

สกัดสารจากเชื้อรา *Trichoderma harzianum* PC01 , *Trichoderma hamatum* PC02 , *Chaetomium globosum* CG และ *Chaetomium cupreum* CC ที่เลี้ยงในอาหาร PDB โดยใช้ Hexane, Ethyl Acetate และ Methanol เป็นตัวทำละลาย เชื้อ *T. harzianum* PC01 หลังจากทำการสกัดตัวทำละลายออกได้ crude Hexane (Thz-H) 2.91 กรัม (1.82%) crude Ethyl Acetate (Thz-Et) 1.08 กรัม (0.68%) และ crude Methanol (Thz-M) 6.07 กรัม (3.79%) ตามลำดับ *T. hamatum* PC02 ได้ crude Hexane (Thm-H) 5.16 กรัม (2.30%) crude Ethyl Acetate (Thm-Et) 7.29 กรัม (4.51%) และ crude Methanol (Thm-M) 21.19 กรัม (10.33%) ตามลำดับ *Ch. globosum* CG ได้ crude Hexane (CG-H) 1.03 กรัม (0.36%) crude Ethyl Acetate (CG-Et) 10.12 กรัม (3.92%) และ crude Methanol (CG-M) 31.43 กรัม (13.09%) ตามลำดับ เชื้อ *Ch. cupreum* CC ได้ crude Hexane (CC-H) 5.32 กรัม (1.99%) crude Ethyl Acetate (CC-Et) 18.45 กรัม (6.83%) และ crude Methanol (CC-M) 9.41 กรัม (3.76%) ตามลำดับ

จากการทดสอบสารออกฤทธิ์ที่สกัดจากเชื้อราต่อต้าน Thz-H , Thz-Et , Thz-M , Thm-H , Thm-Et , Thm-M , CG-H , CG -M, CC-H , CC -Et และ CC -M ที่ระดับความเข้มข้น 10 , 50 , 100 และ 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิตร ที่ความเข้มข้น 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิตร พบว่า สามารถยับยั้งการสร้างสปอร์ของเชื้อ *C. gloeosporioides* ได้อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับที่ระดับความเข้มข้น 0 ไมโครกรัมต่อมิลลิตร โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการสร้างสปอร์ เท่ากับ 60.48 , 59.28 , 8.05 , 66.94 , 67.23 , 82.40 , 74.41 , 51.40 , 39.96 , 66.14 , 77.39 และ 79.63 เปอร์เซ็นต์ มีค่า ED_{50} เท่ากับ 122 , 283 , 1, 370 , 143 , 31 , 51 , 236 , 2843 , 80 , 60 และ 28 ไมโครกรัมต่อมิลลิตร ตามลำดับ และ พบว่า สามารถยับยั้งการสร้างสปอร์ของเชื้อ *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* ได้อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับที่ระดับความเข้มข้น 0 ไมโครกรัมต่อมิลลิตร โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการสร้างสปอร์ เท่ากับ 81.68 , 34.81 , 41.53 , 73.59 , 24.94 , 11.47 , 75.60 , 75.13 , 87.76 , 69.33 , 68.66 และ

42.26 เปอร์เซ็นต์ มีค่า ED_{50} เท่ากับ 13 , 2376 , 30 , 1 , 3 , 10 , 185 , 4487 , 16 , 88 , 97 และ 165 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

จากการทดลองทางด้านการส่งเสริมการเจริญเติบโต (Synergistic effect) พบว่า *T. harzianum* PC01 สามารถเจริญร่วมกับ สารสกัด Thz-H , CG-H และ CG-Et *T. hamatum* PC02 สามารถเจริญร่วมกับ สารสกัด Thm-H , Thm-M , CG-H , CG-Et , CG-M , CC-H และ CC-M *Ch. globosum* CG สามารถเจริญร่วมกับ กับ สารสกัด Thz-Et , Thm-H , Thm-Et , Thm-M , CG-Et และ CG-M และ *Ch. cupreum* สามารถเจริญร่วมกับ สารสกัด Thz-H , CG-H , CG-Et , CG-M , CC-H , CC-Et และ CC-M

จากการทดสอบกลไกการควบคุมโรคโดยใช้สารสกัดจากจุลินทรีย์ พบว่า สารสกัด Thm-H และ Thm-M ที่ระดับความเข้มข้น 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีประสิทธิภาพมากที่สุดในทำให้ cytoplasm ภายในสปอร์รวมเป็นก้อนหรือไหลออกนอกสปอร์ (exolysis) ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของส้มเขียวหวาน ภายในระยะเวลา 24 ชั่วโมง และ สารสกัดจากจุลินทรีย์ Thz-H, Thz-Et, Thz-M, Thm-H, Thm-Et, Thm-M, CG-H, CG-H, CG-Et, CG-M, CC-H, CC-Et และ CC-M ที่ระดับความเข้มข้น 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีประสิทธิภาพสูงที่สุดในการทำให้ cytoplasm ภายในสปอร์รวมเป็นก้อนหรือไหลออกนอกสปอร์ (exolysis) ของเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* สาเหตุโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ ภายในระยะเวลา 72 ชั่วโมง

จากการศึกษาการใช้สารสกัด Thz-M , Thm-M , CG-H และ CC-M ในการชักนำให้ต้นกล้าส้มเขียวหวานเกิดภูมิคุ้มกันโรคแอนแทรคโนสที่เกิดจากเชื้อรา *C. gloeosporioides* พบว่าการใช้สารสกัด ที่ระดับความเข้มข้น 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ฉีดลงในบริเวณใบของต้นกล้าส้มเขียวหวานอายุ 60 วัน ที่ปลูกเชื้อรา *C. gloeosporioides* (2.5×10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตร) ในปริมาณ 5 มิลลิลิตรต่อใบ พบว่า สารสกัดที่ทดสอบ ทำให้ต้นกล้าส้มเขียวหวาน มีภูมิคุ้มกันโรคเฉลี่ย 70 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ช่วงก่อนเมื่อทดสอบกับต้นกล้ามะเขือเทศอายุ 30 วัน ที่ปลูกเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* สาเหตุโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ ที่ระดับความเข้มข้น 2.6×10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตร โดยนำรากมะเขือเทศแช่ด้วยสารสกัด Thz-H, Thm-H, CG-M และ CC-H ที่ระดับความเข้มข้น 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในปริมาณ 5 มิลลิลิตรต่อต้น พบว่าสารสกัดจากจุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบทำให้ต้นกล้ามะเขือเทศมีภูมิคุ้มกันโรคเฉลี่ย 70-80 เปอร์เซ็นต์

ABSTRACT

TE 151486

Dry mycelial mats of *Trichoderma harzianum* PC01 , *Trichoderma hamatum* PC02 , *Chaetomium globosum* CG and *Chaetomium cupreum* CC were extracted by Hexane, Ethyl Acetate and Methanol. The extraction of *Trichoderma harzianum* PC01 yielded crude Hexane (Thz-H) 2.91 g (1.82%), crude Ethyl Acetate (Thz-Et) 1.08 g (0.68%) and crude Methanol (Thz-M) 6.07 g (3.79%) , *T. hamatum* PC02 yielded crude Hexane (Thm-H) 5.16 g (2.30%), crude Ethyl Acetate (Thm-Et) 7.29 g (4.51%) and crude Methanol (Thm-M) 21.19 g (10.33%) , *Ch. globosum* CG yielded crude Hexane (CG-H) 1.03 g (0.36%), crude Ethyl Acetate (CG-Et) 10.12 g (3.92%) and crude Methanol (CG-M) 31.43 g (13.09%) and *Ch. cupreum* CC yielded crude Hexane (CC-H) 5.32 g (1.99%) crude Ethyl Acetate (CC-Et) 18.45 g (6.83%) and crude Methanol (CC-M) 9.41 g (3.76%). The crude extracts of Thz-H , Thz-Et , Thz-M , Thm-H , Thm-Et , Thm-M , CG-H , CG-Et , CG-M , CC-H , CC-Et and CC-M were tested for the growth inhibition of *C. gloeosporioides* causing anthracnose of tangerine at concentrations of 10 , 50 , 100 and 500 µg/ml. Result showed that tested all crude extracts at 500 µg/ml gave the highest inhibition on spore production of tested pathogen . Percentage of spore inhibition were 60.48 , 59.28 , 8.05 , 66.94 , 67.23 , 82.40 , 74.41 , 51.40 , 39.96 , 66.14 , 77.39 and 79.63 respectively which the ED₅₀ of all tested crude extract for inhibition of spore were 122 , 283 , 1 , 370 , 143 , 31 , 51 , 236 , 2843 , 80 , 60 and 28 µg/ml , respectively. Moreover, all tested crude extracts were further tested for the growth inhibition of *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* causing tomato wilt at same concentrations showed that all tested crude extracts at 500 µg/ml gave the highest inhibition on spore production of tested pathogen . With this, Percentage of spore inhibition were 81.68 , 34.81 , 41.53 , 73.59 , 24.94 , 11.47 , 75.60 , 75.13 , 87.76 , 69.33 , 68.66 and 42.26 , respectively which the ED₅₀ were 13 , 2376 , 30 , 1 , 3 , 10 , 185 , 4487 , 16 , 88 , 97 and 165 µg/ml, respectively.

Testing of synergistic effect showed that culture of *T. harzianum* PC01 could grow on PDA incorporating with the extracts of Thz-H , CG-H and CG-Et. Culture of *T. hamatum* PC02 could grow on PDA incorporating with the extracts of Thm-H , Thm-M , CG-H , CG-Et , CG-M , CC-H and CC-M. Culture of *Ch. globosum* CG could grow on PDA incorporating with the extracts of Thz-Et , Thm-H , Thm-Et , Thm-M , CG-Et and CG-M . Culture of *Ch. cupreum* CC could grow on PDA incorporating with the extracts of Thz-H , CG-H , CG-Et , CG-M , CC-H , CC-Et and CC-M.

The mechanism of disease control was studied using microbial extracts found that the microbial extracts of Thm-H and Thm-M at the concentration of 500 µg/ml gave the highest effective mechanism of exolysis at 24 hours for *C. gloeosporioides* causing anthracnose of tangerine. Moreover, the microbial extract of Thz-H, Thz-Et, Thz-M, Thm-H, Thm-Et, Thm-M, CG-H, CG-Et, CG-M, CC-H, CC-Et and CC-M at the same concentration could also gave the highest effective mechanism of exolysis at 72 hours for *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* causing tomato wilt.

Microbial extracts of Thz-M, Thm-M, CG-H and CC-M were tested as elicitor to induced immunity of anthracnose disease of tangerine (*C. gloeosporioides*). The tested microbial extracts at the concentration of 500 µg/ml were sprayed onto the leaves of citrus seedling (60 days) which inoculated with conidial suspension of *C. gloeosporioides* (2.5×10^6 conidia / ml) at 5 ml/leaf. It was found that the inoculated tangerine seedling which treated with those microbial extracts showed disease immunity to anthracnose of tangerine averaged 70 percent. Moreover, those tested microbial extracts were tested as elicitor to tomato seedling (30 days) which inoculated with conidial suspension of *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* at 2.6×10^6 conidia/ml by dipping the tomato roots to each microbial extract at 500 µg/ml. Results showed that those tested microbial extracts could induce disease immunity of tomato wilt averaged 70-80 percent.