วารสารวิจัยและส่งเสริมวิชาการเกษตร 38(2): 36-45

ประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากเชื้อรา *Chaetomium globosum* ในการยับยั้งเชื้อรา *Bipolaris maydis* สาเหตุโรคใบไหม้แผลเล็กในข้าวโพด

Efficiency of Crude Extracts from *Chaetomium globosum* to Inhibit *Bipolaris maydis* Caused of Maize Leaf Blight Disease in Corn

ธราดร อึ้งประสิทธิ์ สิรวิชญ์ สว่างแจ้ง ธัชวรรธน์ ปัญญาวุฒิเลิศ และอรวรรณ ปิยะบุญ*

Tharadorn Ungprasit, Sirawitch Swangjang, Thatchawat Panyavuthilert and Orawan Piyaboon*

สาขาวิชาชีววิทยาและวิทยาศาสตร์สุขภาพ โรงเรียนมหิดลวิทยานุสรณ์ นครปฐม 73170

Department of Biology and Health Science, Mahidol Wittayanusorn School, Nakhon Pathom, Thailand 73170

*Corresponding author: orawan.piya@mwit.ac.th

Received: *March 26, 2020*

Revised: *August 17, 2020*

Accepted: *September 22, 2020*

Abstract

Bipolaris is a pathogenic fungus causes of maize leaf blight disease in corn which reduce the photosynthesis and production of corn in Thailand. The use of biological methods to control plant diseases, especially the use of *Chaetomium globosum*, has the potential to control various pathogenic fungi. This research was to study the efficiency of *C. globosum* inhibitory activity against *B. maydis* and the crude extract of *C. globosum* inhibitory activity against *B. maydis* under laboratory and greenhouse conditions. The first method was tested the efficiency of crude extract from *C. globosum* for inhibiting *B. maydis* under laboratory condition using dual culture test. The result showed that inhibition percentage of radial growth was 51.16%. In addition, fungal antagonist was extracted by solvent extraction method using methanol and ethyl acetate and tested for growth inhibition of *B. maydis* under laboratory and greenhouse conditions. Fungal crude extracts showed growth inhibitory activity against *B. maydis* causing maize leaf blight disease in corn at a concentration of 7,000, 3,500 and 1,750 micrograms per milliliter.

Keywords: crude extracts, dual culture test, percent inhibition of radial growth, leaf blight disease

บทคัดย่อ

เชื้อรา *Bipolaris* เป็นเชื้อราที่ก่อโรคใบไหม้ในข้าวโพดทำให้ลดการสังเคราะห์ด้วยแสงของข้าวโพด และสร้างความสูญเสียแก่ผลผลิตที่สำคัญในประเทศไทย การใช้ชีววิธีในการควบคุมโรคพืชโดยเฉพาะการใช้เชื้อรา *Chaetomium globosum* มีศักยภาพในการควบคุมเชื้อราก่อโรคต่างๆ การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อรา *B. maydis* ด้วยเชื้อรา *C. globosum* และประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจาก

เชื้อรา *C. globosum* ในการยับยั้งเชื้อรา *B. maydis* ภายใต้สภาพห้องปฏิบัติการและสภาพโรงเรือน วิธีทดลองแรกเป็นการเลี้ยงเชื้อรา *B. maydis* และ *C. globosum* และทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากเชื้อรา *C. globosum* ในการยับยั้งเชื้อรา *B. maydis* ภายใต้ห้องปฏิบัติการด้วยวิธีการเลี้ยงเชื้อร่วมกัน ผลการศึกษาพบว่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *B. Maydis* ของเชื้อรา *C. globosum* มีค่าเท่ากับ 51.16% หลังจากนั้นนำเชื้อรา *C. globosum* มาสกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอลและเอทิลอะซิเตท และนำสารสกัดหยาบจากเชื้อรา *C. globosum* มาทดสอบการยับยั้งเชื้อรา *B. maydis* ภายใต้ห้องปฏิบัติการและสภาพโรงเรือน โดยพบว่าสารสกัดหยาบจากเชื้อรา *C. globosum* ความเข้มข้นที่ 7,000, 3,500 และ 1,750 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งเชื้อรา *B. maydis* ที่เป็นเชื้อสาเหตุโรคใบไหม้แผลเล็กในข้าวโพด

คำสำคัญ: สารสกัดหยาบ วิธีการเลี้ยงเชื้อร่วมกัน เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเส้นใย โรคใบไหม้

คำนำ

ข้าวโพดเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย แต่ในปัจจุบันผลผลิตของข้าวโพดลดลง (Office of the Permantent Secretary for Ministry of Agriculture and Cooperatives, 2020) ปัญหาสำคัญในการปลูกข้าวโพด คือ โรคพืช ซึ่งทำให้เกิดความเสียหายต่อปริมาณและคุณภาพของผลผลิตข้าวโพด โดยเฉพาะโรคใบไหม้แผลเล็กในข้าวโพดที่เกิดจากเชื้อรา *B. maydis* (Sleesman and Curt, 1976) โดยเชื้อรา *B. maydis* ทำให้เกิดอาการขอบแผลเป็นสีน้ำตาลแดงไม่เรียบสม่ำเสมอ และแผลเกิดติดต่อกันจนทำให้เกิดใบไหม้ หลังจากนั้นมีอาการรุนแรงทำให้ใบแห้งและต้นข้าวโพดตายในที่สุด (Sun *et al*., 2020) ในปัจจุบันเกษตรกรส่วนใหญ่จึงนิยมแก้ไขปัญหาการระบาดของโรคด้วยสารเคมีเพราะเป็นวิธีที่ง่าย ประหยัด รวดเร็ว และมีประสิทธิภาพ แต่มีอันตรายต่อสิ่งแวดล้อมและสิ่งมีชีวิตต่างๆ โดยเฉพาะตัวเกษตรกร เช่น สารพิษตกค้างในดินและน้ำบริเวณพื้นที่ทำการเกษตร และเข้าสู่ร่างกายด้วยวิธีต่างๆ การปฏิบัติด้วยชีววิธีเป็นวิธีการควบคุมที่มีประสิทธิภาพ และไม่ทำลายสภาพแวดล้อม ซึ่งมีค่าใช้จ่ายไม่สูงนัก โดยนำส่วนสารสกัดหยาบจากพืชหรือจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ซึ่งเป็นทางเลือกหนึ่งของเกษตรกรที่จะใช้ทดแทนสารเคมีในการควบคุมเชื้อรา *B. maydis* ตัวอย่างเช่น การศึกษาการควบคุมเชื้อรา *Bipolaris* ด้วยชีววิธีโดยใช้สารสกัดจากพืช เช่น หอม กระเทียม สะเดา (Rungprom *et al*., 2008) หรือการใช้เชื้อราปฏิปักษ์ *C. globosum* ที่สามารถยับยั้งเชื้อรา *B. maydis* สาเหตุโรคใบไหม้แผลเล็กในข้าวโพด เนื่องจากเชื้อรา *C. globosum* มีกลไกการแข่งขัน กลไกการเป็นภาวะปรสิต และกลไกการสร้างสารปฏิชีวนะ เช่น Chaetomin, Chaetoglobosin, Cochliodinol, Chaetosin และ Prenisatin (Ashwini, 2019) หากสารสกัดหยาบจากเชื้อรา *C. globosum* มีความสามารถนำไปใช้ในการยับยั้งหรือควบคุมเชื้อรา *B. maydis* สาเหตุโรคใบไหม้ในข้าวโพดได้อย่างมีประสิทธิภาพ ในอนาคตอาจมีการนำสารสกัดหยาบจากเชื้อรา *C. globosum* มาทำชีวภัณฑ์ที่ง่ายต่อการใช้งานของเกษตรกรในไร่ข้าวโพด โดยการศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากเชื้อรา *C. globosum* ในการยับยั้งเชื้อรา *B. maydis* สาเหตุโรคใบไหม้แผลเล็ก

วิธีดำเนินการวิจัย

การเพาะเลี้ยงเชื้อราปฏิปักษ์ *C. globosum* และเชื้อราก่อโรค *B. maydis*

เชื้อราปฏิปักษ์ *C. globosum* BCC 31359 ที่แยกจากปะการังในทะเลของประเทศไทย ได้รับจากห้องปฏิบัติการเก็บรวบรวมสายพันธุ์จุลินทรีย์ ศูนย์พันธุ

วิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ (ไบโอเทค) และเชื้อราก่อโรค *B. maydis* แยกจากตัวอย่างโรคใบไหม้จากต้นข้าวโพด อำเภอท่ามะกา จังหวัดกาญจนบุรี เมื่อปี พ.ศ. 2560 นำเชื้อรามาเพาะเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA (Potato Dextrose Agar) แล้วบ่มเชื้อราที่อุณหภูมิ 28°ซ. ภายใต้แสงฟลูโอเรสเซนต์ 12 ชั่วโมง สลับมืด 12 ชั่วโมง เป็นเวลา 7 วัน ศึกษาลักษณะโคโลนีของเชื้อรา และลักษณะของเส้นใยและสปอร์ของเชื้อรา ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง ยี่ห้อ Olympus รุ่น CX22

การทดสอบเชื้อรา *C. globosum* ในการยับยั้งเชื้อราก่อโรค *B. maydis* ในห้องปฏิบัติการ

เชื้อรา *C. globosum* และเชื้อราก่อโรคพืช *B. maydis* ถูกเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA บ่มเชื้อราอุณหภูมิ 28°ซ. ภายใต้แสงฟลูโอเรสเซนต์ 12 ชั่วโมง สลับมืด 12 ชั่วโมง เป็นเวลา 7 วัน นำมาทดสอบความสามารถโดยใช้วิธีเพาะเลี้ยงเชื้อร่วมกัน บนอาหาร PDA ที่ปราศจากเชื้อจุลินทรีย์ ทำสัญลักษณ์สองจุดบนจานเพาะเลี้ยงเชื้อ โดยให้จุดทั้งสองอยู่ในแนวเส้นผ่าศูนย์กลางห่างกันประมาณ 5 ซม. และจุดทั้งสองห่างจากขอบของจานเพาะเลี้ยงเชื้อประมาณ 1.5 ซม. หลังจากนั้นใช้ Cork borer เจาะเส้นใยบริเวณของโคโลนีของเชื้อรา *B. maydis* ที่เพาะเลี้ยงไว้ นำมาวางไว้บนจานอาหาร PDA ที่ตรงกับจุดที่ทำสัญลักษณ์ไว้หนึ่งจุด จากนั้นใช้ Cork borer เจาะเส้นใยบริเวณของโคโลนีของเชื้อราปฏิปักษ์ *C. globosum* และวางเชื้อรา *C. globosum* ลงผิวหน้าของ PDA ในด้านตรงกันข้ามของแต่ละจานเพาะเชื้อ ส่วนกรรมวิธีควบคุมเชิงบวก คือ สารเคมีไตรโฟรีน 20 (ซาพรอล) ความเข้มข้น 1,000 ppm หยดลงในแผ่นกระดาษกรองขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 6 มม. ปริมาตร 10 ไมโครลิตร ส่วนด้านตรงกันข้ามในจานอาหารเลี้ยงเชื้อเดียวกันวางเชื้อรา *B. maydis* นอกจากนี้ กรรมวิธีควบคุมเชิงลบ คือ เชื้อรา *B. maydis* เพียงชนิดเดียว หลังจากนั้นนำเชื้อราไปบ่มที่อุณหภูมิ 28°ซ. ภายใต้แสงฟลูโอเรสเซนต์ 12 ชั่วโมง สลับมืด 12 ชั่วโมง โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD (Completely Randomized Design) ทำการทดลองจำนวน 5 ซ้ำ สังเกตการเจริญของเชื้อราทุกวันเป็นเวลา 14 วัน และเมื่อพบว่าเชื้อราก่อโรคมีการเจริญเกินกว่าครึ่งหนึ่งของระยะ 5 ซม. แล้วจึงนำมาวัดรัศมีของเชื้อราก่อโรค และนำค่ารัศมีที่ได้คำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราก่อโรค โดยคำนวณหาค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราก่อโรค พร้อมทั้งนำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวน (One-way ANOVA) และความแตกต่างระหว่างกรรมวิธีทดลองด้วยวิธี Duncan's Multiple Range Test

การสกัดสารสกัดหยาบจากเชื้อราปฏิปักษ์ *C. globosum*

เตรียมการเพาะเลี้ยงเชื้อรา *C. globosum* ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว PDB (Potato Dextrose Broth) บ่มด้วยเครื่อง Incubator shaker ที่อุณหภูมิ 28°ซ. ด้วยความเร็ว 150 รอบ/นาที เป็นเวลา 14 วัน และนำเชื้อราในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDB ไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงความเร็วสูงที่ความเร็ว 12,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที แยกส่วนเส้นใยและสปอร์ของเชื้อรากับส่วน Supernatant ออกจากกัน จากนั้นนำส่วนเส้นใยและสปอร์ของเชื้อรามาอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 60°ซ. เป็นเวลา 12 ชั่วโมง จากนั้นนำเส้นใยและสปอร์ของเชื้อราแห้งไปบดเป็นผงและทำการสกัดด้วยตัวทำละลาย อัตราส่วนเมทานอล : เอทิลอะซิเตต เท่ากับ 1 : 1 (v/v) โดยอัตราส่วนเส้นใยและสปอร์ของเชื้อราแห้งต่อตัวทำละลาย เท่ากับ 1 : 100 (w/v) นำไปเขย่าด้วยเครื่อง Incubator shaker ที่ความเร็วรอบ 150 รอบ/นาที ที่อุณหภูมิ 28°ซ. เป็นเวลา 14 วัน จากนั้นนำสารสกัดหยาบแขวนลอยที่ได้ไปกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 และนำสารสกัดหยาบนี้ไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่อง Rotary evaporator ภายใต้ความดันต่ำ อุณหภูมิ 50°ซ.

การทดสอบสารสกัดหยาบจากเชื้อรา *C. globosum* ในการยับยั้งเชื้อรา *B. maydis* ในห้องปฏิบัติการ

การทดสอบสารสกัดหยาบของเชื้อรา *C. globosum* ในการยับยั้งเชื้อราก่อโรค *B. maydis* โดยใช้วิธี Disc diffusion (Pelo *et al*., 2020) ในการเพาะเลี้ยงร่วมกันบนอาหาร PDA ที่ปราศจากเชื้อจุลินทรีย์ ทำสัญลักษณ์สองจุดบนจานเพาะเลี้ยงเชื้อ โดยจุดทั้งสองอยู่ในแนวเส้นผ่าศูนย์กลางห่างกันประมาณ 5 ซม. และจุดทั้งสองห่างจากขอบของจานเพาะเลี้ยงเชื้อประมาณ 1.5 ซม. วางแผนการทดลองแบบ CRD โดยทำการทดลองแต่ละกรรมวิธี จำนวน 3 ซ้ำ ส่วนกรรมวิธีควบคุมเชิงลบ คือ 2% DMSO (Dimethyl sulfoxide) ส่วนกรรมวิธีควบคุมเชิงบวก คือ สารเคมีไตรโฟรีน (ซาพรอล) ความเข้มข้น 1,000 ppm สำหรับกรรมวิธีทดลอง คือ สารสกัดหยาบจากเชื้อรา *C. globosum* ความเข้มข้นต่างๆ คือ 1,750, 3,500 และ 7,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในตัวทำละลาย 2% DMSO หยดตัวอย่างสารสกัดจากเชื้อราความเข้มข้นต่างๆ ลงบนแผ่นกระดาษกรองขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 6 มม. ปริมาตร 10 ไมโครลิตร แล้วใช้ Cork borer เจาะเส้นใยของเชื้อ *B. maydis* ลงผิวหน้าของ PDA ในด้านตรงกันข้ามของแต่ละจานเพาะเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 28°ซ. ภายใต้แสงฟลูโอเรสเซนต์ 12 ชั่วโมง สลับมืด 12 ชั่วโมง ทำการสังเกตการเจริญของเชื้อราทุกวัน จากนั้นจึงนำมาวัดรัศมีการเจริญของเชื้อราก่อโรค และนำค่ารัศมีการเจริญของเชื้อราที่ได้มาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราก่อโรค และนำมาหาค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราก่อโรค พร้อมทั้งนำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวน (One-way ANOVA) และความแตกต่างระหว่างกรรมวิธีทดลองด้วยวิธี Duncan’s Multiple Range Test

การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากเชื้อรา *C. globosum* ในการควบคุมโรคใบไหม้ของข้าวโพดในสภาพโรงเรือน

วางแผนการทดลองแบบ CRD โดยแต่ละกรรมวิธี มีจำนวน 10 ซ้ำ กรรมวิธีควบคุมที่ 1 ใช้ Tween 20 ความเข้มข้น 0.1% อย่างเดียว กรรมวิธีควบคุมที่ 2 สปอร์แขวนลอยของเชื้อราก่อโรคใบไหม้ความเข้มข้น $1X10^8$ สปอร์/มิลลิลิตร ผสมกับ Tween 20 ความเข้มข้น 0.1% กรรมวิธีควบคุมที่ 3 สารเคมีไตรโฟรีน (ซาพรอล) ความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ผสมกับ Tween 20 ความเข้มข้น 0.1% และกรรมวิธีทดลองที่ 1 สารสกัดหยาบจากเชื้อรา *C. globosum* ความเข้มข้น 7,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และกรรมวิธีทดลองที่ 2 สารสกัดหยาบจากเชื้อราความเข้มข้น 3,500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และกรรมวิธีทดลองที่ 3 สารสกัดหยาบจากเชื้อราความเข้มข้น 1,500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยในทุกกรรมวิธีทดลองเติม Tween 20 ความเข้มข้น 0.1% พ่นสปอร์แขวนลอยของเชื้อราก่อโรคใบไหม้ความเข้มข้น $1X10^8$ สปอร์/มิลลิลิตร ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ที่ใบหรือยอดต้นกล้าของข้าวโพดอายุประมาณ 7 วัน จากนั้นนำพลาสติกมาคลุมเพื่อรักษาความชื้น 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นเปิดถุงพลาสติกและสังเกตการเปลี่ยนแปลงบนต้นข้าวโพดทุกวัน เพื่อประเมินความรุนแรงของการเกิดโรคในแต่ละกรรมวิธี โดยแบ่งระดับความรุนแรงของโรค ออกเป็น 5 ระดับคือ ระดับ 0=ใบที่ไม่เป็นโรค ระดับ 1=ใบที่เป็นโรค 1-25% ของพื้นที่ใบทั้งหมด ระดับ 2=ใบที่เป็นโรค 26-50% ของพื้นที่ใบทั้งหมด ระดับ 3=ใบที่เป็นโรค 51-75% ของพื้นที่ใบทั้งหมด และระดับ 4=ใบที่เป็นโรค 76-100% ของพื้นที่ใบทั้งหมด (Piyaboon, 2016) ทำการประเมินระดับความรุนแรงของโรคในแต่ละกรรมวิธี แล้ววิเคราะห์ข้อมูลความแปรปรวน (One-way ANOVA) และความแตกต่างระหว่างกรรมวิธีทดลองด้วยวิธี Duncan’s Multiple Range Test

ผลการวิจัย

การทดสอบผลของเชื้อรา *Chaetomium globosum* ยับยั้งเชื้อราก่อโรค *Bipolaris maydis* ในสภาพห้องปฏิบัติการ

เชื้อรา *C. globosum* สามารถยับยั้งเชื้อราก่อโรคใบไหม้ของข้าวโพดในห้องปฏิบัติการเป็นเวลา 14 วัน กล่าวคือ เชื้อรา *C. globosum* สามารถยับยั้งการเจริญเส้นใยของเชื้อราก่อโรค *B. maydis* เมื่อคำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราก่อโรคในวันที่ 14 ดัง Table 1 พบว่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราก่อโรค *B. maydis* ด้วยเชื้อรา *C. globosum* เท่ากับ 56.29% และเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราก่อโรค *B. maydis* ด้วยสารเคมีไตรโฟรีน โดยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

Table 1 The inhibition percentage of plant pathogenic fungus, *B. maydis* by *C. globosum*

Treatment	Mean of the inhibition percentages of *B. maydis* (%)±SD
Negative control	0.00±0.0[c]
Positive control	51.16±6.52[b]
C. globosum	56.29±3.99[a]

Values followed by the same letter in a column did not significantly difference (0·01 level) in Duncan's Multiple Range Test.

การทดสอบสารสกัดหยาบจากเชื้อรา *C. globosum* ในการยับยั้งเชื้อราก่อโรค *B. maydis* ในห้องปฏิบัติการ

การทดสอบสารสกัดหยาบจากเชื้อรา *C. globosum* ในการยับยั้งเชื้อราก่อโรค *B. maydis* สภาพห้องปฏิบัติการเป็นเวลา 7 วัน พบว่าสารสกัดหยาบจากเชื้อราปฏิปักษ์ *C. globosum* ที่ความเข้มข้น 1,750, 3,500 และ 7,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร สามารถยับยั้งการเจริญเส้นใยของเชื้อราก่อโรค *B. maydis* เมื่อคำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อรา *B. maydis* ดัง Table 2 พบว่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อราก่อโรค *B. maydis* ของสารสกัดหยาบจากเชื้อราปฏิปักษ์ *C. globosum* ที่ความเข้มข้น 7,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร แตกต่างกับสารสกัดหยาบที่ระดับความเข้มข้นอื่นๆ และสารไตรโฟรีน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

Table 2 The percentages of the growth inhibition of plant pathogenic fungus, *B. maydis* (%) by crude extracts from *C. globosum*

Substances	Mean of the inhibition percentages of *B. maydis* (%)±SD
Negative control	0.00±0.0[c*]
Positive control	11.44±0.61[b]
7,000 mg/ml crude extracts of *C. globosum*	56.29±3.99[a]
3,500 mg/ml crude extracts of *C. globosum*	7.64±1.23[c]
1,750 mg/ml crude extracts of *C. globosum*	5.04±0.18[c]

Values followed by the same letter in a column did not significantly difference (0·01 level) in Duncan's multiple range test.

การตรวจสอบฤทธิ์ของสารสกัดหยาบจากเชื้อรา *C. globosum* ในการยับยั้งเชื้อรา *B. maydis* ที่เป็นสาเหตุของโรคใบไหม้แผลเล็กในข้าวโพดในสภาพโรงเรือน

การทดสอบสารสกัดหยาบจากเชื้อรา *C. globosum* ในระดับความเข้มข้น 1,750, 3,500 และ 7,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ต่อการยับยั้งเชื้อรา *B. maydis* ที่ก่อโรคใบไหม้แผลเล็กในข้าวโพดในสภาพโรงเรือน พบว่าต้นข้าวโพดพ่นด้วยสารสกัดหยาบจากเชื้อรา *C. globosum* ที่ความเข้มข้น 1,750, 3,500 และ 7,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร มีผลต่อระดับความรุนแรงการเกิดโรคในต้นข้าวโพดแตกต่างกับต้นข้าวโพดที่พ่นด้วยสปอร์เชื้อรา *B. maydis* อย่างเดียว อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99% แสดงว่าสารสกัดหยาบจากเชื้อรา *C. globosum* ที่ความเข้มข้น 1,750, 3,500 และ 7,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร สามารถยับยั้งการเข้าทำลายข้าวโพดจากเชื้อราก่อโรค *B. maydis* ได้ (Table 3 และ Figure 1)

Table 3 The disease severity on maize leaf blight by crude extracts of *C. globosum*

Treatment	Disease severity*
0.1% Tween 20	0.0c**
B. maydis spore suspension + 0.1% Tween 20	1.6a
1,000 μg/ml Triphorine + 0.1% Tween 20	1.0b
7,000 mg/ml crude extracts of *C. globosum* + 0.1% Tween 20	1.0b
3,500 mg/ml crude extracts of *C. globosum* + 0.1% Tween 20	1.0b
1,750 mg/ml crude extracts of *C. globosum* + 0.1% Tween 20	1.0b

*Disease severity was rated using the following scale: 0 = 0%, 1 = 1-25%, 2 = 26-50%, 3 = 51-75%, 4 = 76-100% leaf blight.

**Means in the same column followed by a common letter did not significantly difference by 0.01 level in Duncan's Multiple Range Test.

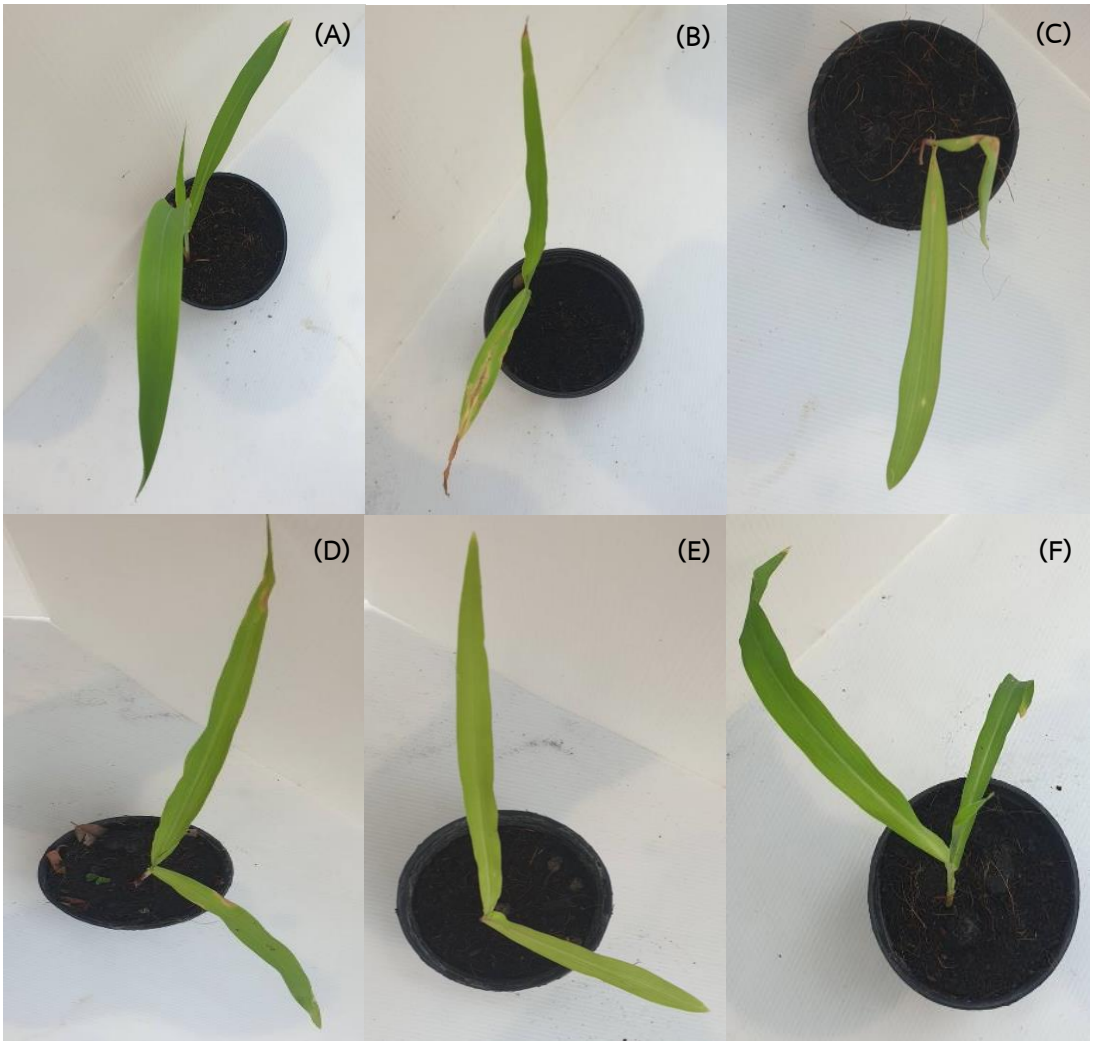

Figure 1 Evaluation of the crude extracts from *C. globosum* for controlling maize leaf blight under greenhouse conditions in 7 days; 0.1% Tween 20 (A), *B. maydis* spore suspension + 0.1% Tween 20 (B), 1,000 μg/ml Triphorine + 0.1% Tween 20 (C), 7,000 mg/ml crude extracts of *C. globosum* +0.1% Tween 20 (D), 3,500 mg/ml crude extracts of *C. globosum* + 0.1% Tween 20 (E), 1,750 mg/ml crude extracts of *C. globosum* + 0.1% Tween 20 (F)

วิจารณ์ผลการวิจัย

เชื้อรา *C. globosum* สามารถยับยั้งการเจริญเส้นใยของเชื้อรา *B. maydis* สาเหตุโรคใบไหม้แผลเล็กในข้าวโพด เนื่องจากเชื้อรา *C. globosum* มีกลไกการแข่งขันและกลไกการเป็นปรสิตด้วยเชื้อรา *C. globosum* มีผลต่อการทำลายกระบวนการเจริญภายในเซลล์ของเชื้อสาเหตุโรคพืช หลังจากที่เชื้อรา *C. globosum* เข้าพันรัดเส้นใยเชื้อสาเหตุโรคและปลดปล่อยสารดังกล่าวออกมาเพื่อทำลายเชื้อสาเหตุโรค (Prommate *et al*., 2019) นอกจากนี้เชื้อรา *C. globosum* มีกลไกการสร้างสารปฏิชีวนะ สอดคล้องกับงานวิจัยของ Amemiya *et al*. (1994) ศึกษาว่า chaetoglobosin A จากเชื้อรา *C. globosum* A สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์ของเชื้อรา *Verticillium dahlia* สาเหตุโรคเหี่ยวในมะเขือเทศ และเชื้อรา *C. globosum* สามารถสร้างเอนไซม์ Glucanase (Shanthiya *et al*., 2013) Cellulose (Kamal and Mathur, 2005) และ Xylanase (Sorensen, 1952) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่สามารถย่อยสลายองค์ประกอบหลักของผนังเซลล์เชื้อราได้

สารสกัดหยาบจากเชื้อรา *C. globosum* ใช้ตัวทำละลาย คือ เมทานอล : เอทิลอะซิเตต สามารถยับยั้งเชื้อราก่อโรค *B. maydis* ในสภาพห้องปฏิบัติการ แสดงว่าเมทานอล : เอทิลอะซิเตต เป็นตัวทำละลายที่มีสภาพขั้วเหมาะสมกับการสกัดสารที่สามารถใช้ในการยับยั้งเชื้อราก่อโรค ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Kumar *et al*. (2013) ศึกษาการสกัดสารจากเชื้อรา *C. globosum* ด้วยเมทานอลและเอทิลอะซิเตตมีประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อรา *Sclerotinia sclerotiorum* สูงกว่าการสกัดด้วยเฮกเซน และสารสกัดหยาบจากเชื้อรา *C. globosum* ถูกนำมาวิเคราะห์พบสาร chaetoglobosin A และ chaetoglobosin E ซึ่งเป็นสารที่ใช้ในการควบคุมเชื้อราก่อโรค

สารสกัดหยาบจากเชื้อรา *C. globosum* มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อราก่อโรค *B. maydis* น้อยกว่าการใช้สปอร์เชื้อรา *C. globosum* ในสภาพห้องปฏิบัติการ เนื่องจากการใช้เส้นใยเชื้อรา *C. globosum* สามารถยับยั้งเชื้อราก่อโรค *B. maydis* จากกลไกการแข่งขันและกลไกการเป็นปรสิต รวมถึงการสร้างสารปฏิชีวนะ แต่สารสกัดหยาบจากเชื้อรา *C. globosum* สามารถใช้กลไกสร้างสารปฏิชีวนะยับยั้งเชื้อรา *B. maydis* อย่างเดียว ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Chang and Kommedahl (1968) ซึ่งรายงานว่าเส้นใยของเชื้อรา *C. globosum* เจริญชนกับเส้นใยกับเชื้อราก่อโรคใบจุด *Curvularia lunata* มีผลทำให้เซลล์ของเชื้อราก่อโรคพืชรูปร่างเซลล์ผิดปกติไป และเส้นใยของเชื้อรา *C. globosum* สร้างสารปฏิชีวนะออกมายับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Curvularia lunata*

ความสามารถของสารสกัดหยาบจากเชื้อรา *C. globosum* ในการยับยั้งเชื้อราก่อโรค *B. maydis* ในสภาพโรงเรือนน้อยกว่าสภาพห้องปฏิบัติการ เนื่องจากปัจจัยทางสิ่งแวดล้อมของสภาพโรงเรือนมีผลต่อความสามารถของเชื้อราในการยับยั้งเชื้อราก่อโรค เช่น อุณหภูมิ ความชื้น (Soytong *et al*., 2005)

สรุปผลการวิจัย

เชื้อรา *C. globosum* สามารถยับยั้งเชื้อรา *B. maydis* สาเหตุโรคใบไหม้แผลเล็กในข้าวโพด และสารสกัดหยาบจากเชื้อรา *C. globosum* ความเข้มข้น 7,000 ไมโครกรัม/มิลลิตร มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *B. maydis* มากกว่าการใช้สารเคมีภายใต้สภาพห้องปฏิบัติการ และสารสกัดหยาบจากเชื้อรา *C. globosum* ความเข้มข้น 7,000, 3,500 และ 1,750 ไมโครกรัม/มิลลิตร มีผลต่อการลดระดับความรุนแรงการเกิดโรคใบไหม้แผลเล็กในข้าวโพดสาเหตุจากเชื้อรา *B. maydis* ภายใต้สภาพโรงเรือน

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ ศูนย์เทคโนโลยีอิเล็กทรอนิกส์และคอมพิวเตอร์แห่งชาติ สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ กระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ให้ทุนอุดหนุนโครงงานวิจัยพัฒนาและวิศวกรรมโครงการ "การประกวดโครงงานของนักวิทยาศาสตร์รุ่นเยาว์ ครั้งที่ 22" และสาขาวิชาชีววิทยาและวิทยาศาสตร์สุขภาพ โรงเรียนมหิดลวิทยานุสรณ์ ที่เอื้อเฟื้อสถานที่ วัสดุอุปกรณ์ต่างๆ สำหรับทำงานวิจัย

เอกสารอ้างอิง

Amemiya, Y., A. Kondo, T. Hirukawa and T. Kato. 1994. Antifungal bubstrances produced by *Chaetomium globosum*. **Technical Bulletin of Faculty of Hortriculture, Chiba University** 48: 13-18.

Ashwini, C. 2019. A review on *Chaetomium globosum* is versatile weapons for various plant pathogens. **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry** 8(2): 946-949.

Chang, I. and T. Kommedahl. 1968. Biological control of seedling blight of corn by coating kernels with antagonistic microorganisms. **Phytopathology** 58: 1395-1401.

Kamal, L. and S.N. Mathur. 2005. Cellulolytic activities of *Chaetomium globosum* on different cellulosic substrates. **World Journal of Microbiology and Biotechnology** 5(1): 23-26.

Kumar, S., N. Kaushik and P. Proksch. 2013. Identification of antifungal principle in the solvent extract of an endophytic fungus *Chaetomium globosum* from *Withania somnifera.* **SpringerPlus** 2(37): 2-10.

Office of the Permantent Secretary for Ministry of Agriculture and Cooperatives. 2020. **Fodder corn**. [Online]. Available https://www.opsmoac.go.th/saraburi-dwl-files-412791791798 (4 September 2020). [in Thai]

Piyaboon, O., R. Pawongrat, J. Unartngam, A. Chinawong and A. Unartngam. 2016. Pathogenicity, host range and activities of a secondary metabolite and enzyme from *Myrothecium roridum* on water hyacinth from Thailand. **Weed Biology and Management** 16: 132-144.

Pelo, S., V. Mavumengwana and E. Green. 2020. Diversity and antimicrobial activity of culturable fungal endophytes in *Solanum mauritianum*. **International Journal of Environmental Research and Public Health** 17(439): 2-11.

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

Rungprom, W., S. Sawatdikarn and S. Siripornvisaln. 2008. Bioactive compounds from *Garcinia xanthochymas* against *Biopolaris oryzae* the cause of brown spot disease in rice. **Agricultural Science Journal** 39(3): 512-515.

Shanthiya, V., D. Saravanakumar, G. Rajendran, G. Karthikeyan, K. Prabakar, T. Raguchander. 2013. Use of *Chaetomium globosum* for biocontrol of potato late blight disease. **Crop protection** 52: 32-38.

Sleesman, J.P. and L. Curt. 1976. Microbial antagonists of *Bipolaris maydis*. **Phytopathology** 66: 1214-1218.

Sorensen, H. 1952. On the specificity and products of action of xylanase from *Chaetomium globosum* Kunze. **Physiologia Plantarum** 5(2): 183-198.

Soytong, K., W. Srinon, K. Rattanacherdchai, S. Kanokmedhakul and K. Kanokmedhakul. 2005. Application of antagonistic fungi to control anthracnose disease of grape. **Journal of Agricultural Biotechnology** 1: 33-41.

Sun, X., X. Qi, W. Wang, X. Liu, H. Zhao, C. Wu, X. Chang, M. Zhang, H. Chen and G. Gong. 2020. Etiology and symptoms of maize leaf spot caused by *Bipolaris* spp. in Sichuan, China. **Pathogens** 9(3): 1-18.