

ประสิทธิภาพ ของราปฏิปักษ์ *Chaetomium* spp. ต่อ
Phytophthora palmivora (P-05) สาเหตุ โรครากและโคนเน่าทุเรียน

Antagonistic activities of *Chaetomium* spp. on
Phytophthora palmivora (P-05) from durian root and stem rot

อำพล พรหมเมตร์¹, ศรีญญา วลัยะเสวี¹, หัตถยา อรุโณทยานันท์²,
โรเบิร์ต เจมส์ แมกกอฟเวิน¹, รัชดาวรรณ ชีวังกูร¹ และ ชัยวัฒน์ โตนันต์^{1*}
Amphol Prommate¹, Sarunya Valyasevi¹, Hatthaya Arunothayanan²,
Robert J. McGovern¹, Ratchadawan Cheewankoon¹, and Chaiwat To-anun^{1*}

บทคัดย่อ: จากการออกสำรวจโรครากและโคนเน่าทุเรียนในเขตพื้นที่จันทบุรี ตาก และอุตรดิตถ์ ในระหว่าง พฤษภาคม 2560 ถึงตุลาคม 2561 สามารถแยกเชื้อรา *Phytophthora* spp. รวม 28 ไอโซเลต เมื่อนำมาทดสอบความสามารถในการก่อโรคพบว่าเชื้อรา *Phytophthora palmivora* ไอโซเลต P-05 เป็นสายพันธุ์ที่ก่อให้เกิดโรครุนแรง เมื่อนำมาทดสอบกับเชื้อราปฏิปักษ์ที่เก็บรวบรวมและแยกเชื้อบริสุทธิ์ได้จากตัวอย่างวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรรวม 19 ไอโซเลต ด้วยวิธี dual culture พบว่ามีเชื้อรา *Chaetomium* 3 ไอโซเลตคือ CMU-08, CMU-13 และ CMU-19 สามารถควบคุมเชื้อราไอโซเลต P-05 ได้ดี โดยมีค่ายับยั้งการเจริญของเส้นใยคือ 50.55, 48.89 และ 50.00 % ตามลำดับ เมื่อนำเชื้อรา *Chaetomium* ทั้ง 3 ไอโซเลตมาสกัดสารและนำสารสกัดหยาบมายับยั้งการเจริญและการสร้าง chlamydospore ของเชื้อราไอโซเลต P-05 พบว่า สารสกัดหยาบ ethyl acetate (CMU-13) สามารถยับยั้งการเจริญเส้นใยของเชื้อสาเหตุโรคได้ดีที่สุด โดยมีค่า ED50 เท่ากับ 0.14 มก./มล. ในขณะที่สารสกัดหยาบ methanol (CMU-08) สามารถยับยั้งการสร้าง chlamydospore ของเชื้อราไอโซเลต P-05 ได้ดีที่สุด โดยมีค่า ED50 เท่ากับ 0.93 มก./มล.

คำสำคัญ: *Chaetomium* spp., *P. palmivora*, โรครากและโคนเน่าของทุเรียน, สารสกัดหยาบ

ABSTRACT: A survey of the durian root and stem rot was done during May 2017- October 2018 in Chanthaburi, Tak and Uttaradit provinces. Twenty eight isolates of *Phytophthora* spp. were obtained from soils and diseased plant samples. The fungal pathogens were tested for their pathogenicity and the isolate P-05 of *Phytophthora palmivora* showed the highest pathogenicity. This P-05 isolate was selected and used for antagonistic test by using the dual culture method with nineteen isolates of *Chaetomium* spp. which were isolated from agricultural waste samples. The results showed that three

Received March 25, 2019

Accepted June 25, 2019

¹ ภาควิชากีฏวิทยาและโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เชียงใหม่ 50200

Department of Entomology and Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200

² บริษัท อีสท์ เวสต์ ซีด จำกัด เชียงใหม่ 50290

East-West Seed Group, Chiang Mai 50290

* Corresponding author: chaiwat.toanun@gmail.com

isolates of *Chaetomium*, CMU-08, CMU13 and CMU 19, had the ability to inhibit the growth of *P. palmivora* isolate P-05 at 50.55, 48.89 and 50.00 percent, respectively. Crude extracts of the three isolates were produced and used for controlling growth and chlamydospore formation of the pathogen. The results found that a crude ethyl acetate extract from CMU-13 was the best for inhibiting the growth of the pathogen with an ED50 = 0.14 µg/ml while a crude methanol extract from CMU-08 showed the highest inhibition of chlamydospore formation with an ED50 = 0.93 µg/ml.

Keywords: *Chaetomium* spp., *P. palmivora*, Durian root and stem rot, crude extract

บทนำ

ทุเรียนมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Durio zibethinus* Murr. มีถิ่นกำเนิดในแถบบริเวณป่าร้อนชื้น จัดเป็นผลไม้ที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของไทย โดยปลูกมากในภาคตะวันออก ภาคใต้ รวมถึงพื้นที่บางส่วนของภาคกลาง และภาคเหนือซึ่งได้แก่ จังหวัดนนทบุรี อุตรดิตถ์ และตาก เป็นผลไม้ที่มีรสชาติหวานมัน กลิ่นหอมเฉพาะตัว ในปัจจุบันมีราคาสูงและไม่เพียงพอต่อการบริโภคของผู้บริโภค ในการปลูกทุเรียนของเกษตรกรมีการผลิตทุเรียนนอกฤดู เพื่อให้มีผลผลิตทุเรียนออกสู่ตลาดอย่างสม่ำเสมอ ประเทศไทยเป็นประเทศที่ผลิตทุเรียนเพื่อการส่งออกเป็นอันดับหนึ่งของโลก โดยปี 2560 มีพื้นที่ปลูกทุเรียน 804,856 ไร่ เป็นพื้นที่ให้ผลแล้ว 621,686 ไร่ คิดเป็นร้อยละ 77.24 ของพื้นที่เพาะปลูกทั่วประเทศ ผลผลิตรวม 649,171 ตัน มีปริมาณการผลิตเฉลี่ย 1,044 กิโลกรัมต่อไร่ ปริมาณผลผลิตทั้งหมดมีมูลค่ามากกว่า 7,513 ล้านบาท (ศูนย์สารสนเทศการเกษตร สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2561) การปลูกทุเรียนพบมีปัญหากับโรคและแมลงที่เข้าทำลายตั้งแต่ราก ลำต้น ใบ และผลก่อให้เกิดความเสียหายได้ตั้งแต่ระยะกล้าไปจนถึงต้นทุเรียนที่เจริญเต็มที่จนให้ผลผลิตในระยะเก็บเกี่ยว โรคที่สำรวจพบในทุเรียนได้แก่ โรครากและโคนเน่าสาเหตุจากเชื้อรา *Phytophthora palmivora* Butler. โรคใบดก โรคกิ่งแห้งของทุเรียน โรคกิ่งไหม้ (Twing blight) โรคแอนแทรกโนส โรคราแป้ง โรคราสีชมพู และโรคจุดสนิม (แสงว, 2527) โดยโรคที่สร้างความเสียหายอย่างรุนแรงคือโรครากเน่าโคนเน่าที่มีสาเหตุเกิดจากเชื้อรา *Phytophthora palmivora* และ *Pythium* sp. (Suksiri et al., 2018) โดยเชื้อราเหล่านี้อาศัยอยู่ในดิน แพร่กระจายโดยการปล่อยสปอร์ที่เคลื่อนที่ในน้ำเข้าทำลายราก หรือลำต้นของทุเรียน ทำให้ส่วนของ

ต้นทุเรียนที่ถูกเข้าทำลายเกิดอาการเน่าของราก และลำต้นมียางไหล เมื่อสังเกตลักษณะของพุ่มต้นทุเรียนพบอาการที่ใบของทุเรียนมีสีเขียวสลับเหลือง ใบร่วงแห้งตายจากยอดเข้าสู่ลำต้น อาจเกิดเฉพาะกิ่ง หรือทั้งต้น โดยทรงพุ่มของต้นทุเรียนจะพบมีลักษณะไหม หากเชื้อสาเหตุเข้าทำลายต้นทุเรียนในระยะออกดอก จะส่งผลทำให้ดอกผสมเกสรไม่ติดและดอกร่วง โดยโรครากเน่าโคนเน่ามีกระบาดในช่วงฤดูฝนเป็นส่วนใหญ่ (มานิตย์, 2553) และสามารถสร้าง oospore หรือ chlamydospore ที่มีความทนทานต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมได้ดี โดยอาศัยหรือพักตัวในดินและเศษซากพืชอาศัยได้เป็นเวลานาน การเข้าทำลายพืชของเชื้อสาเหตุโรค โดยเชื้อจะปล่อย zoospore ออกมาจาก sporangia แพร่กระจายโดยน้ำไปยังรากหรือลำต้นของพืช จากนั้นจะไปเกาะอยู่บริเวณผนังเซลล์และสร้าง cyst ผนังหนาขึ้นและสร้าง appressorium แทงเส้นใยเข้าสู่พืชต่อไป (นุชนารถ, 2545) ซึ่งการผลิตทุเรียนในประเทศไทยเสียหายจากการเกิดโรครากและโคนเน่า 20% ของผลผลิต (Guest, 2004) จากการสำรวจในพื้นที่การปลูกทุเรียนในจังหวัดจันทบุรี ตาก และอุตรดิตถ์เกี่ยวกับการแก้ไขปัญหาโรครากและโคนเน่าของทุเรียน การใช้สารเคมีที่ควบคุมเชื้อราชั้นต่ำคือ สารเมตาแลคซิล (metalaxyl), สารฟอสเฟทอล อะลูมิเนียม (phosethyl aluminum) และ สารฟอสฟอรัสแอซิด (phosphorous acid) ไม่สามารถควบคุมโรคได้และเชื้อราสาเหตุโรคมีการพัฒนาการมีชีวิตรอดในการต้านทานต่อสารเคมี (Soytong, 2553) นอกจากนี้การใช้สารเคมีเหล่านี้มีความเสี่ยงในการตกค้างในผลทุเรียน อีกทั้งยังส่งผลกระทบต่อสุขภาพของเกษตรกรและผู้บริโภค อย่างไรก็ตามมีนักวิจัยหลายท่านได้นำวิธีการควบคุมโรคพืชที่เกิดจากเชื้อรา *Phytophthora* spp. และเชื้อราสาเหตุโรคอื่นๆ โดยใช้ชีววิธี (Biological control) ได้แก่ การใช้เชื้อรา *Chaetomium globosum*

และ *Chaetomium cupreum* สายพันธุ์ที่เฉพาะเจาะจงสามารถควบคุมเชื้อราสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคพืช ได้แก่ *Fusarium* spp., *Rhizoctonia* spp., *Pythium* spp. โดยได้ทดลองควบคุมโรคทั้งในพืชผักและไม้ผลพบว่าสามารถควบคุมโรคได้เท่าเทียมกับการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา และช่วยให้การเจริญเติบโตของพืชและผลผลิตดีกว่าเมื่อเทียบกับชุดควบคุมและยังมีคุณสมบัติป้องกันโรคในลักษณะ broad spectrum mycofungicide ได้ด้วย (Soytong, 2001) นอกจากนี้ยังพบรายงานการวิจัยการใช้สาร chaetomin ที่สกัดได้จากเชื้อรา *C. globosum* สามารถยับยั้งเชื้อรา *Pythium ultimum* โดยมีค่า EC50 และ MIC ที่ 0.5 และ 2.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม ตามลำดับ (Di Pietro et al. 1992) และในรายงานของ Dar and Soyong (2014) ได้นำนาโนเทคโนโลยีมาประยุกต์ใช้กับสารสกัดหยาบจากเชื้อรา *Chaetomium* sp. เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพสารสกัดหยาบ ในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืชเช่น *Phytophthora palmivora* (Tongon et al. , 2018), *Curvularia lunata* (Tann and Soyong, 2016) การทดลองในครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อรา *Chaetomium* spp. ในการควบคุมเชื้อรา *P. palmivora* สาเหตุโรครากและโคนเน่าของทุเรียนในสภาพห้องปฏิบัติการ

วิธีการศึกษา

การศึกษาเชื้อราสาเหตุโรครากและโคนเน่าของทุเรียน

สำรวจและเก็บตัวอย่างดินบริเวณรอบราก ราก และเปลือกลำต้นทุเรียนที่แสดงอาการเน่า ในจังหวัดจันทบุรี ตาก และ อุดรดิตถ์ มาแยกเชื้อสาเหตุโรคด้วยวิธี baiting method โดยนำตัวอย่างดินรอบต้นทุเรียนที่แสดงอาการไหม้ 10 กรัม มาละลายในน้ำกลั่นฆ่าเชื้อแล้วปริมาตร 20 มล. ตัดใบทุเรียนขนาด 5x5 มม. ที่ฆ่าเชื้อที่ผิวด้วย 1% NaOCl นำมาลอยในน้ำของตัวอย่างดินที่เตรียมไว้ เป็นเวลา 24 ชม. จากนั้นนำชิ้นของใบทุเรียนไปล้างด้วยน้ำกลั่น และวางชิ้นใบทุเรียนดังกล่าวบนอาหาร water agar (WA) เป็นเวลา 12 ชม. จะพบเส้นใยเจริญออกจากชิ้นใบพืช จึงตัดปลายเส้นใยเชื้อราไปเลี้ยงบนอาหาร potato dextrose agar (PDA) ต่อไป สำหรับการแยกเชื้อสาเหตุโรคจากตัวอย่างโรคที่เป็นชิ้นส่วนพืชคือ

เปลือกลำต้น และราก จะใช้เทคนิค tissue transplant method โดยนำตัวอย่างที่แสดงอาการโรคทำการล้างด้วย 1% NaOCl เป็นเวลา 3 นาที จากนั้นล้างตัวอย่างด้วยน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้ว นำตัวอย่างวางในอาหาร WA และตัดปลายเส้นใยนำไปเลี้ยงบนอาหาร PDA จากนั้นนำเส้นใยเชื้อราบริสุทธิ์มาทำการทดลองและเก็บรักษา stock culture ไว้ที่ภาควิชาชีววิทยาและโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

การทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคจะใช้เทคนิค detached leaf assay โดยนำเชื้อรา *Phytophthora* spp. จำนวนทั้งหมด 28 ไอโซเลตที่แยกได้มาเลี้ยงบนอาหาร PDA เป็นเวลา 2 วัน ในขณะเดียวกันทำการเตรียมใบทุเรียนสำหรับการทดสอบจะเลือกใบทุเรียนที่เป็นใบเพสลาด ทำการฆ่าเชื้อที่ใบทุเรียนมาด้วย 70% ethyl alcohol จากนั้นใช้สัณสีชุบน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้วมาพันรอบโคนก้านใบ และใช้เข็มเย็บเชื้อที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วทำแผลบนใบทุเรียนดังกล่าวจำนวน 2 ตำแหน่ง คือ ตำแหน่งด้านบนและด้านล่างที่อยู่ตรงกลางระหว่างเส้นกลางไปถึงขอบใบของทางซีกซ้าย และกำหนดระยะห่างของตำแหน่งแผล 60 มม. ขณะที่ซีกด้านขวาของใบทุเรียนในตำแหน่งเดียวกันจะไม่ทำแผลบนใบ หลังจากเตรียมเชื้อราและใบทุเรียนพร้อมสำหรับการทดลอง ทำการใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร ตัดปลายเส้นใยเชื้อราที่เลี้ยงไว้บนอาหาร PDA แล้วนำมาวางบนใบทุเรียนที่เตรียมไว้ และในชุดควบคุม (control) จะใช้ชิ้น PDA เปล่า มาวางบนใบทุเรียนที่เตรียมไว้แทน จากนั้นย้ายใบทุเรียนชุดทดสอบและชุดควบคุมดังกล่าวใส่ลงในกล่องเก็บความชื้น (Moist chamber) บ่มที่อุณหภูมิห้อง (28-30 องศาเซลเซียส) บันทึกผลการทดลองหลังปลูกเชื้อ 2 วัน ประเมินระดับความรุนแรงของเชื้อสาเหตุโรค ดังนี้ ระดับ 0 = ใบพืชปกติไม่เกิดแผล ระดับ 1 = แผลมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1-5 มม. ระดับ 2 = แผลมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6-10 มม. ระดับ 3 = แผลมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 11-15 มม. และระดับ 4 = แผลมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางมากกว่า 16 มม. (ดัดแปลงวิธีจาก Durães, 2015.)

นำเชื้อราไอโซเลตที่มีความสามารถในการก่อโรครุนแรงที่สุดมาศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา ได้แก่ ลักษณะและขนาดของ sporangia chlamydospore และ oogonia ตามหลักการของ Waterhouse (1963) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (compound microscope)

การสำรวจ แยกเชื้อบริสุทธิ์ และเก็บรวบรวมเชื้อรา *Chaetomium* spp. จากเศษวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร

สำรวจและเก็บตัวอย่างเศษวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรที่มีเชื้อจุลินทรีย์เป็นองค์ประกอบหลัก เช่น แกลบดิบ ฟางข้าว กะลากาแฟ มาแยกเชื้อรา *Chaetomium* spp. โดยใช้ฟางข้าวที่ทำการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ววางบนเศษวัสดุดังกล่าว เป็นเวลา 7 วัน เมื่อพบเชื้อรา *Chaetomium* spp. บนฟางข้าวที่ใช้เป็นเหยื่อล่อ จึงแยกเชื้อราบริสุทธิ์ด้วยเทคนิค single spore isolation โดยการใช้เข็มเย็บสปอร์มาเกลี่ยบนอาหาร WA และใช้ Pasteur pipette ตักสปอร์เดี่ยวมาเลี้ยงบนอาหาร PDA จากนั้นนำเส้นใยเชื้อราบริสุทธิ์มา ทดลองและเก็บรักษา stock culture ไว้ที่ภาควิชาชีววิทยาและโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ในกรณีตัวอย่างเป็นพวกเศษพืชที่มีลักษณะแข็ง เช่น ใบปาล์ม หรือหญ้าคา ให้นำมาตากแห้ง แล้วจึงนำฟางข้าวที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้วมาเป็นเหยื่อล่อ จึงจะสามารถแยกหาเชื้อรา *Chaetomium* spp. ได้

การทดสอบการยับยั้งเชื้อรา *P. palmivora* (P-05) ในห้องปฏิบัติการ

เตรียมเชื้อรา *Chaetomium* spp. และ เชื้อรา *P. palmivora* โดยเลี้ยงบนอาหาร PDA เป็นเวลา 2 วัน จากนั้นใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มม. ตัดบริเวณปลายเส้นใยของเชื้อรา *Chaetomium* spp. และเชื้อรา *P. palmivora* (P-05) ย้ายขึ้นวุ้นที่มีเส้นใยของเชื้อรา *Chaetomium* spp. มาวางบนอาหาร PDA โดยวางในลักษณะให้อยู่ขอบจานอาหารเลี้ยงเชื้อด้านใดด้านหนึ่ง และวางขึ้นวุ้นที่มีปลายเส้นใยของเชื้อรา *P. palmivora* (P-05) ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อด้านตรงข้ามกับขึ้นวุ้นเชื้อรา *Chaetomium* spp. โดยกำหนดให้มีความห่างระหว่างขึ้นวุ้น 45 มม. ในการทดลองเปรียบเทียบจะเลี้ยงเชื้อราสาเหตุโรคบนอาหารเลี้ยงเชื้อรา PDA ตำแหน่งเดียวกับชุดทดสอบแต่ใช้ขึ้นวุ้น PDA เปล่า วางแทนตำแหน่งของขึ้นวุ้นที่มีเส้นใยของเชื้อรา *Chaetomium* spp. นำไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง (28-30 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 2 วัน บันทึกการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคหลังการวางเชื้อร่วมกันบนอาหาร PDA จากนั้นวัดขนาดรัศมีเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรค แล้วนำไปคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเส้นใย (Percent inhibition of radial growth,

PIRG) โดยใช้สูตร $PIRG = ((R1-R2))/R1 \times 100$ เมื่อ R1 คือ รัศมีของเชื้อรา *P. palmivora* ในชุดเปรียบเทียบ และ R2 คือ รัศมีของเชื้อรา *P. palmivora* ในชุดทดลอง (หน่วยเป็น มม.) วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) จำนวน 4 ซ้ำต่อกรรมวิธี และเปรียบเทียบค่าความแตกต่างของข้อมูลโดยวิธี Least Significant Difference test (LSD) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

การทดสอบสารสกัดหยาบจากเชื้อรา *Chaetomium* spp.

นำเชื้อรา *Chaetomium* spp. ที่คัดเลือกได้มาทำการเลี้ยงในอาหาร potato dextrose broth (PDB) จำนวน 500 มิลลิลิตร เป็นเวลา 1 เดือน จากนั้นนำเส้นใยเชื้อราที่ได้ (fungal mass) มาทำการระเหยน้ำโดยทำการอบในตู้อบร้อนอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 วัน นำ fungal mass มาบดละเอียด และผสมกับ hexane อัตราส่วน 1:2 (w/v) แช่ทิ้งไว้เป็นเวลา 5 วัน ทำการกรองสารละลายด้วย Whatman filter paper No. 4 และนำไปแยกตัวทำละลายด้วยเครื่อง rotary vacuum evaporator จะได้สาร crude hexane ส่วนกากเส้นใยที่ได้จากการกรองนำไปสกัดโดยใช้ตัวทำละลายที่มีขั้วมากขึ้นคือ ethyl acetate และ methanol จะได้ crude ethyl acetate และ methanol ตามลำดับ (Kanokmedhakul et al. 2006)

นำสารสกัดหยาบแต่ละชนิดมาทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อรา *P. palmivora* (P-05) โดยนำสารสกัดหยาบมาละลายใน Dimethylsulfoxide (DMSO) และผสมกับอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA โดยปรับปริมาตรสารสกัดหยาบให้มีความเข้มข้น 0, 50, 100, 500 และ 1,000 มก./มล. นำอาหารที่เตรียมไว้ไปทำการนึ่งฆ่าเชื้อ จากนั้นเทอาหารที่ผสมสารสกัดหยาบแต่ละชนิดลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ และนำขึ้นวุ้นที่มีปลายเส้นใยเชื้อรา *P. palmivora* (P-05) เส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มม. วางบนบนอาหาร PDA ที่ผสมสารสกัดหยาบในแต่ละความเข้มข้นที่เตรียมไว้ บ่มที่อุณหภูมิห้อง (28-30 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 2 วัน วัดรัศมีของเส้นใยเชื้อรา *P. palmivora* (P-05) และนำข้อมูลที่ได้ไปหาค่าการยับยั้งการเจริญ (PIRG) ปริมาณการสร้าง chlamydospore และค่า Effective Dose (ED50) ของเชื้อราสาเหตุโรค

ผลการศึกษาและวิจารณ์ผลการทดลอง

การออกสำรวจ การแยกเชื้อราบริสุทธิ์สาเหตุโรครากและโคนเน่าของทุเรียน

การสำรวจต้นทุเรียนที่เกิดอาการรากและโคนเน่า พบเชื้อรา *Phytophthora* spp. ในจังหวัดจันทบุรี 4 ไอโซเลต จังหวัดตาก 8 ไอโซเลต และจังหวัดอุตรดิตถ์ 16 ไอโซเลต รวมทั้งหมด 28 ไอโซเลต (Table 1) เมื่อนำมาเลี้ยงบนอาหาร PDA เส้นใยของเชื้อรา *Phytophthora* spp. มีลักษณะเส้นใยเจริญซ้อนทับกัน คล้ายดอกกุหลาบ สีขาวฟู บางไอโซเลตพบว่ามีลักษณะการเจริญเป็นโคลินเป็นขอบเรียบ เส้นใยสีขาวฟูคล้ายปุยฝุ่น ไม่พบลักษณะซ้อนทับกันของเส้นใยคล้ายดอกกุหลาบ เมื่อตรวจสอบเส้นใยภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่าเส้นใยของเชื้อรา *Phytophthora* spp. มีลักษณะเป็นแบบไม่มีผนังกันระหว่างเซลล์ (coenocytic hypha) มีการสร้าง chlamydospore รูปร่าง กลมสีน้ำตาล ผ่องหนา 2 ชั้น เป็นจำนวนมาก

การทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคและการจัดจำแนก

การทดสอบความสามารถในการก่อให้เกิดโรคของเชื้อรา *Phytophthora* spp. บนใบทุเรียนจากเชื้อราทั้งหมด 28 ไอโซเลต พบว่าเชื้อราไอโซเลต P-05 (Figure 1) มีความสามารถในการก่อโรคในระดับรุนแรงที่สุด (Table 1) ในระยะแรกจะแสดงลักษณะแผลฉ่ำน้ำรอบแผลบนใบทุเรียนที่ปลูกเชื้อ จากนั้น เป็นรอยไหม้สีน้ำตาล และขยายขนาดมากขึ้น โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางแผลมากกว่า 20 มม. เมื่อเทียบกับชุดการทดลองเปรียบเทียบไม่แสดงการเกิดแผล หลังปลูกเชื้อ 2 วัน เมื่อศึกษาลักษณะพื้นฐานวิทยาของเชื้อราไอโซเลต P-05 พบว่า เป็นเชื้อรา *Phytophthora palmivora* มี sporangia แบบ ellipsoid และ ovoid ขนาด $25-34.5 \times 42.5-60$ ไมโครเมตร chlamydospore ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย $27.5-35$ ไมโครเมตร และ oogonia ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง $22.5-25$ ไมโครเมตร (Figure 1)

การแยกเชื้อสาเหตุโรครากและโคนเน่าของทุเรียนนั้น พบว่าสามารถแยกเชื้อได้หลายวิธีคือ การแยกจากชิ้นพืชที่เป็นโรคโดยตรงหรือใช้เหยื่อล่อในตัวอย่างดินบริเวณรอบต้นทุเรียนที่แสดงอาการโรคม การแยกเชื้อรา *Phytophthora* spp. ในตัวอย่างที่เก็บมานั้นพบเชื้อรา *Phytophthora* spp. ได้ทั่วไป และมีบางไอโซเลตเท่านั้นที่ก่อโรคอย่างรุนแรงเมื่อนำมาทดสอบความสามารถในการก่อโรคในห้องปฏิบัติการ เชื้อรา P-05 มีความสามารถในการก่อโรคโดยแสดงอาการแผลไหม้บนใบทุเรียนที่ทดสอบ ในรายงานของ Suzui et al. (1979) พบว่ามีเชื้อรา *P. palmivora* เป็นสาเหตุโรครากและโคนเน่าของทุเรียน ในการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา P-05 พบว่าข้อมูลที่ได้มีความสอดคล้องกับการระบุว่าเป็นเชื้อรา *P. palmivora* ในรายงานของ Pongpisutta and Sangchote (2004) ที่จำแนกและระบุเชื้อรา *P. palmivora* ของทุเรียนในประเทศไทย

การสำรวจตรวจสอบและแยกเชื้อรา *Chaetomium* spp. จากเศษวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร

การสำรวจและแยกเชื้อรา *Chaetomium* spp. สามารถรวบรวมเชื้อรา *Chaetomium* spp. ในจังหวัดแพร่ 3 ไอโซเลต จังหวัดเชียงใหม่ 14 ไอโซเลต และจังหวัดปทุมธานี 2 ไอโซเลต รวมทั้งหมด 19 ไอโซเลต เมื่อนำเชื้อรามาเลี้ยงบนอาหาร PDA พบเชื้อราสร้าง perithecium และ terminal hairs มีลักษณะและสีแตกต่างกันบนอาหาร ได้แก่ สีเขียวมะกอก สีดำ สีแดง สีเทา สีเหลือง และสีม่วง (Figure 2) เมื่อจำแนกชนิดของเชื้อรา *Chaetomium* spp. ด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยา พบว่าเชื้อราทั้งหมด 19 ไอโซเลต สามารถแบ่งเป็น 6 ชนิด และไม่ทราบชนิด 1 ไอโซเลต ได้แก่ *Chaetomium globosum*, *Chaetomium funicola*, *Chaetomium indicum*, *Chaetomium cupreum*, *Chaetomium brasiliense*, *Chaetomium aureum* และ *Chaetomium* sp. (unknown 1)

Table 1 Isolates of *Phytophthora* spp. from various sources and locations and their pathogenicity.

Isolates	samples	Technical isolation	Dorian types	Location	Pathogenicity* (mm.)
P-01	soil	baiting method	Monthong	Phop Phra, Tak.	0.00
P-02	soil	baiting method	Monthong	Phop Phra, Tak.	14.75
P-03	soil	baiting method	Monthong	Phop Phra, Tak.	15.00
P-04	soil	baiting method	Monthong	Phop Phra, Tak.	4.25
P-05	soil	baiting method	Monthong	Phop Phra, Tak.	20.75
P-06	root	tissue transplanting method	Monthong	Phop Phra, Tak.	0.00
P-07	root	tissue transplanting method	Monthong	Phop Phra, Tak.	0.00
P-08	bark	tissue transplanting method	Monthong	Phop Phra, Tak.	0.00
P-09	soil	baiting method	Long Lab-Lae	Lap-Lae, Uttaradit.	0.00
P-10	soil	baiting method	Long Lab-Lae	Lap-Lae, Uttaradit.	0.00
P-11	root	tissue transplanting method	Long Lab-Lae	Lap-Lae, Uttaradit.	0.00
P-12	bark	tissue transplanting method	Long Lab-Lae	Lap-Lae, Uttaradit.	14.50
P-13	soil	baiting method	Monthong	Lap-Lae, Uttaradit.	0.00
P-14	soil	baiting method	Monthong	Lap-Lae, Uttaradit.	0.00
P-15	soil	baiting method	Monthong	Lap-Lae, Uttaradit.	0.00
P-16	soil	baiting method	Monthong	Lap-Lae, Uttaradit.	0.00
P-17	root	tissue transplanting method	Monthong	Lap-Lae, Uttaradit.	0.00
P-18	root	tissue transplanting method	Monthong	Lap-Lae, Uttaradit.	8.00
P-19	soil	baiting method	Native Durian	Lap-Lae, Uttaradit.	0.00
P-20	bark	tissue transplanting method	Native Durian	Lap-Lae, Uttaradit.	3.75
P-21	soil	baiting method	Monthong	Lap-Lae, Uttaradit.	0.00
P-22	soil	baiting method	Monthong	Lap-Lae, Uttaradit.	0.00
P-23	soil	baiting method	Monthong	Lap-Lae, Uttaradit.	0.00
P-24	soil	baiting method	Monthong	Lap-Lae, Uttaradit.	14.25
P-25	root	tissue transplanting method	Monthong	Tha Mai, Chanthaburi.	0.00
P-26	root	tissue transplanting method	Monthong	Tha Mai, Chanthaburi.	0.00
P-27	bark	tissue transplanting method	Monthong	Tha Mai, Chanthaburi.	3.25
P-28	root	tissue transplanting method	Monthong	Khao Khitchakut, Chanthaburi.	0.00

* The diameter of the lesion, 0 = nonpathogenic, 1.00-5.00 = virulent (level 1), 6.00-10.00 = virulent (level 2), 11.00-15.00 = virulent (level 3) and >16 = virulent (level 4)

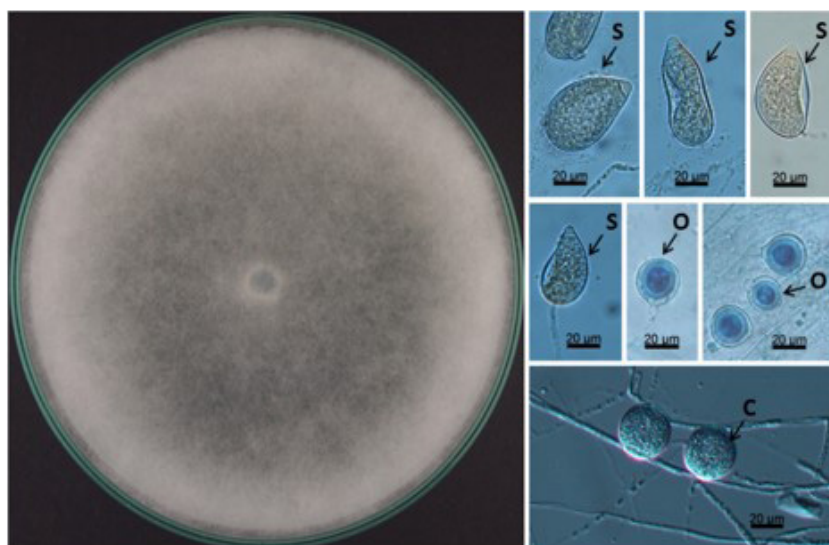


Figure 1 *Phytophthora palmivora* isolate P-05 (S) sporangia, (O) oogonium, and (C) chlamydospores.

Table 2 The results of identification of *Chaetomium* spp. fungi with morphological characteristic

<i>Chaetomium</i> species	Isolates
<i>Chaetomium globosum</i>	CMU-01, CMU-02, CMU-05, CMU-06, CMU-07, CMU-09, CMU-10, CMU-12, CMU-15, CMU-17 และ CMU-18
<i>Chaetomium funicola</i>	CMU-03
<i>Chaetomium indicum</i>	CMU-04
<i>Chaetomium cupreum</i>	CMU-08
<i>Chaetomium brasiliense</i>	CMU-11, CMU-14, และ CMU-16
<i>Chaetomium aureum</i>	CMU-19
<i>Chaetomium</i> sp. (unknown 1)	CMU-13

การสำรวจเชื้อรา *Chaetomium* spp. สามารถพบบนเศษวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร เช่น ฟางข้าว แกลบดิบ หญ้าคา ใบปาล์ม และกะลากาแฟ โดยวัสดุทางการเกษตรเหล่านี้มีองค์ประกอบของผนังเซลล์เป็นเซลลูโลสเป็นส่วนใหญ่ซึ่งเป็นแหล่งอาหารและเป็นปัจจัยสำคัญในการเจริญของเชื้อรา *Chaetomium* spp. และพบว่าเชื้อราชนิดนี้เจริญบนเศษวัสดุพืชที่เป็นใบเลี้ยงเดี่ยวเป็นส่วนใหญ่ สอดคล้องกับรายงานของ Kapoor et al. (2010) ที่ว่า เชื้อรา *Chaetomium* spp.

ที่รู้จักกันทั่วไปมีประมาณ 80 ชนิด มักพบได้ทั่วไปในดิน วัสดุจากเศษซากพืช โดยเฉพาะไม้และฟาง และมูลสัตว์ที่กินพืช

การทดสอบการยับยั้งเชื้อรา *P. palmivora* ในห้องปฏิบัติการ

การทดสอบการเป็นปฏิปักษ์ของเชื้อรา *Chaetomium* spp. ทั้งหมด 19 ไอโซเลตต่อเชื้อรา P-05 พบว่า ไอโซเลต CMU-08, CMU-13 และ

CMU-19 มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อรา *P. palmivora* (P-05) โดยแสดงค่า PIRG เท่ากับ 50.55, 48.89 และ 50.00% ตามลำดับ เมื่อตรวจสอบลักษณะการเจริญของเชื้อราปฏิปักษ์และเชื้อสาเหตุโรคบนอาหาร PDA พบว่า เชื้อราไอโซเลต CMU-08 และ CMU-19 สร้างสารทุติยภูมิบริเวณรอบโคโลนีทำให้เกิด inhibition zone ส่งผลต่อการเจริญของเส้นใย

เชื้อราสาเหตุโรค (Figure 3 A and C) ในขณะที่เชื้อราไอโซเลต CMU-13 มีการเจริญอย่างรวดเร็วพบการทับซ้อนกันระหว่างปลายเส้นใยเชื้อราปฏิปักษ์และเชื้อสาเหตุโรคเมื่อตรวจสอบการเจริญร่วมกันของเส้นใยเชื้อรา พบว่า เส้นใยของเชื้อรา CMU-13 เจริญพันรัดเส้นใย และ chlamydospore ของเชื้อรา P-05 (Figure 3 D, E and F)

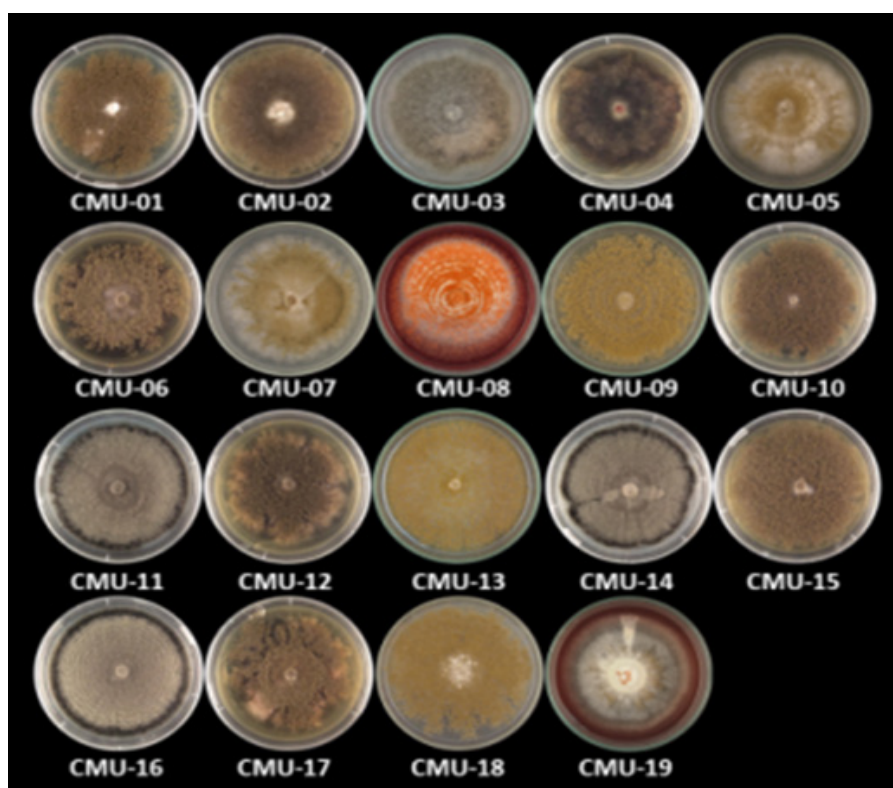


Figure 2 *Chaetomium* spp. cultured on PDA (T= 28-30°C, at 30 day).

การทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรครากและโคนเน่าของทุเรียน พบว่าเชื้อราไอโซเลต CMU-08 และ 19 สร้างสารทุติยภูมิออกมาจากเส้นใย โดยในรายงานของ Hung et al. (2015) พบว่าเชื้อรา *C. cupreum* (CC3003) มีความสามารถในการสร้างสารทุติยภูมิ ซึ่งมีผลในการยับยั้งการเจริญและการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ของเชื้อรา *P. palmivora* (PHY02) สาเหตุโรครากและโคนเน่าของส้มโอ โดยมีค่าการยับยั้ง การเจริญของเส้นใยและ

sporangium เท่ากับ 49.7 และ 92.2 % ตามลำดับ และในรายงานของ Kanokmedhakul (2006) ที่ใช้เชื้อรา *C. cupreum* (CC3003) ในการควบคุม *Candida albicans* (EC50 = 0.6 มก./มล.) ในส่วนของเชื้อราไอโซเลต CMU-13 แสดงการซ้อนทับของเส้นใยในการเลี้ยงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อร่วมกัน การเจริญซ้อนทับกันนี้ในลักษณะนี้พบว่าการรายงาน ที่แสดงกลไกการเป็นปฏิปักษ์โดยการพันรัดเส้นใยเชื้อรา *P. palmivora* (PHY02) จากเชื้อรา *C. lucknowense* ส่งผลให้เชื้อ

สาเหตุโรคสูญเสียความสามารถในการเจริญและการก่อโรคไปในที่สุด นอกจากนี้กลไกการทำลายเชื้อสาเหตุโรคของเชื้อราไอโซเลต CMU-13 อาจมีลักษณะคล้ายกับเชื้อรา *Gliocladium virens* ในรายงานของ Anitha และ Murugesan (2001) ที่แสดงกลไกการพ่นรดเส้นใยและทำลายเชื้อราสาเหตุโรคพืชของเชื้อรา *Gliocladium virens* และปล่อยสารปฏิชีวนะคือ gliotoxin ในการยับยั้งกระบวนการเจริญภายในเซลล์ของเชื้อรา *Alternaria helianthi* ส่งผลให้เชื้อราสาเหตุโรคสูญเสียการมีชีวิตไปในที่สุด ในรายงานของ Environment and Climate Change Canada Health Canada (2018) พบว่าเชื้อรา *Chaetomium globosum*

สามารถสร้างสารปฏิชีวนะเช่น chaetoglobosins, chaetomugilins, chaetoviridins, chaetoglobosins และ chaetomin ซึ่งคาดว่าจะมีผลในการทำลายกระบวนการเจริญเติบโตภายในเซลล์ของเชื้อสาเหตุโรคหลังจากที่เชื้อรา CMU-13 เข้าพ่นรดเส้นใยเชื้อสาเหตุโรคและปลดปล่อยสารชนิดใดชนิดหนึ่งเหล่านี้ออกมาเพื่อทำลายเชื้อสาเหตุโรค โดยในรายงานของ Di Pietro et al. (1992) รายงานการวิจัยการใช้สาร chaetomin ที่สกัดได้จากเชื้อรา *C. globosum* สามารถยับยั้งเชื้อรา *P. ultimum* สาเหตุโรค damping-off ของ sugar beet โดยมีความ EC50 และ MIC ที่ 0.5 และ 2.5 มก./มล. ตามลำดับ

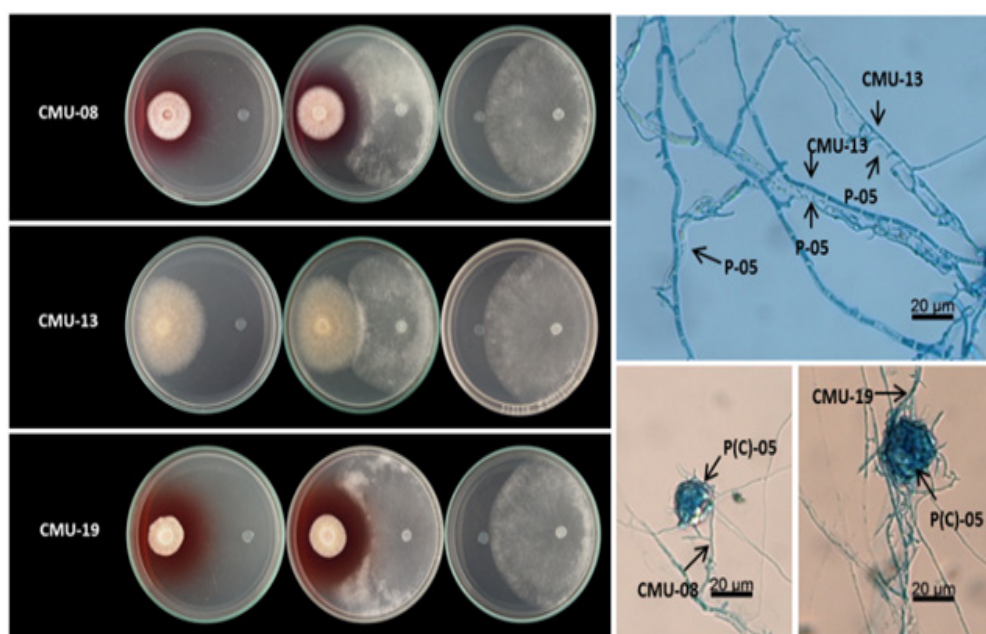


Figure 3 Growth of *Phytophthora palmivora* isolate P-05 in dual culture test with *Chaetomium* spp. at 2 day, P(C) chlamydospore of P-05.

การทดสอบสารสกัดหยาบจากเชื้อรา *Chaetomium* spp.

สารสกัดหยาบ ethyl acetate (CMU-13) มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเส้นใยของเชื้อ P-05 ได้ดีที่สุด โดยแสดงค่า ED50 การยับยั้งการเจริญเส้นใยที่ความเข้มข้น 0.14 มก./มล. รองลงมาคือ สารสกัดหยาบ

methanol (CMU-13) และ สารสกัดหยาบ ethyl acetate (CMU-19) ที่ความเข้มข้น 10.93 และ 221.04 มก./มล. ตามลำดับ (Table 3) ในรายงานของ Park et al. (2005) ได้สกัดสาร chaetoviridins A จากเชื้อรา *C. globosum* โดยใช้ตัวทำละลายคือ ethyl acetate และนำสารดังกล่าวสามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา

P. capsici, *P. infestans* และ *P. ultimum* ในห้องปฏิบัติการ โดยมีค่า MIC เท่ากับ 33.3, 33.3 และ 1.23 มก./มล. ตามลำดับ นอกจากนี้ ในรายงานของ Brewer et al. (1972) ที่ได้รายงานว่า สาร chaetomin ที่สกัดได้จากเชื้อรา *C. globosum* มีผลในการฆ่าเซลล์มะเร็งในมนุษย์ที่ 0.02 มก./มล.

สารสกัดหยาบจาก methanol (CMU-08) มีประสิทธิภาพยับยั้งการสร้าง chlamydospore ของ *P. palmivora* (P-05) ได้ดีที่สุด โดยแสดงค่า ED50 การยับยั้งการสร้าง chlamydospore ที่ความเข้มข้น 0.93 มก./มล. รองลงมาคือ สารสกัดหยาบ methanol (CMU-13) และ สารสกัดหยาบ ethyl acetate (CMU-19) ที่ความเข้มข้น 6.63 และ 19.76 มก./มล. ตามลำดับ (Table 3) ในการทดลองในลักษณะเดียวกันนี้สอดคล้องกับการรายงานของ Pornsuriya et al. (2010) ได้ทดสอบสารสกัดหยาบของเชื้อรา *C. cupreum* ในการควบคุมการสร้าง oospore ของเชื้อรา *P. aphanidermatum* (RY803) สาเหตุโรครากเน่าของสับปะรด พบว่า สารสกัดหยาบ methanol จากเชื้อรา *C. cupreum* NB201 และ RY202 มีค่า ED50 ในการยับยั้งที่ความเข้มข้น 543 และ 762 มก./มล. ตามลำดับ

ซึ่งแสดงให้เห็นว่าเชื้อราไอโซเลต CMU-08 สามารถสร้างสารที่ ยับยั้งการสร้างสปอร์สืบพันธุ์ของเชื้อรากลุ่ม Oomycetes ได้ โดยรายงานวิจัยของ Thongkham et al. (2018) รายงานว่า สารสกัดหยาบ ethyl acetate จากเชื้อรา *Chaetomium elatum* มีประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อรา *P. palmivora* สาเหตุโรครากและโคนเน่าของทุเรียน มีค่า ED50 เท่ากับ 175.31 มก./มล. ในขณะที่ nanoparticles ของสารสกัดหยาบดังกล่าว มีประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรค มีค่า ED50 เท่ากับ 3.47 มก./มล. โดย nanoparticles ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคได้ โดยในขั้นตอนต่อไปจะผู้วิจัยจะมีการพัฒนาสารสกัดหยาบที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมการเจริญของเชื้อสาเหตุโรคให้อยู่ในรูปแบบ nanoparticles ที่สามารถเข้าสู่เซลล์พืชอย่างรวดเร็วซึ่งจะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของสารในการออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อรากลุ่ม *Phytophthora* spp. ในเนื้อเยื่อของพืชอย่างรวดเร็ว ซึ่งจะแตกต่างจากงานวิจัย Thongkham et al. (2018) ซึ่งจะมุ่งเน้นการนำสารสกัดหยาบที่มีประสิทธิภาพเข้าสู่เซลล์พืชเพื่อยับยั้งเชื้อสาเหตุของโรคโดยตรง

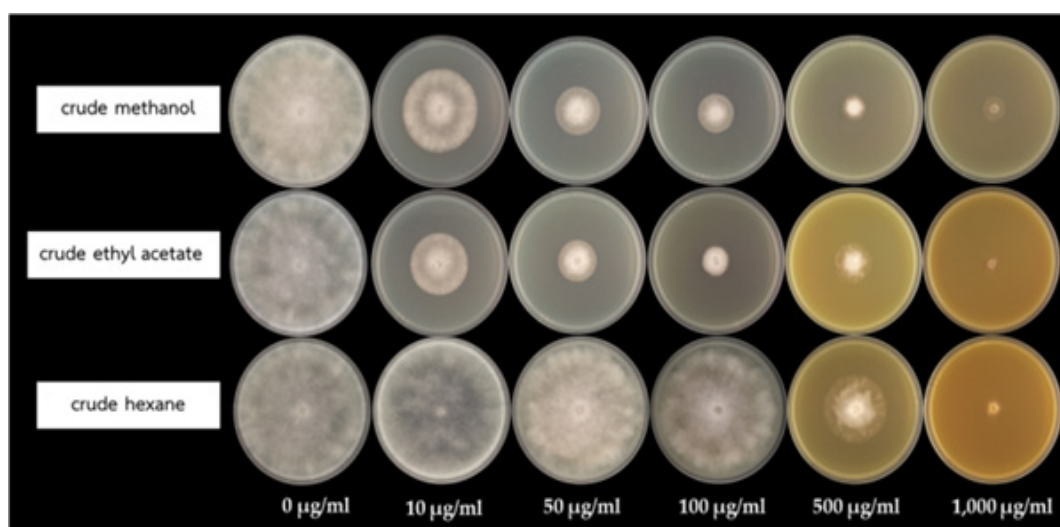


Figure 4 the growth of *Phytophthora palmivora* (P-05) in different concentrations of crude extracts *Chaetomium* sp. (CMU-13) at 2 days, T=25 °C.

Table 3 Median effective dose value of the crude extract from *Chaetomium* spp. to inhibit the growth and chlamydospores of *Phytophthora palmivora* (P-05)

Crude extracts	Effective dose 50 (µg/ml)					
	CMU-08		CMU-13		CMU-19	
	MGI ^{1/}	CI ^{2/}	MGI	CI	MGI	CI
crude hexane	762.27	62.62	604.65	219.24	>50,000	22.57
crude ethyl acetate	555.47	33.20	0.14	127.59	221.04	19.76
crude methanol	4,093.52	0.93	10.93	6.63	36,217.25	53.21

^{1/} MGI = mycelia growth inhibition^{2/} CI = chlamydospores inhibition

สรุป

การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *Chaetomium* spp. ในการควบคุมเชื้อ *P. palmivora* ไอโซเลต P-05 สาเหตุโรครากและโคนเน่าของทุเรียนในห้องปฏิบัติการ โดยวิธี dual culture และการใช้สารสกัดหยาบจากเชื้อรา *Chaetomium* spp. พบว่าเชื้อรา *Chaetomium* spp. 3 ไอโซเลต คือ CMU-08, CMU-13 และ CMU-19 สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยและทำลาย chlamydospore ของเชื้อรา *P. palmivora* (P-05) ได้ โดยเชื้อรา *Chaetomium* spp. แสดงกลไกการเป็นปรสิตต่อเชื้อรา *P. palmivora* (P-05) แบบการพันรัดเส้นใย และแบบการสร้างสารทุติยภูมิโดยเชื้อราไอโซเลต CMU-08 และ CMU-19 ในระยะแรกจะสร้างสารทุติยภูมียับยั้งเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคและเจริญรุกเข้าไปพันรัดเส้นใยและ chlamydospore ของเชื้อราสาเหตุโรค ในขณะที่เชื้อราไอโซเลต CMU-13 ไม่ปลดปล่อยสารทุติยภูมิออกจากเส้นใย แต่มีการเจริญรุกเข้าไปพันรัดทำลายเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคโดยตรงและเมื่อนำสารสกัดหยาบจากเชื้อรา *Chaetomium* spp. คือ CMU-08, CMU-13 และ CMU-19 มาทดสอบการยับยั้งการเจริญเส้นใยและยับยั้งการสร้าง chlamydospore ของเชื้อรา

P. palmivora (P-05) พบว่ามีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคได้ ดังนั้นหากต้องการนำเชื้อรา *Chaetomium* spp. มาใช้ในการป้องกันกำจัดโรคพืชทางด้านการเกษตร ควรต้องมีการพัฒนาและวิจัย เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของเชื้อรา *Chaetomium* spp. ในการนำไปประยุกต์ใช้ให้เกิดประโยชน์สูงสุดต่อไป เช่น การนำไปใช้ในการกำจัดเชื้อสาเหตุโรคในเนื้อเยื่อพืชโดยการนำสารสกัดหยาบที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคที่ได้จากการสกัดจากเชื้อรา *Chaetomium* ทำให้อยู่ในรูปแบบ nanoparticle ที่มีคุณสมบัติเป็นตัวพาเข้าสู่เนื้อเยื่อพืชที่เป็นโรค เพื่อนำสารสำคัญในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคเข้าไปยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคภายในเนื้อเยื่อพืชได้อย่างมีประสิทธิภาพ

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ และสำนักงานกองทุนสนับสนุนงานวิจัย (สกว.) ฝ่ายเกษตร ที่ให้ทุนวิจัยภายใต้โครงการการจัดการโรคไฟทอปโทราของทุเรียนอย่างแม่นยำและยั่งยืน ที่ให้การสนับสนุนการดำเนินงานวิจัยครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

- นุชนารถ จงเลขา. 2545. ราชั้นต่ำที่เป็นปรสิตของพืช Plant Parasitic Lower Fungi (ฉบับปรับปรุง). ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์มหาวิทยาลัย เชียงใหม่, เชียงใหม่.
- มานิตย์ ทองหอม. 2553. การปลูกทุเรียน. อักษรสยาม การพิมพ์. กรุงเทพมหานคร.
- ศูนย์สารสนเทศการเกษตร สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2561. แหล่งข้อมูล: <http://www.oae.go.th/assets/portals/1/fileups/prcaidata/files/durian60.pdf>. ค้นเมื่อ 20 ธันวาคม 2561
- แสวง ภูสิริ. 2527. เรื่องทุเรียน The story of durian. วิทยาลัยเกษตรกรรมตรัง, ตรัง.
- Anitha, R. and Murugesan, K. 2001. Mechanism of action of Gliocladium virens on Alternaria helianthi. Indian Phytopathology. 54: 449-452.
- Brewer, D., Duncan, J.M., Jerram, W.A., Leach, C.K., Safe, S., Taylor, A., Vining, L.C., Archibald, R.M., Stevenson, R.G., Mirocha, C.J., and Christensen, C.M. 1972. Ovineill-thrift in Nova Scotia. 5. The production and toxicology of chaetomin, a metabolite of chaetomium spp. Canadian Journal of Microbiology 18, 1129-1137.
- Dar, J. and Soyong, K. 2014. Construction and characterization of copolymer nanomaterials loaded with bioactive compounds from Chaetomium species. International Journal of Agricultural Technology 10: 823-831.
- Di Pietro A., M. Gut-Rella, J. P. Pachlatko and F. T. Schwinn. 1992. Role of antibiotics produced by *Chaetomium globosum* in biocontrol of *Pythium utimum*, a causal agent of damping-off. Phytopathology. 82: 131-135.
- Durães, S. 2015. Pathogenicity tests of *Phytophthora alni* and *Phytophthora plurivora* in Fraxinus excelsior and Alnus glutinosa seedlings. M.S. Thesis. Universidad de Valladolid, Spain.
- Emer O'Gara, S. Sangchote, L. Fitzgerald, D. Wood, A. Seng, and D. I. Guest. 2004. Infection Biology of *Phytophthora palmivora* Butl. in *Durio zibethinus* L. (Durian) and Responses Induced by Phosphonate. P.42-52. In: Diversity and Management of Phytophthora in Southeast Asia. BPA Print Group Pty Ltd, Melbourne, Australia.
- Environment and Climate Change Canada Health Canada. 2017. Final Screening Assessment of Chaetomium globosum strain ATCC 6205. Government of Canada, Canada.
- Guest, D. I. 2004. Diversity and Management of Phytophthora in Southeast Asia. BPA Print Group Pty Ltd, Melbourne, Australia

- Hung, P. M., P. Wattanachai, K. Soyong, and S. Poaim. 2015. Biological Control of *Phytophthora palmivora* Causing Root Rot of Pomelo Using *Chaetomium* spp. *Microbiology*. 43: 63-70.
- Kanokmedhakul, S., K. Kanokmedhakul, P. Nasomjai, S. Louangsouphanh, K. Soyong, M. Isobe, P. Kongsaree, S. Prabpai, and A. Suksamran. 2006. Antifungal azaphilones from the fungus *Chaetomium cupreum* CC3003. *Journal of Natural Products*. 69: 891-895.
- Kapoor, N., M. Tyagi, H. Kumar, A. Arya, M.A. Siddiqui, A. Amir, and A.S. Malik. 2010. Production of cellulose enzyme by *Chaetomium* sp. using wheat straw in solid state fermentation. *Research Journal of Microbiology*. 5: 1199-1206.
- Park, J.-H., G. J. Choi, K. S. Jang, H. K. Lim, H. T. Kim, K. Y. Cho, and J. C. Kim. 2005. Antifungal activity against plant pathogenic fungi of chaetoviridins isolated from *Chaetomium globosum*. *FEMS Microbiology Letters*. 252: 309-313.
- Pongpisutta, R. and S. Sangchote. 2004. Morphological and Host Range Variability in *Phytophthora palmivora* from Durian in Thailand. P.53-58. In: *Diversity and Management of Phytophthora in Southeast Asia*. BPA Print Group Pty Ltd, Melbourne, Australia.
- Pornsuriya, C., Soyong, 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.
- Soyong, K. 2553. Evaluation of *Chaetomium* - Biological Fungicide to Control *Phytophthora* Stem and Root Rot of Durian. *Rajamangala University of Technology Tawan-ok Research Journal*. 3: 115-124.
- Soyong, K., S. Kanokmedhakul, V. Kukongviriyapa, and M. Isobe. 2001. Application of *Chaetomium* species (Ketomium®) as a new broad spectrum biological fungicide for plant disease control: A review article. *Fungal Diversity* 7: 1-15.
- Suksiri, S., P. Laipasut, K. Soyong, and S. Poaim. 2018. Isolation and identification of *Phytophthora* sp. and *Pythium* sp. from durian orchard in Chumphon province, Thailand. *International Journal of Agricultural Technology* 14:389-402.
- Suzui, T. J., U. Kueprakone, and T. Kamphangridthong. 1979. *Phytophthora* spp. Isolated from some economic plants in Thailand. *Technical Bulletin Tropical Agricultural Research Center*. 12: 32-41.
- Tann, H. and K. Soyong. 2016. Bioformulations and nano product from *Chaetomium cupreum* CC3003 to control leaf spot of rice var. Sen Pidoa in Cambodia. *International Journal of Plant Biology*. 7: 59-63.

- Thongkham, D., K. Soyong, S. Kanokmedhakul, and K. Kanokmedhakul. 2018. Nanoparticles derived from *Chaetomium elatum* against Phytophthora rot of durian. International Journal of Agricultural Technology. 14: 2115-2124.
- Tongon, R., K. Soyong, S. Kanokmedhakul, and K. Kanokmedhakul. 2018. Nanoparticles from *Chaetomium brasiliense* to control *Phytophthora palmivora* caused root rot disease in durian var Montong. International Journal of Agricultural Technology 14: 2163-2170.
- Waterhouse, G. M. 1963. Key to the species of *Phytophthora* de bary. Mycological Papers. 92: 1-22.