่ 3	เดือนที่ 4	เดือนที่ 5	เดือนที่ 6	เดือนที่ 7
T1	50.50a	51.75a	54.50ab	57.50a	58.25a	59.75ab	62.75bc
T2	48.75a	50.50a	51.50c	51.50b	51.50b	51.50c	51.50d
T3	49.50a	52.00a	52.50bc	55.00a	60.00a	62.75ab	67.25a
T4	50.50a	51.00a	54.00abc	55.00a	60.00a	62.25ab	66.00abc
T5	50.25a	51.50a	55.50a	57.00a	60.50a	63.50a	66.75ab
T6	50.50a	52.00a	54.00abc	54.50ab	57.00a	59.00b	62.00c
c.v. (%)	4.00	3.23	3.52	4.30	4.75	4.94	5.05

ภาพที่ 4.35 ต้นทุเรียนที่ทำการทดสอบประสิทธิภาพของ nano – elicitors จากเชื้อรา *Chaetomium* spp. เป็นระยะเวลา 1 เดือน

ภาพที่ 4.36 ต้นทุเรียนที่ทำการทดสอบประสิทธิภาพของ nano – elicitors จากเชื้อรา *Chaetomium* spp. เป็นระยะเวลา 2 เดือน

ภาพที่ 4.37 ต้นทุเรียนที่ทำการทดสอบประสิทธิภาพของ nano – elicitors จากเชื้อรา *Chaetomium* spp. เป็นระยะเวลา 3 เดือน

ภาพที่ 4.38 ต้นทุเรียนที่ทำการทดสอบประสิทธิภาพของ nano – elicitors จากเชื้อรา *Chaetomium* spp. เป็นระยะเวลา 4 เดือน

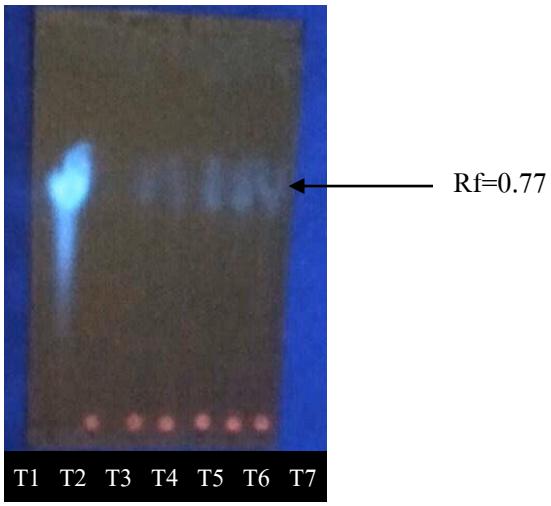
ภาพที่ 4.39 ต้นทุเรียนที่ทำการทดสอบประสิทธิภาพของ nano – elicitors จากเชื้อรา *Chaetomium* spp. เป็นระยะเวลา 5 เดือน

ภาพที่ 4.40 ต้นทุเรียนที่ทำการทดสอบประสิทธิภาพของ nano – elicitors จากเชื้อรา *Chaetomium* spp. เป็นระยะเวลา 6 เดือน

ภาพที่ 4.41 ต้นทุเรียนที่ทำการทดสอบประสิทธิภาพของ nano – elicitors จากเชื้อรา *Chaetomium* spp. เป็นระยะเวลา 7 เดือน

4.9 การตรวจหา phytoalexin

จากการตรวจสารต่อต้านเชื้อรา Scopoletin ในแต่ละวิธีการที่อายุพืช 7 เดือน พบว่าวิธีการที่ไม่ได้ปลูกเชื้อรา *P. palmivora* ไม่พบการสร้างสาร Scopoletin วิธีการปลูกเชื้อรา *P. palmivora* เพียงอย่างเดียว พบการสร้างสารในปริมาณน้อย วิธีการปลูกเชื้อรา *P. palmivora* และฉีดพ่นสาร nano – elicitor ที่ได้จาก *Ch. cupreum* มีการสร้างสาร Scopoletin ในระดับน้อย ส่วนวิธีการที่ปลูกเชื้อรา *P. palmivora* และฉีดพ่นสาร nano – elicitor ที่ได้จาก *Ch. elatum* และ *Ch. lucknowense* สร้างสาร Scopoletin ได้ในระดับปานกลาง ซึ่งไม่แตกต่างจากวิธีการใช้สารเคมี metalaxyl ที่สามารถกระตุ้นให้ทุเรียนสร้างสาร Scopoletin ได้ในระดับใกล้เคียงกัน จากการตรวจสอบโดยวิธี TLC ภายใต้แสง UV ที่ความยาวคลื่น 254 nm พบว่าวิธีการที่ใช้ nano – elicitors ที่ได้จากเชื้อรา *Ch. cupreum, Ch. elatum, Ch. lucknowense* และสารเคมี metalaxyl พบ spot บนแผ่น TLC ในตัวเปรียบเทียบ(Scopoletin) อยู่ในระดับเดียวกันมีค่า RF เท่ากับ 0.77 จึงสันนิฐานว่า nano – elicitors จากเชื้อรา Chaetomium spp. สามารถชักนำให้ทุเรียนเกิดภูมิคุ้มกันกับโรครากเน่าโคนเน่าที่เกิดจากเชื้อรา *P. palmivora* ได้ (ภาพที่ 4.42)



ภาพที่ 4.42 โครมาโทแกรมของสารวัฏเคลื่อนที่ toluene : ethyl acetate, 1 : 1

วิจารณ์ผลการทดลอง

จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อสาเหตุโรค *P. palmivora* ที่เลี้ยงบนอาหาร PDA บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องลักษณะโคโลนี เจริญฟูสีขาว โดยเชื้อราจะเจริญเต็มผิวหน้าอาหารใช้เวลาเพียง 4 วัน เมื่อนำไปตรวจสอบใต้กล้องจุลทรรศน์ พบ sporangia มีลักษณะเป็นทรงกลม หรือเป็นรูปไข่ zoospore จะถูกดันออกมาทางปลาย sporangia ทางด้านที่มี papilla สำหรับการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศจะพบการสร้าง Oogonia ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Suzui และคณะ (1979) รายงานลักษณะของเชื้อรา *P. palmivora* สาเหตุโรครากและโคนเน่า ของทุเรียนไว้ดังนี้ คือ เส้นใยมีขนาด 3.6 x 5.7 ไมโครเมตร ผนังเรียบ sporangiophore เรียวยาว แตกกิ่งก้านแบบ sympodial หรือไม่แน่นอน มีความกว้าง 2.3 - 4.5 ไมโครเมตร sporangium รูปร่างแบน ovate หรือ elongate elliptical ขนาด 35 - 115 x 23 - 46 ไมโครเมตร สัดส่วนความยาวต่อความกว้างของ sporangium เป็น 1.6 : 1 ส่วนปลายของ sporangium มี papilla ผนังหนา 4.7 ไมโครเมตร pedicel ยาว 2.3 - 4.5 ไมโครเมตร sporangium เมื่อแก่จะหลุดออกจากกัน บริเวณปลายเส้นใยสร้าง chlamydospore รูปร่างกลมขนาด 25 - 42 ไมโครเมตร ผนังเรียบและบาง สืบพันธุ์แบบอาศัยเพศเป็น heterothallic สร้าง oogonium รูปร่างกลม ผนังบางขรุขระ ขนาด 20 - 28 ไมโครเมตร มีสีเหลืองถึงสีทอง antheridium เป็นแบบ amphigynous รูปร่างกลม ขนาดเฉลี่ย 13 x 13 ไมโครเมตร oospore เจริญเกือบเต็ม oogonium ขนาดเฉลี่ย 22 ไมโครเมตร ผนังหนา 2.1 ไมโครเมตร สีเหลืองถึงสีเหลืองน้ำตาล

จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Chaetomium* spp. ทั้ง 3 สายพันธุ์ ได้แก่ *Ch. cupreum, Ch. elatum* และ*Ch. lucknowense* ได้ทำการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Chaetomium* spp. ทั้ง 3 สายพันธุ์ พบว่ามีลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่สอดคล้องกับรายงานของ Wang *et al.*(2018)

จากการทดสอบการเกิดโรคบนใบและต้นทุเรียน พบว่า เชื้อรา *P. palmivora* ก่อให้เกิดอาการของโรคบนใบเป็นวงสีน้ำตาล ฉ่ำน้ำ รอบบริเวณวุ้นที่ทำการปลูกเชื้อรา *P. palmivora* และต้นทุเรียนมีอาการทรุดโทรม มีใบเหลือง และกิ่งแห้งตาย ซึ่งมีลักษณะอาการของโรคสอดคล้องกับรายงานของ ธิติยา และคณะ(2556)

การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *Chaetomium* spp. ทั้ง 3 สายพันธุ์ในห้องปฏิบัติการ พบว่าการทดลองเลี้ยงบนอาหารร่วม ทำให้เกิด inhibition zone ขึ้นระหว่างเชื้อรา *Chaetomium* spp. และ *P. palmivora* โดยเฉพาะการทดลองเลี้ยงบนอาหารร่วมกับเชื้อรา *Ch. cupreum* และ*Ch. lucknowense* ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Kanokmedhakul *et al*. (2002) พบว่าการเกิด inhibition zone เป็นกลไกการควบคุมโรคของเชื้อรา *Ch. globosum* ที่ผลิตสารปฏิชีวนะที่มีชื่อว่า Chaetoglobosin-C ขึ้นมาเพื่อยับยั้งการเจริญเติบโตเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรค และจากรายงานของ Prommate *et al*. (2019) พบว่าเชื้อรา *Chaetomium* spp. แสดงกลไกการเป็นปรสิต ต่อเชื้อรา *P. palmivora* แบบการพันรัดเส้นใยโดยเชื้อรา *Chaetomium* spp. เจริญรุกเข้าไปพันรัดและทำลายเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคโดยตรง

การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากเชื้อรา *Chaetomium* spp. ด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด ได้แก่ hexane, ethyl acetate และ methanol พบว่าสารสกัดจากเชื้อรา *Chaetomium* spp. ทั้ง 3 สายพันธุ์ มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเส้นใย และการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *P. palmivora* ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของ Hung *et al.* (2015) พบว่าเชื้อรา *Ch. cupreum* มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเส้นใย และการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *P. palmivora* สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าในส้มโอ โดยมีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญเส้นใย และการสร้างสปอร์เท่ากับ 49.7 และ 92.2 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เช่นเดียวกับการรายงานของ Kanokmedhakul (2006) ในการใช้เชื้อรา *Ch. cupreum* ในการยับยั้งการเจริญเส้นใย และการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *P. palmivora* โดยมีค่า ED_{50} อยู่ที่ 0.6 ppm. และมีการรายงานของ Pornsuriya *et al.* (2010) ในการใช้สารสกัดจากเชื้อรา *Ch. cupreum* ในการยับยั้งการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *P. aphanidermatum* สาเหตุโรครากเน่าของสับปะรด โดยมีค่า ED_{50} อยู่ที่ 534 ppm. นอกจากนั้นยังมีการรายงานของ Soythong (2015) พบว่าการใช้สารสกัดจากเชื้อรา *Ch. elatum* ที่สกัดด้วย methanol ในการควบคุมเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* ที่ความเข้มข้น 1000 ppm สามารถยับยั้งการเจริญเส้นใย และการสร้างสปอร์ได้ดีที่สุด เท่ากับ 51.00 และ 95.61 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยมีค่า ED_{50} อยู่ที่ 3.39 ppm

การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *Chaetomium* spp.ทั้ง 3 สายพันธ์ ในการยับยั้งการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *P. palmivora* พบว่า sporangia และเส้นใยของเชื้อรา *P. palmivora* มีลักษณะผิดปกติ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Pornsuriya *et al.* (2010) ที่ศึกษาการใช้สารสกัดเชื้อรา *Ch. cupreum* ในการควบคุมเชื้อรา *P. aphanidermatum* ในทุกระดับความเข้มข้น มีผลให้เส้นใย oogonium และ oospores มีลักษณะผิดปกติ เช่นเดียวกับการรายงานของ Prommate *et al.* (2019) พบว่าสารสกัดจากเชื้อรา *Ch. cupreum* ในการควบคุมเชื้อรา *P. palmivora* ส่งผลให้ chlamydospore ของเชื้อรามีลักษณะผิดปกติ และการรายงานของ Soytong (2015) ที่ศึกษาการใช้สารสกัดเชื้อรา *Ch.elatum* ในการควบคุมเชื้อรา *Fusarium oxysporum* มีผลให้ conidia ของเชื้อรามีลักษณะผิดปกติ

การทดสอบประสิทธิภาพ nano – elicitors จากเชื้อรา *Chaetomium* spp. ด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด ได้แก่ hexane, ethyl acetate และ methanol พบว่าสารสกัดจากเชื้อรา *Chaetomium* spp. ทั้ง 3 สายพันธุ์ มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเส้นใย และการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *P. palmivora* ได้ดียิ่งขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของ Tann and Soytong (2016) ทำการศึกษาโดยใช้ nano – elicitor จากเชื้อรา *Ch. cupreum* ที่สกัดด้วย hexane, ethyl acetate และ methanol ในการควบคุมเชื้อรา *Drechslera oryzae* ที่เป็นสาเหตุของโรคใบจุดในข้าว มีค่า ED_{50} เท่ากับ 6.41, 0.83 และ 7.81 ppm ตามลำดับ เช่นเดียวกับการรายงานของ Song and Soytong (2016) ที่ทำการศึกษาโดยใช้ nano – elicitor จากเชื้อรา *Ch. elatum* ที่สกัดด้วย hexane ในการควบคุมเชื้อรา *Pyricularia oryzae* ที่เป็นสาเหตุของโรคใบไหม้ในข้าว ที่ความเข้มข้น 15 ppm มีค่า ED_{50} เท่ากับ 3.49 ppm

จากทำการทดสอบประสิทธิภาพ nano – elicitors จากเชื้อรา *Chaetomium* spp. ในสภาพกระถางทดลอง พบว่า ในทรีตเมนท์ที่ปราศจากการปลูกเชื้อรา *P. palmivora* ไม่แสดงอาการของโรค สำหรับทรีตเมนท์ที่

ปลูกเชื้อรา *P. palmivora* และทำการฉีดพ่นด้วย nano – elicitors จากเชื้อรา *Ch. cupreum, Ch. elatum, Ch. lucknowense* และสารเคมี metalaxyl มีแนวโน้มการเกิดโรคลดลงอย่างต่อเนื่อง ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Soytong (2010) ในการใช้สารชีวภัณฑ์จากเชื้อรา *Ch. cupreum* ในการควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าทุเรียน ในสภาพแปลงทดลองพบเปอร์เซ็นต์การลดลงของโรคอยู่ที่ 76.27 เปอร์เซ็นต์ และจากการรายงานของ Soytong (2015) ในการใช้สารชีวภัณฑ์จากเชื้อรา *Ch. elatum* ในการควบคุมโรคเหี่ยวในมะเขือเทศ พบว่า ในทรีตเมนท์ที่ใช้สารชีวภัณฑ์จากเชื้อรา *Ch. elatum* ในการควบคุมโรค ทำให้ต้นพืชมีระดับการเกิดโรคลดลง และการเจริญเติบโตของต้นพืชสูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับทรีตเมนท์อื่นๆ

จากการตรวจสอบสารต่อต้านเชื้อรา scopoletin ภายใต้แสง UV ที่ความยาวคลื่น 254 nm สารที่ปรากฏมีสีฟ้าเรืองแสง มีค่า Rf เท่ากับ 0.77 ซึ่งตรงกับการรายงานของ Vogt (2010) กล่าวไว้ว่าสาร scopoletin มีชื่อทางเคมีว่า 7-hydroxy-6-methoxychromen-2-one เป็นสารในกลุ่ม phytoalexin มีโมเลกุลขนาดเล็ก ละลายน้ำและเรืองแสงภายใต้รังสีอัลตราไวโอเลต โดยสาร scopoletin จะถูกกระตุ้นให้มีการสังเคราะห์ขึ้นหลังจากพืชได้รับเชื้อก่อโรค หรือ elicitors ชนิดต่างๆ และยังเป็นองค์ประกอบสำคัญในระบบการป้องกันตนเองของพืชเมื่อได้รับสิ่งรบกวนจากภายนอก ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของ พันธ์วศรี แสงสุวรรณ (2547) ที่ทำการตรวจหาสาร scopoletin จากการกระตุ้นให้ต้นยางพาราเป็นโรครากเน่าโคนเน่าที่เกิดจากเชื้อรา *P. palmivora* ซึ่งเป็น phytoalexins ของยางพารา ผลปรากฏว่ายางพาราสายพันธุ์ที่ต้านทานโรคมีการสร้าง scopoletin มากกว่ายางพันธุ์อ่อนแอ นั่นแสดงว่าการสังเคราะห์ scopoletin แปรผันตามความต้านทานโรคของยางพารา เช่นเดียวกับการรายงานของ อุไรวรรณ ขุนจันทร์ (2560) พบว่า เมื่อยางพาราถูกเชื้อรา *P. palmivora* เข้าทำลายยางพาราจะถูกกระตุ้นให้มีการสร้างเอนไซม์ PAL และ SA ก่อนแล้วจึงมีผลให้เกิดการสังเคราะห์ scopoletin ขึ้น ส่งผลให้ต้นยางพารามีความต้านทานต่อเชื้อรา *P. palmivora* ที่เป็นเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่า อีกทั้งยังพบการสะสมสาร scopoletin ในต้นยาสูบ ที่มีความต้านทานต่อการเข้าทำลายของเชื้อไวรัสที่เป็นสาเหตุของโรคใบด่าง โดยความต้านโรคของต้นยาสูบแต่ละต้นมีความสัมพันธ์กับปริมาณการสะสมของสาร scopoletin (Costet *et al*, 2002)

บทที่ 5
สรุปผลการทดลอง

การแยกเชื้อราจากดิน และชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค คัดเลือกไอโซเลท ที่มีลักษณะการเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และลักษณะทางสัณฐานวิทยาคล้ายกับเชื้อรา *P. palmivora* ได้ทั้งหมด 3 ไอโซเลท ดังนี้ ไอโซเลท P01, P02 และ P03 เมื่อตรวจสอบลำดับนิวคลีโอไทด์ พบว่าเป็นเชื้อรา *P. palmivora, P. aphanidermatum* และ *P. acanthicum* ตามลำดับ เมื่อทำการทดสอบการเกิดโรคบนใบและต้นทุเรียน พบว่าเชื้อรา *P. palmivora* ไอโซเลท P01 ก่อให้เกิดความรุนแรงของโรค จึงทำการคัดเลือกเพื่อนำไปทดสอบต่อไป

จากการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *Ch. cupreum, Ch. elatum* และ*Ch. lucknowense* ในการทดสอบบนอาหารเลี้ยงเชื้อร่วมกับเชื้อรา *P. palmivora* พบว่าเชื้อรา *Ch. lucknowense* มีประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อรา *P. palmivora* สูงที่สุด โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเส้นใยและการสร้างสปอร์ เท่ากับ 49.88 และ 67.34 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

จากการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากเชื้อรา *Chaetomium* spp. ที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด ได้แก่ hexane, ethyl acetate และ methanol พบว่าสารสกัดจากเชื้อรา *Ch. cupreum* ที่สกัดด้วยตัวทำละลาย methanol ที่ความเข้มข้น 1000 ppm มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเส้นใยและการสร้างสปอร์สูงที่สุด เท่ากับ 61.50 และ81.52 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ มีค่า ED_{50} อยู่ที่ 35.15 ppm เช่นเดียวกับสารสกัดจากเชื้อรา *Ch. lucknowense* สกัดด้วยตัวทำละลาย methanol ที่ความเข้มข้น 1000 ppm มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเส้นใยและการสร้างสปอร์สูงที่สุด เท่ากับ 76.40 และ94.13 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ มีค่า ED_{50} อยู่ที่ 68.16 ppm และสารสกัดจากเชื้อรา *Ch. elatum* ที่สกัดด้วยตัวทำละลาย ethyl acetate ที่ความเข้มข้น 1000 ppm มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเส้นใยและการสร้างสปอร์สูงที่สุด เท่ากับ 76.50 และ80.79 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ มีค่า ED_{50} อยู่ที่ 35.31 ppm

จากการทดสอบประสิทธิภาพของ nano – elicitor จากเชื้อรา *Chaetomium* spp. ที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด ได้แก่ hexane, ethyl acetate และ methanol พบว่า nano – elicitor จากเชื้อรา *Ch. cupreum* ที่สกัดด้วยตัวทำละลาย methanol ที่ความเข้มข้น 15 ppm มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเส้นใยและการสร้างสปอร์สูงที่สุด เท่ากับ 86.00 และ99.55 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ มีค่า ED_{50} อยู่ที่ 3.81 ppm เช่นเดียวกับ nano – elicitor จากเชื้อรา *Ch. elatum* ที่สกัดด้วยตัวทำละลาย methanol ที่ความเข้มข้น 15 ppm มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเส้นใยและการสร้างสปอร์สูงที่สุด เท่ากับ 81.80 และ88.83 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ มีค่า ED_{50} อยู่ที่ 27.61 ppm และ nano – elicitor จากเชื้อรา *Ch. lucknowense* ที่สกัดด้วยตัวทำละลาย ethyl acetate ที่ความเข้มข้น 15 ppm มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเส้นใยและการสร้างสปอร์สูงที่สุด เท่ากับ 63.75 และ96.17 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ มีค่า ED_{50} อยู่ที่ 5.35 ppm นอกจากนั้นยังพบ sporangia, oogonia และเส้น

ใยของเชื้อรา *P. palmivora* ที่มีลักษณะผิดปกติจากการทดสอบประสิทธิภาพของ nano – elicitor จากเชื้อรา *Chaetomium* spp. ทั้ง 3 ชนิดอีกด้วย

จากการทดสอบประสิทธิภาพของ nano – elicitor จากเชื้อรา *Chaetomium* spp มาทดสอบประสิทธิภาพการควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าในสภาพกระถางทดลอง พบว่าทรีตเมนต์ที่ปราศจากการปลูกเชื้อรา *P. palmivora* มีระดับการเกิดโรคเฉลี่ยอยู่ที่ระดับ 1 ไม่พบการเกิดโรค และทรีตเมนท์ที่ทำการปลูกเชื้อรา *P. palmivora* เพียงอย่างเดียวพบระดับการเกิดโรคเฉลี่ยอยู่ที่ระดับ 4.39 ระดับการเกิดโรคสูงสุดอยู่ที่ระดับ 6 สำหรับทรีตเมนท์ที่ทำการปลูกเชื้อรา *P. palmivora* และฉีดพ่นด้วย nano – elicitor จากเชื้อรา *Ch. cupreum, Ch. elatum, Ch. lucknowense* และสารเคมี metalaxyl มีระดับการเกิดโรคเฉลี่ยสูงที่สุดในเดือนที่ 4 อยู่ที่ระดับ 3.75, 3.50, 3.25 และ 2.75 ตามลำดับ และเริ่มมีระดับการเกิดโรคลดลงในเดือนที่ 5 ถึงเดือนที่ 7 มีระดับการเกิดโรคเฉลี่ยต่ำที่สุดอยู่ที่ระดับ 1, 1.25, 1 และ1.5 ตามลำดับ และความสูงเฉลี่ยของต้นทุเรียนในเดือนที่ 7 พบว่า ทรีตเมนท์ที่ทำการปลูกเชื้อรา *P. palmivora* เพียงอย่างเดียว มีความสูงของต้นเฉลี่ยอยู่ที่ 50.96 เซนติเมตร แตกต่างจากทรีตเมนท์ที่ทำการปลูกเชื้อรา *P. palmivora* และฉีดพ่นด้วย nano – elicitor จากเชื้อรา *Chaetomium* spp มีความสูงของต้นเฉลี่ยอยู่ที่ 66.66 เซนติเมตร

สารสกัดที่สกัดได้จากต้นทุเรียน เมื่อตรวจสอบภายใต้แสง UV ที่ความยาวคลื่น 254 nm ปรากฏเป็นสีฟ้าเรืองแสง และมีค่า Rf เท่ากับ 0.77

เอกสารอ้างอิง

ธิติยา สารพัฒน์, ศิริพร วรกุลดารงชัย, มาลัยพร เชื้อบัณฑิต. 2556. **การคัดเลือกต้นตอทุเรียนพันธุ์พื้นเมืองที่ทนทานหรือต้านทานต่อเชื้อรา *Phytophthora* สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าทุเรียน.** กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ศูนย์วิจัยพืชสวนจันทบุรี สถาบันวิจัยพืชสวน

พันธิตร์ มะลิสุวรรณ. 2549. **การปลูกทุเรียนและเพิ่มผลผลิตอีกเท่าตัว.** บริษัท สำนักพิมพ์ ยูทิไลซ์ จำกัด, กรุงเทพฯ

พันธ์วศรี แสงสุวรรณ. 2547. **ปฏิกิริยาตอบสนองของแคลลัสยางพาราต่อเชื้อรา *Phytophthora palmivora***. วิทยานิพนธ์ (วท.ม. (ชีวเคมี)) มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, 2547.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2559. **สถิติการเกษตรของประเทศไทย ปี 2559**. กรุงเทพมหานคร : กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

อุไรวรรณ ขุนจันทร์, เขมมิการ์ โขมพัตร, กิติยา เอกเชวง และ นันทา เชิงเชาว์. 2560. **การชักนำการแสดงออกของยีน PR-1 และกิจกรรมของเอนไซม์ ฟีนิลอะลานีนแอมโมเนียไลเอส การสะสมของกรดซาลิไซลิก และสคอพอลิตินในยางพาราหลังการปลูกเชื้อ *Phytophthora palmivora***

Aukkasarakul, S., Chamswarng, C., Piasai, O., Chinaphuti, A. and Manoch, L. 2014. "Efficacy of Non-toxigenic Isolates of *Aspergillus niger* and *A. tubingensis* as Biological Control Agents Against Toxigenic *A. niger* and Plant Pathogenic Fungi." **Thai Journal of Agricultural Science**. 2, 47(3) : 147-155.

Cooke, D. E. L., Drenth, A., Duncan, J. M., Wagels, G., and Brasier, C. M. 2000. "A molecular phylogeny of *Phytophthora* and related oomycetes." **Fungal Genetic Biology**. 30:17-32.

Costet, L., Fritig, B. and Kauffmann, S. 2002. "Scopoletin expression in elicitor-treated and tobacco 208 mosaic virus-infected tobacco plants." **Physiologia plantarum**. 115: 228–235.

Ferrin, D.M. and J.N. Kabashima. 1991. In vitro insensitivity to metalaxyl of isolates, of *Phytophthora citricola* and *P. parasitica* from ornamental host in southern California." **Plant Disease**. 75(10) : 1041-1044.

Hung, P.M., Pongnak, W., Soytong, K. and Poeaim, S. 2015a. "Biological Control of *Phytophthora palmivora* Causing Root Rot of Pomelo Using *Chaetomium* spp." **Mycobiology**. 43(1) : 63-70.

Hung, P.M., Pongnak, W., Soytong, K. and Poeaim, S. 2015b. "Efficacy of *Chaetomium* Species as Biological Control Agents against *Phytophthora nicotianae* root rot in Citrus." **Mycobiology** September, 43(3) : 288-296.

Intana, W., Issarakraisila, M., Sattasakulchai, S., Yenjit, P. and Suwanno, T. 2007. "Efficacy of *Trichoderma harzianum* mutant strains on mycelial growth inhibition and *Phytophthora palmivora* population reduction in durian." **Kamphaengsaen Academic Journal**. 5(3) : 1 – 9.

Ivors, K.L. 2015. **Laboratory Protocols for *Phytophthora* Species**. Minnesota : The American Phytopathological Society.

Jantasorn, A., Mongon, J., Moungsrimuangdee, B. and Oiuphisittraiwat, T. 2016. "In vitro antifungal activity of soil fungi crude extracts isolated from riparian forest against plant pathogenic fungi." **Journal of Biopesticides**. 9(2):119-124

Joselito, D. and Soytong, K. 2014. "Construction and characterization of copolymer nanomaterials loaded with bioactive compounds from *Chaetomium* species." **Journal of Agricultural Technology**. 10(4) : 823 – 831.

Kanokmedhakul, S., kanokmedhakul, K., Nasomjai, P., Louangsysouphanh, S., Soytong, K., Isobe, M., Kongsaeree, P., Prabpai, S. and Suksamran, A. 2006. "Antifungal azaphilones from *Chaetomium cupreum* CC3003." **Joural of Natural Products**. 69 : 891-895.

Nor Dalila, N.D., Stella, M., Jeffrey, L.S.H., Muhamad Hafiz, M.H., Nurul Fahima, M.A. and Nur Aisyah Anis, A.K. 2016. "Compatibility mixtures of bacterial antagonists of durian canker, *Phytophthora palmivora*." **Role of Plant Physiology**. 176 : 181 – 184.

Pornsuriya, C., Soytong, K., Kanokmedhakul, S. and Lin, F.C. 2010. "Efficacy of antifungal metabolites from some antagonistic fungi against *Pythium aphanidermatum*." **Journal of Agricultural Technology**. 6 : 299-308.

Prommate, A., Valyasevi, S., Arunothayanan, H., McGovern, R. J., Cheewankoon, R. and Toanun, C. 2019. "Antagonistic activities of *Chaetomium* spp. on *Phytophthora palmivora* (P-05) from durian root and stem rot." **Khon Kaen Agricultural Journal**. 47 (6) : 1251-1264.

Sibounnavong, P., Sibounnavong, P., Kanokmedhakul, S. and Soytong, K. 2012. "Antifungal activities of *Chaetomium brasilense* CB01 and *Chaetomium cupreum* CC03 against *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* race 2." **Journal of Agricultural Technology**. 8(3) : 1029-1038.

Song, J.J. and Soytong, K. 2016. "Antifungal Activity of *Chaetomium elatum* against *Pyricularia oryze* causing Rice Blast." **International Journal of Agricultural Technology**. 12(7.1): 1437-1447.

Soytong, K. (2010). "Evaluation of *Chaetomium* - Biological Fungicide to Control *Phytophthora* stem and root rot of Durian." **Research Journal**. 3 : 117-124

Soytong, K. (2015). "Testing bioformulation of *Chaetomium elatum* ChE01 to control Fusarium wilt of tomato." **Journal of Agricultural Technology**. 11(4) : 975 – 996.

Suzui, T., Kueprakonr, U. and Kamhangridthirong, T. 1979. "*Phytophthora* Disease on some Economic Plants in Thailind." Plant Pathology Division. Department of Agriculture. 113p.

Tann, H., Soytong, K. 2016. "Bioformulations and nano product from *Chaetomium* CC3003 to control leaf spot of rice var. Sen Pidoa in Cambodia." **International Journal of Plant Biology** 7:6413.

Vogt, T. 2010. "Phenylpropanoid biosynthesis." **Molecular Plant**. 3(1) : 2-20.

White, T. J., Bruns, T., Lee, S., and Taylor, J. 1990. "Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics." **CR protocols: a guide to methods and applications.** 18(1) : 315-322.

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-นามสกุล นายดนุภัทร ทองคำ
วัน เดือน ปีเกิด 1 มีนาคม พ.ศ. 2538
ที่อยู่ 126 หมู่ที่ 5 ถนนเพชรเกษม ต. คันธุลี อ. ท่าชนะ จ. สุราษฎร์ธานี 84170
โทร. 0830967872

ประวัติการศึกษา

2555	โรงเรียนสาธิตมหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี
2559	วิทยาศาสตรบัณฑิต (เกียรตินิยมอันดับสอง) สาขาวิชาเกษตรศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
2562	กำลังศึกษาในระดับปริญญาโท วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเกษตรศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ผลงานวิจัย

Thongkham, D. and Soythong, K. (2016). **Isolation, identification, and pathogenicity test from *Neoscytalidium dimiditum* causing stem canker**. International Journal of Agricultural Technology 12(7.2):2187-2190 .

Thongkham, D., Soytong, K. and Kanokmedhakul, S. (2017). **Efficacy of nano particles from *Chaetomium cupreum* to control *Phytophthora* spp. causing root rot of durian.** International Journal of Agricultural Technology 13(7.1): 1295-1300.

Thongkham, D., Soytong, K., Kanokmedhakul, S. and Kanokmedhakul, K. (2018) **Nanoparticles derived from *Chaetomium elatum* against Phytophthora rot of durian**. Internationnal Journal of Agricultural Technology 14(7): 2115-2124.

International Journal of Agricultural Technology 2018 Vol. 14(7): 2115-2124
Available online http://www.ijat-aatsea.com
ISSN: 2630-0613 (Print) 2630-0192 (Online)

Nano-particles derived from *Chaetomium elatum* against Phytophthora rot of durian

Thongkham, D.[1*], Soytong, K.[1], Kanokmedhakul, S.[2] and Kanokmedhakul, K.[2]

[1]Department of Plant Production Technology, Faculty of Agricultural Technology, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Bangkok, Thailand; [2]Department of Chemistry and Center for Innovation in Chemistry, Faculty of Science, Khon Kaen University, Khon Kaen, Thailand.

Thongkham, D., Soytong, K., Kanokmedhakul, S. and Kanokmedhakul, K. (2018). Nano-particles derived from *Chaetomium elatum* against Phytophthora rot of durian. Internatiomnal Journal of Agricultural Technology 14(7): 2115-2124.

Abstract Durian are the economically fruit trees in Thailand. The important problem of durian is root rot disease caused by *Phytophthora palmivora*. This study was used *Chaetomium elatum* to control the *P. palmivora* causing root rot disease of durian by dual culture method, crude extract test and nano particles test derived from *Ch. elatum*. Dual-culture test showed that *Ch. elatum* gave efficiency to inhibit of spore and colony growth of *P. palmivora* which were 46.13 and 38.89%, respectively. Testing efficacy of crude extract from *Ch. elatum* to control *P. palmivora* found that crude ethyl acetate from *Ch. elatum* gave significantly highest against pathogen of *P. palmivora* at the concentration of 1000 ppm which the ED_{50} of 175.31 ppm. Nano particles testing, nano particles of crude hexane, ethyl acetate and methanol from *Ch. elatum* showed the ED_{50} values of 3.49, 3.47 and 3.41 ppm.

Keywords: *Chaetomium elatum*, *Phytophthora palmivora*, durian

Introduction

Durian(Durio zibethinus Murr.) is king of tropical fruit refer to two facts of the fruit. Its superlative fresh, which is highly nutritional and its appearance, which resembles the thorny thrones of the Asian kings of old. Durian is one of the most famous fruit in South-East Asia. The fruit is very famous not only due to the taste richness but also the strong odour. Durian is an economically fruits in Thailand. The country is the world's largest producer and exporter of durian, followed by Malaysia and Indonesia (Somsri, 2014). In past, root rot has been reported to the serious rate of infection of durian because monoculture planting and high fertilizer applications could lead the increment of disease incidence caused by fungi such as *P. palmivora* and *Pythium* spp. Chemical compounds

* **Coressponding Author**: Thongkham, D.; **Email** : Danupatbb_2538@hotmail.com

have been used to control plant diseases, but abuse in their employment has favored the development of pathogens resistant to fungicides. The objective was to use of Chaetomium elatum that antagonize plant pathogens is risk-free when it results in enhancement of resident antagonists. Moreover, biological control agents (BCAs) could reduce levels of fungicide.

Materials and methods

Morphological Studies

Soil samples were collected plant disease. Soil samples were isolated by using soil plate method on glucose-ammonium nitrate agar media(GANA) and incubated at 28-30 ℃ for 2 days, then the fungal growing mycelium tip of it was sub-cultured and purified in potato dextrose agar (PDA) until get the pure culture.

The macroscopic characteristics of colony appearance were determined including growth pattern and texture and growth rate onto PDA plates. For microscopic characteristics shapes of zoosporangia were observed by using a light microscope.

Pathogenicity Test

Pathogenicity test was done by agar plug method. The healthy durian detached leaves were sterilized by 10% sodium hypochlorite. The surface detached leaves were made wounds by sterilized needle. The agar plug of pathogen inoculated to wound on detached leaves. The controls were processed similarly but transferred an agar plug without the pathogen.

Bi-culture test

The experiment was conducted using a Completely Randomized Design (CRD) with 4 replications. The antagonistic fungi and pathogen were separately cultured on PDA at room temperature for 7 day. A 0.5 cm diameter sterilized cork borer was used to remove agar plugs from the actively growing edge of cultures of the pathogenic and antagonistic fungi and transferred onto 9 cm diameter PDA plates, an agar plug of the pathogen was placed on one side of the plate which opposited an agar plug of an antagonistic fungus. PDA plates were transferred with a single plug of an antagonistic fungus or of the pathogen acted as the controls. The bi-culture plates were incubated at room temperature for 30 days. Data were collected regarding colony diameter (cm) and the number of conidia reduced by the pathogen.

International Journal of Agricultural Technology 2018 Vol. 14(7): 2115-2124

Crude extract test

The experiment was conducted by using factorials in Completely Randomized Design (CRD) with four replications. Each crude extract was dissolved in 2% dimethyl sulfoxide and added to PDA before autoclaving at 121 ℃ (15 psi) for 30 minutes. The agar plug of pathogen was transferred to the middle of PDA plates (amending with each crude extracts) in each concentration(0, 10, 50, 100, 500, 1000 ppm) and incubated at room temperature until the pathogen on the control plates growing full. Data were collected as colony diameter, Percentage inhibition of pathogen colony growth and conidia and The effective dose (ED_{50}). Data was statistically computed analysis of variance. Treatment means were compared with DMRT at P=0.05.

Testing nano-particles from Ch. elatum

Preparation of nano particles derived from *Ch.elatum* were used the method of Dar and Soytong (2014). Testing for inhibition of mycelial growth and sporangium formation of *P. palmivora* was done by using poison food method.The Experiment was conducted by using factorials in CRD with four replications. The concentration of nano particles; nano-CEH, nano-CEE, nano-CEM were as follows: 0, 3, 5, 10 and 15 ppm. Each concentration was dissolved in 2% dimethyl sulfoxide, then mixed into potato dextose agar(PDA) and added chitosan before autoclave at 121 ℃ for 30 minutes. The agar plug of pathogen was removed to PDA plates in each solvent and concentration. After incubated at room temperature until the pathogen on the control plates growing full collected data as colony diameter, number of sporangia, inhibition percentage and Effective dose ED_{50}. Data was statistically computed analysis of variance. Treatment means were compared with DMRT at P=0.05.

Results

Morphological Studies of P. palmivora

The fungal growth rapidly and colonized the plate within 4 days on PDA. Colony morphology on PDA is a chrysanthemum pattern with aerial mycelium. Sporangia are globose and ovoid shape, which was papillate. Zoospores were directly released from sporangia when flooded in water (Fig.1).

Pathogenicity test

Pathogenicity test on detached leaves after 3 days by the plug inoculation method. Leaves showed symptoms of brown hydrolysis expand around agar plug of pathogen. In control, Leaves remained healthy (Fig.2).

Figure 1. Morphological characteristics of *P. pamivora* (A); Colony appearance on PDA (B); Shape of sporangia (C); Zoospore release from sporangia (D); Oogonia

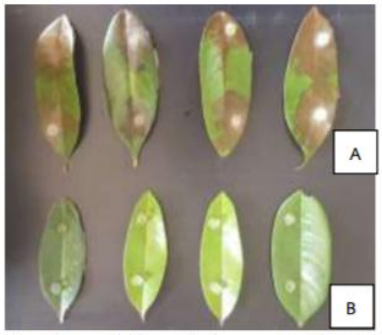


Figure 2. Pathogenicity test of *P. palmivora* on detached leaves. (A); The inoculated pathogen (B); The non - inoculated pathogen

Bi-culture test

Ch.elatum was proved its abilities to inhibit the growth of *P. palmivora* by using bi-culture test (Fig.3).The result showed that *Ch. elatum* inhibited colony growth and production of spore by *P. palmivora* of 38.89 and 46.13% inhibition, respectively (Table 1).

International Journal of Agricultural Technology 2018 Vol. 14(7): 2115-2124

Table 1. Colony and spore inhibition of *P. palmivora*

Antagonist fungi	*P. palmivora*	
	Colony inhibition (%)	spore inhibition (%)[2,3]
Ch. elatum	38.89	46.13
C.V. (%)	1.05	

Figure 3. *Ch. elatum* inhibited colony growth of *P. palmivora* by using bi-culture test

Crude extract test

Crude-CEH at concentrations of 10, 50, 100, 500 and 1000 ppm were tested the colony growth inhibition of *P. palmivora* which were 19.25, 39.25, 46.5, 58.00 and 58.5% respectively (Fig 4). Test inhibition of sporangia information of *P. palmivora* which were 13.46, 25.88, 38.30, 53.86 and 62.73% respectively (Table 2) when compared to the control. Crude-CEE at concentrations of 10, 50, 100, 500 and 1000 ppm were tested the colony growth inhibition of *P. palmivora* which were 37.5, 39.75, 45.75, 60.5 and 76.5% respectively (Fig 4). Test inhibition of sporangia information of *P. palmivora* which were 20.04, 30.68, 39.87, 56.47 and 80.79% respectively (Table 2) when compared to the control. Crude-CEM at concentrations of 10, 50, 100, 500 and 1000 ppm were tested the colony growth inhibition of *P. palmivora* which were 12.25, 30.75, 45.25, 45.75 and 51.00% respectively (Fig 4). Test inhibition of sporangia information of *P. palmivora* which were 14.09, 20.45, 31.41, 43.73 and 54.69% respectively (Table 2) when compared to the control. Meanwhile

International Journal of Agricultural Technology 2018 Vol. 14(7): 2115-2124

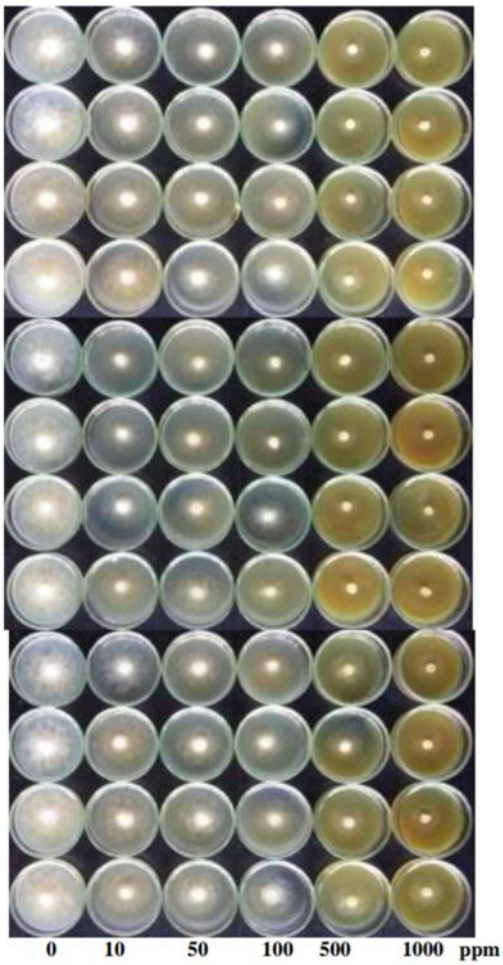


Figure 4. Testing crude extracts from *Ch. elatum* against *P. palmivora*

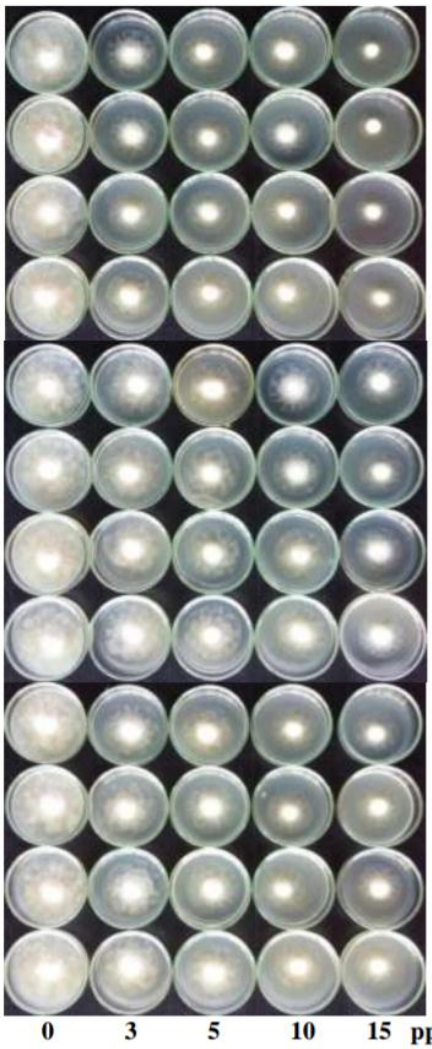


Figure 5. Testing nano particles from *Ch. elatum* against *P. palmivora*

International Journal of Agricultural Technology 2018 Vol. 14(7): 2115-2124

Table 3. Effect of nano particles from *Ch. elatum* to inhibit *P. palmivora*

Nano particle	Concentration (ppm)	Colony diameter (cm)	Inhibition of colony growth (%)	Number of sporangia ($\times 10^6$)	Inhibition of sporangia (%)	ED_{50} (µg/ml)
Nano CEH	0	5.00^{a}	0^{i}	62.12^{a}	0^{h}	3.49
	3	3.43^{f}	31.25^{d}	45.87^{d}	26.15^{e}	
	5	3.08^{g}	38.25^{c}	36.68^{e}	40.94^{d}	
	10	3.06^{gh}	38.75^{cb}	30.06^{f}	51.60^{c}	
	15	2.07^{i}	58.5^{a}	14.5^{h}	76.65^{a}	
Nano CEE	0	5.00^{a}	0^{i}	62.12^{a}	0^{h}	3.47
	3	4.87^{a}	2.5^{i}	49.56^{c}	20.22^{f}	
	5	4.01^{c}	19.75^{g}	44.43^{d}	28.47^{e}	
	10	3.57^{e}	28.5^{e}	35.68^{e}	42.55^{d}	
	15	3.11^{g}	37.75^{c}	23.12^{g}	62.77^{b}	
Nano CEM	0	5.00^{a}	0^{i}	62.12^{a}	0^{h}	3.81
	3	4.3^{b}	14.00^{h}	54.18^{b}	12.77^{g}	
	5	3.81^{d}	23.75^{f}	42.56^{d}	31.48^{e}	
	10	3.17^{g}	36.5^{c}	29.68^{f}	52.21^{c}	
	15	2.96^{h}	40.75^{b}	23.93^{g}	61.46^{b}	
C.V.(%)		4.79		6.68		

Average of four replications. Means followed by a common letter are not significantly different by DMRT at P = 0.05

Discusion

The bi-culture tests *Ch. elatum* gave significantly inhibition colony growth of *P.palmivora* and production of spore by P. palmivora of 38.89 and 46.13%, respectively. Similar reported by Tathan (2012) *Ch. elatum* gave significantly inhibition colony growth of *P.palmivora* and production of spore by *P. palmivora* of 32.49 and 26.23%, respectively. The crude extracts of *Ch. elatum* gave significantly highest inhibited sporangia production of *P. palmivora* at concentration of 1,000 ppm. Meanwhile ED_{50} values of Crude-CEE was 175.31 µg/ml. Similar reported by Soythong (2015) that crude extract of *Ch. elatum* gave significantly highest inhibited *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* causing wilt of tomato at concentration of 1,000 ppm with the ED_{50} value of 5.94 µg/ml. The nano particle of *Ch. elatum* gave significantly highest inhibited sporangia production of *P. palmivora* at concentration of 15 ppm. Meanwhile ED_{50} values of Crude-CEH was 3.49 µg/ml. Similar reported by Song and Soytong (2016) that nano particle of *Ch. elatum* gave significantly highest inhibited *Pyricularia oryzae* causing blast of rice at concentration of 15 ppm.

Acknowledgement

I would like to acknowledge the King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL) to offer a research fund (2562-02-04-025) supported by Faculty of Agricultural Technology, KMITL, Bangkok, Thailand. The financial support from Thailand Research Fund (Grant No RTA5980002) is also gratefully acknowledged.

References

Joselito, D. and Soytong, K. (2014). Construction and characterization of copolymer nanomaterials loaded with bioactive compounds from *Chaetomium* species. Journal of Agricultural Technology.10:823-831.

Somsri, S. (2014). Current status of durian breeding program in Thailand. Acta Hortic. 1024: 51-60.

Song J. J. and Soytong K. (2016). Antifungal activity of *Chaetomium elatum* against *Pyricularia oryze* causing rice blast. International Journal of Agricultural Technology. 12:1437-1447.

Soytong K., 2015. Testing bioformulation of *Chaetomium elatum* ChE01 to control Fusarium wilt of tomato. Journal of Agricultural Technology. 11:996-9752015.

Tathan, S., Sibounnavong, P., Sibounnavong, P. S., Soytong, K. and To-anun, C. (2012). Biological metabolites from Chaetomium spp to inhibit Drechslera oryzae causing leaf spot of rice. Jornal of Agricultural Technology. 8:1691-1701.

(Received: 30 August 2018, accepted: 5 October 2018)