การทดสอบใช้เชื้อราและสารสกัดจากเชื้อรา *Emericella nidulans* ในการต่อต้านเชื้อสาเหตุโรคแอนแทรคโนสของ *Vanilla albida* Blume

Preliminary investigation of *Emericella nidulans*'s culture and extracts against anthracnose pathogen of *Vanilla albida* Blume

จุฬาลักษณ์ ตลับนาค[1*] และ เกษม สร้อยทอง[2]

Chulalak Talubnak[1*] and Kasem Soytong[2]

บทคัดย่อ: การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *Emericella nidulans* ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของวานิลา (*Vanilla albida* Blume) โดยการแยกเชื้อราสาเหตุโรคจากใบด้วยวิธี tissue transplanting technique ได้เชื้อราจำนวน 8 ไอโซเลท และทั้ง 8 ไอโซเลท ถูกนำมาทดสอบการเกิดโรคโดยวิธี detached leaves พบว่า ไอโซเลท VA8 สามารถทำให้เกิดโรครุนแรงที่สุด ในการทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* VA8 ของเชื้อรา *E. nidulans* ที่แยกได้จากเศษซากใบของวานิลา ด้วยวิธี bi-culture test และ crude extract test ซึ่งเป็นสารสกัดหยาบจากเชื้อรา *E. nidulans* ผลการทดสอบ bi-culture พบว่า เชื้อรา *E. nidulans* สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยและการสร้างสปอร์ของเชื้อ *C. gloeosporioides* VA8 ที่ 29.17% และ 31.90% ตามลำดับ และ ผลการทดสอบ crude extract ด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด คือ hexane, ethyl acetate และ methanol พบว่าสารสกัดหยาบที่ได้จาก hexane ที่ความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยและการสร้างสปอร์ของเชื้อ *C. gloeosporioides* VA8 โดยมีค่า ED_{50} เท่ากับ 1,450 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร และ 0.0006 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ

คำสำคัญ: anthracnose, *Colletotrichum gloeosporioides, Emericella nidulans, Vanilla albida*

ABSTRACT: The effect of *Emericella nidulans* against anthracnose pathogen of *Vanilla albida* Blume caused by *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz). Eight isolates of *C. gloeosporioides* were isolated by tissue transplanting technique and were tested for their pathogenicity. The results showed that isolate VA8 gave the highest virulence for disease incidence. *E. nidulans* was isolated from fallen leaves of *V. albida* and tested against mycelial growth and spore production of *C. gloeosporioides* VA8 by bi-culture and crude extract methods. Bi-culture test showed that *E. nidulans* could inhibit mycelial growth and spore production at 29.17% and 31.90%, respectively. Crude extracts were extracted from *E. nidulans* with hexane, ethyl acetate and methanol. Crude extract which was extracted with hexane gave the best mycelial growth inhibition and spore production at the concentration of 1,000 μg/ml and the effective dose (ED_{50}) were 1,450 μg/ml and 0.0006 μg/ml, respectively.

Keywords: anthracnose, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Emericella nidulans*, *Vanilla albida*

[1] ภาควิชาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง เขตลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร 10520

Department of Plant Pest Management Technology, Faculty of Agricultural Technology, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Thailand 10520.

[*] Corresponding author: chula_om@hotmail.com

คำนำ

วานิลา (*Vanilla albida* Blume) หรือ เอาะลบ หรือ กะเอาะล่อน หรือ งดขาว (เต็ม, 2544) เป็นพืชที่พบในประเทศไทย อยู่ในตระกูลเดียวกันกับกล้วยไม้ (Orchidaceae) พบขึ้นในป่าดิบชื้น เป็นพืชเถาเลื้อย มีอายุการให้ผลหลายปี วานิลาถูกจัดเป็นพืชในกลุ่มเครื่องเทศและสมุนไพร เนื่องจากฝักของวานิลา เมื่อแก่และทำให้แห้งแล้วนำมาหมักและบ่มให้เกิดกลิ่น จากนั้นนำไปสกัดสารที่ให้กลิ่นหอม สารนี้คือ วานิลิน ใช้สำหรับแต่งกลิ่นอาหาร ไอศกรีม ช็อคโกแลต เครื่องดื่ม ขนม นอกจากนี้ยังใช้ในอุตสาหกรรมยา น้ำหอมและเครื่องสำอางค์ได้อีกด้วย (วราวุธ, 2536; แสงมณี และคณะ, 2536; อบฉันท์, 2543)

ในการปลูกวานิลามักจะพบปัญหาจากการเข้าทำลายของโรคอยู่เสมอ โดยเฉพาะโรคแอนแทรคโนสที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz) (Ratanacherdchai and Soytong, 2004; Divakaran et al., 2008) ได้มีรายงานว่าโรคนี้ทำความเสียหายรุนแรงในแปลงปลูกวานิลา โดยเชื้อที่เข้าทำลายลำต้น ใบ ฝัก และ ราก บริเวณโคนต้น ทำให้เหี่ยว ฝักจะร่วง โรคนี้จะระบาดในช่วงฤดูฝน โดยเฉพาะในแปลงปลูกที่มีการระบายน้ำไม่ดี มีสภาพร่มเงามากเกินไป (วราวุธ, 2536) วิธีที่จะช่วยลดการระบาดของโรคในแปลงวานิลาในฤดูฝนทำได้โดยดูแลให้ดินมีการระบายน้ำที่ดี ตัดแต่งกิ่งไม้ไม่ให้มีร่มเงามากเกินวานิลาควรได้รับแสงที่เหมาะสม (วราวุธ, 2536) ในการป้องกันกำจัดโรคโดยทั่วไปนิยมใช้สารเคมีเนื่องจากให้ผลเร็ว แต่เมื่อมีการใช้กันเป็นจำนวนมากก็จะทำให้เกิดการสะสมสารพิษในสิ่งแวดล้อม จนเป็นอันตรายต่อชีวิตและสุขภาพของมนุษย์และสิ่งมีชีวิตอื่นๆ เนื่องจากสารเคมีเหล่านี้เป็นสารเคมีสังเคราะห์และเป็นวัตถุมีพิษ (แสงมณี, 2539) ดังนั้น ในการป้องกันกำจัดโรคพืชจึงต้องหาวิธีอย่างอื่นมาทดแทนหรือหลีกเลี่ยงการใช้สารเคมี เพื่อลดการใช้สารเคมีให้ได้มากที่สุด (จินันทนา และกิตติ, 2541) ในปัจจุบันได้มีนักวิจัยหลายท่านได้ศึกษาการนำเชื้อจุลินทรีย์ เช่น แบคทีเรีย เชื้อรา มาใช้ในการป้องกันกำจัดโรคพืชร่วมกับวิธีการอื่นๆ ได้แก่ การใช้เชื้อ Chaetomium ควบคุมโรคพืช ซึ่งประสบผลสำเร็จในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสที่เกิดจากเชื้อรา *C. gloeosporioides* ในมะม่วง ส้มเขียวหวาน ปาล์ม และ องุ่น (สุมิตรา, 2540; ถิรัตน์ และเกษม, 2545; วิไลรัตน์ และเกษม, 2545; Usuwan et al., 1999) การใช้เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus licheniformis* ควบคุมโรคแอนแทรคโนส และ stem-end rot ในมะม่วงที่เกิดจากเชื้อรา *C. gloeosporioides* และ *Botryosphaeria* spp. (Korsten and Govender, 2006) และพบว่าเชื้อรา *Emericella rugulosa* สามารถผลิตเอนไซม์ phosphatases และ phytase ซึ่งเอนไซม์ 2 ตัวนี้ ทำให้การนำฟอสฟอรัสของพืชมีการนำไปใช้มากขึ้นและทำให้ผลผลิตของพืชมากขึ้นด้วย (Yadav and Tarafdar, 2007) และ เชื้อรา *E. nidulans* ผลิตเอนไซม์ xylanase ได้ (Kango et al., 2003) การใช้เชื้อรา *E. nidulans* strain EN ยับยั้งการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* สาเหตุของโรคเหี่ยวในมะเขือเทศ (Sibounnavong et al., 2008) ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อราต่อต้าน *E. nidulans* ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของวานิลาในห้องปฏิบัติการ

วิธีการศึกษา

การเก็บตัวอย่างและการแยกเชื้อสาเหตุของโรคแอนแทรคโนสของวานิลา (Sample collection and isolation)

ทำการสำรวจและเก็บตัวอย่างใบวานิลา (*Vanilla albida* Blume) ที่เป็นโรคแอนแทรคโนสจากพระตำหนักสวนปทุม จังหวัดปทุมธานี มาทำการแยกเชื้อราสาเหตุโรคโดยวิธี tissue transplanting technique ที่ห้องปฏิบัติการตึกเห็ดราวิทยา สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

การทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรค (Pathogenicity test)

ทำการทดลองแบบ Completely randomized design (CRD) จำนวน 4 ซ้ำ เพื่อคัดเลือกไอโซเลทที่ทำให้เกิดโรครุนแรงที่สุด โดยนำเชื้อรา *Colletotrichum*

gloeosporioides ทุกไอโซเลทที่แยกได้มาเลี้ยงบนอาหาร Potato dextrose agar (PDA) เป็นเวลา 10 วัน จากนั้นใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 มม. เจาะบริเวณขอบโคโลนีแล้วย้ายชิ้นวุ้นที่มีเชื้อสาเหตุโรคลงบนใบวานิลาที่ทำแผลด้วยปลายเข็มหมุดลนไฟฆ่าเชื้อ จำนวน 4 ใบ ใบละ 2 แผล ในการทดลองเปรียบเทียบ (Control) ใช้อาหาร PDA อย่างเดียว หลังจากนั้นนำใบวานิลาที่ปลูกเชื้อแล้ว ไปบ่มไว้ในสภาพให้ความชื้น (Moist chamber) ตรวจผลการทดลองหลังจากการปลูกเชื้อ โดยสังเกตการเกิดโรคบนแผล วัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของแผลที่ทำการปลูกเชื้อเปรียบเทียบกับ Control วิเคราะห์ค่าความแตกต่างโดยเปรียบเทียบ treatment mean แบบ DMRT จากนั้นคัดเลือกไอโซเลทที่ทำให้เกิดโรครุนแรงที่สุดนำไปใช้ในการทดลองต่อไป

การทดสอบประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ต่อต้านในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสในห้องปฏิบัติ

การทดสอบด้วยการเลี้ยงเชื้อบนอาหารร่วม (Bi-culture test)

จุลินทรีย์ต่อต้านที่ใช้ทดสอบคือ เชื้อรา *Emericella nidulans* ที่แยกได้จากเศษซากใบวานิลา นำมาทดสอบการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนส *C. gloeosporioides* ไอโซเลทที่รุนแรงที่สุด 1 ไอโซเลท โดยเลี้ยงเชื้อราสาเหตุ บนอาหาร PDA เป็นเวลา 7 วัน จากนั้นใช้ Cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.3 เซนติเมตร เจาะบริเวณขอบโคโลนี จุลินทรีย์ต่อต้านก็ปฏิบัติเช่นเดียวกัน แล้วย้ายชิ้นวุ้นของจุลินทรีย์ต่อต้านและชิ้นวุ้นของเชื้อราสาเหตุโรควางบนอาหาร PDA ในลักษณะตรงข้ามกันให้มีระยะห่าง 5 ซม. และทำการเลี้ยงจุลินทรีย์ต่อต้านและเชื้อราสาเหตุโรคแยกต่างหากจากกันบนอาหาร PDA เป็นตัวเปรียบเทียบ (Control) ทำการทดลองแบบ Completely randomized design (CRD) จำนวน 4 ซ้ำ เสร็จแล้วนำไปบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง วัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อราสาเหตุโรคที่อายุ 10, 20 และ 30 วัน และนับจำนวนสปอร์ที่อายุ 30 วัน หลังจากนั้นคำนวณหาเปอร์เซนต์ยับยั้งการเจริญเติบโต (Growth inhibition, GI) โดยใช้สูตร GI=(R1-R2)/R1 x 100 เมื่อ R1 = ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีหรือจำนวนสปอร์เชื้อราสาเหตุโรคของ Control R2 = ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีหรือจำนวนสปอร์เชื้อราสาเหตุโรคของจานอาหารเลี้ยงเชื้อร่วม

ทดสอบโดยใช้สารสกัดจากจุลินทรีย์ต่อต้าน

(Crude extract test)

เลี้ยงจุลินทรีย์ต่อต้าน *E. nidulans* ในอาหาร Potato dextrose broth (PDB) เป็นเวลา 30 วัน ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นกรองเอาแต่เส้นใยเชื้อรา แล้วทำให้แห้ง นำไปแช่ในตัวทำละลาย Hexane เป็นเวลา 5 วัน แล้วกรองแยกกากออก จากนั้นนำกากที่แยกออกแช่ใน Ethyl acetate และ Methanol ตามลำดับ ส่วนของสารละลายนำไประเหยเอาตัวทำละลายออกด้วยเครื่อง Rotary evaporator จะได้สารสกัดหยาบ (Crude extract) นำสารที่ได้ไปทดสอบการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *C. gloeosporioides* โดยทำการทดลองแบบ Randomized complete block design (RCBD) จำนวน 6 สิ่งทดลอง 4 ซ้ำ โดยใช้ความเข้มข้นของสารสกัด ดังนี้ 0, 10, 50, 100, 500 และ 1,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ละลายด้วย 2% Dimethylsulfoxide (DMSO) ผสมในอาหาร PDA แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อ หลังจากนั้นนำ Cork borer เจาะขอบโคโลนีของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ที่เลี้ยงบนอาหาร PDA อายุ 7 วัน และนำไปวางบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมกับสารสกัดหยาบในแต่ละความเข้มข้น บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 4 วัน เก็บผลการทดลองโดยวัดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีและนับจำนวนสปอร์ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* แล้วนำมาคำนวณหาค่า Effective Dose (ED_{50}) และเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยและการสร้างสปอร์ของเชื้อสาเหตุ วิเคราะห์ค่าความแตกต่างโดยเปรียบเทียบ treatment mean แบบ DMRT

ผลการศึกษา

การเก็บตัวอย่างและการแยกเชื้อสาเหตุของโรคแอนแทรคโนสของวานิลา (Sample collection and isolation)

จากการสำรวจโรคแอนแทรคโนสของ *Vanilla albida* พบใบมีลักษณะเป็นแผลจุดน้ำฉ่ำ ขยายวงกว้างซึ่งเกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* และแยกเชื้อราสาเหตุได้ทั้งหมด 8 ไอโซเลท คือ VA1, VA2, VA3, VA4, VA5, VA6, VA7 และ VA8 ซึ่งโคโลนีของเชื้อรามีลักษณะเส้นใยหยาบปานกลางจนถึงละเอียดคล้ายกำมะหยี่ มีตั้งแต่สีขาวจนถึงสีเทา การเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ค่อนข้างเร็ว บางไอโซเลทมีการสร้าง Setae และ Sclerotia บางไอโซเลทสร้าง Setae หรือ Sclerotia เพียงอย่างเดียว conidia มีรูปร่างคล้ายแคปซูล หัวท้ายมน (Cylindrical) ใส ไม่มีสี มีเซลล์เดียว ขนาดประมาณ 3.4-4.6 x 9.8-15.1 ไมโครเมตร **(Figure 1)**

การทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรค (Pathogenicity test)

จากการทดสอบการเกิดโรคจากเชื้อรา *C. gloeosporioides* ทั้ง 8 ไอโซเลท พบว่า ไอโซเลท VA8 มีความสามารถทำให้เกิดโรครุนแรงที่สุด โดยที่แผลมีขนาด 12 มิลลิเมตร และแผลมีขนาดใหญ่ที่สุด ที่อายุ 18 วัน **(Table 1 Figure 2)**

การทดสอบประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ต่อต้านในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสในห้องปฏิบัติการ

ทดสอบด้วยการเลี้ยงเชื้อบนอาหารร่วม (Bi-culture test)

ผลการทดลองจากการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราต่อต้าน *E. nidulans* ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสในห้องปฏิบัติการทดสอบโดยเลี้ยงเชื้อบนอาหารร่วม (Bi-culture test) พบว่า *E. nidulans* สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยและการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* VA8 ได้ 29.17% และ 31.9% ตามลำดับ **(Figure 3)**

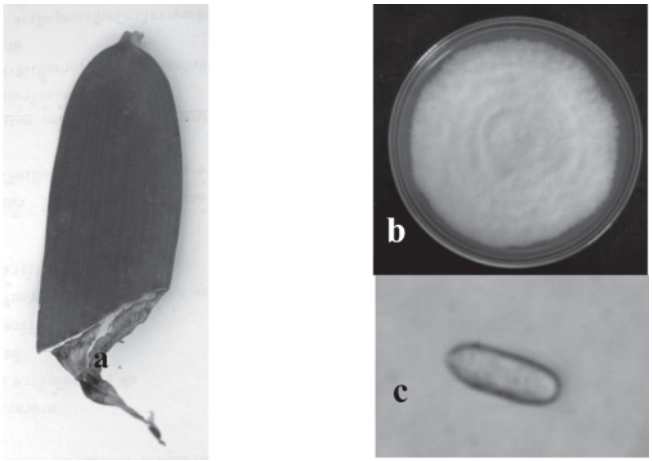

Figure 1 Symptom of disease and the causing agent. a) Symptom of anthracnose disease. b) *Colletotrichum gloeosporioides* on PDA at 10 days. c) conidia of *Colletotrichum gloeosporioides* (40x).

Table 1 Lesion diameter causing by *Colletotrichum gloeosporioides* of 8 isolates.

isolates	Lesion diameter (mm.)
VA1	5.25[c]
VA2	5.00[c]
VA3	8.50[b]
VA4	7.75[b]
VA5	8.00[b]
VA6	5.75[c]
VA7	5.25[c]
VA8	12.00[a]
Control	5.00[c]
CV. (%)	7.83

[a,b,c] Average of four replications. Means followed by the same letter in a column were not significantly different by DMRT at P = 0.01.

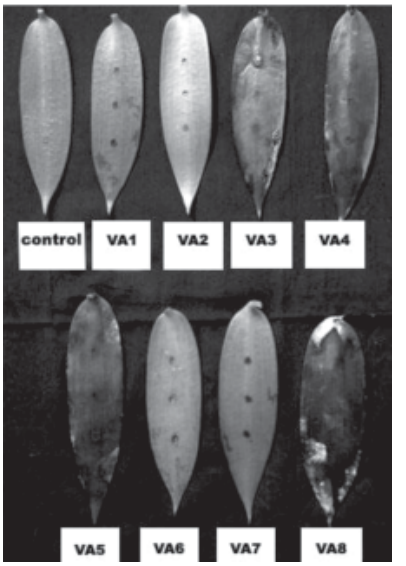

Figure 2 Pathogenicity test of *Colletotrichum gloeosporioides* on *Vanilla albida* leaves.

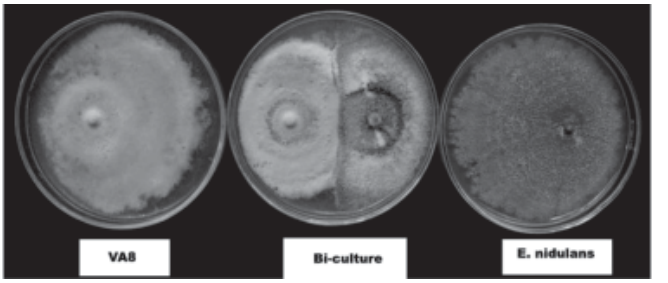

Figure 3 Bi-culture antagonistic test between *Emericella nidulans* and *Colletotrichum gloeosporioides* VA8 at 30 days.

ทดสอบโดยใช้สารสกัดหยาบจากจุลินทรีย์ต่อต้าน (Crude extract test)

การทดสอบเลี้ยงเชื้อรา *C. gloeosporioides* บนอาหาร PDA ที่ผสมสารสกัดหยาบจากเชื้อราต่อต้าน *E. nidulans* พบว่าสารสกัดหยาบที่สกัดด้วย Hexane สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยและการสร้างสปอร์ได้ดีที่สุด เท่ากับ 47.5 และ 97.7% ตามลำดับ และมีค่า ED_{50} ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยและการสร้างสปอร์เท่ากับ 1,450 และ 0.0006 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ รองลงมาคือ สารสกัดหยาบที่สกัดด้วย Ethyl acetate สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยและการสร้างสปอร์ได้ 40.5 และ 92.93% มีค่า ED_{50} ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยและการสร้างสปอร์เท่ากับ 4,388 และ 0.0015 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ และสารสกัดหยาบที่สกัดด้วย Methanol สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยและการสร้างสปอร์ได้ 43 และ 88.47% มีค่า ED_{50} ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยและการสร้างสปอร์เท่ากับ 8,328 และ 7.89 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ **(Table 2 และ Figure 4)**

Table 2 Effect of crude extracts of *Emericella nidulans* for inhibition of mycelial growth and sporulation of *Colletotrichum gloeosporioides* VA8.

Concentration	Hexane		Ethyl acetate		Methanol	
(µg/ml)	% MGI[1/]	% SPI[2/]	% MGI	% SPI	% MGI	% SPI
0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
10	3.00[c]	87.64[b]	27.00[c]	76.33[a]	19.50[c]	57.61[b]
50	14.00[b]	93.52[ab]	33.00[b]	79.95[a]	20.50[c]	70.45[ab]
100	18.00[b]	90.25[ab]	33.50[b]	85.61[a]	29.00[b]	79.47[a]
500	27.00[a]	95.37[ab]	38.50[a]	88.96[a]	29.50[b]	80.85[a]
1,000	31.00[a]	97.97[a]	40.50[a]	92.93[a]	43.00[a]	88.47[a]
CV. (%)	14.95	4.46	3.74	8.82	7.35	10.63

[1/] MGI = mycelial growth inhibition

[2/] SPI = spore production inhibition

[a,b,c] Average of four replications. Means followed by the same letter in a column were not significantly different by DMRT at P = 0.01.

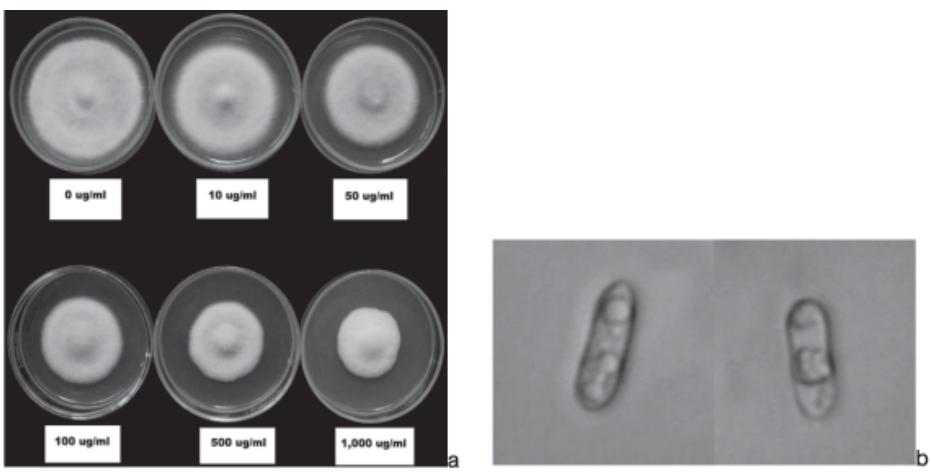

Figure 4 *Colletotrichum gloeosporioides* VA8 on PDA mixed with crude extract of *Emericella nidulans* by methanol (a) and abnormal conidia (b).

ผลการศึกษาและวิจารณ์

จากการเก็บตัวอย่างใบ *Vanilla albida* ที่เป็นโรคแอนแทรคโนส พบว่าเกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz) Penz & Sacc. ที่เป็นเชื้อสาเหตุโรค (Ratanacherdchai and Soytong, 2004; Divakaran et al., 2008) และจากการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราต่อต้าน *Emericella nidulans* ที่ใช้ควบคุม *C. gloeosporioides* VA8 พบว่า ทดสอบด้วยการเลี้ยงเชื้อบนอาหารร่วม *E. nidulans* มีประสิทธิภาพน้อยในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยและการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* VA8 อย่างไรก็ตาม การทดสอบโดยใช้สารสกัดหยาบจาก *E. nidulans* มายับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยและการสร้างสปอร์ของเชื้อสาเหตุ พบว่ามีประสิทธิภาพในการยับยั้งได้ดี การทดลองนี้จึงสอดคล้องกับรายงานของ Sibounnavong et al. (2008) ที่ว่า Bioactive compound จากเชื้อรา *Emericella nidulans* strain EN สามารถยับยั้งการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* สาเหตุของโรคเหี่ยวในมะเขือเทศได้ที่ความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร โดยมีค่า ED_{50} เท่ากับ 211 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร เช่นเดียวกับรายงานของ Wei et al. (2004) รายงานว่าสารประกอบที่แยกได้จาก *E. variecolor* GF10 คือ Ophiobolin K เป็นสารประกอบที่มีพิษต่อเซลล์มะเร็ง สามารถต่อต้านเซลล์มะเร็งได้หลากหลาย ซึ่งมีค่า IC50 เท่ากับ 0.27-0.65 μM และสารประกอบ Xanthones 4 ตัว ที่แยกได้จาก *E. variecolor* สามารถต่อต้านเซลล์มะเร็งของมนุษย์ได้หลากหลายเช่นกัน (Pornpakakul et al., 2006) นอกจากนี้มีรายงานเกี่ยวกับการใช้ antifungal metabolites จากเชื้อราในการควบคุมโรคพืช เช่น โรค Rice blast (*Magnaporthe grisea*), โรค Wheat leaf rust (*Puccinia recondita*) และโรคพืชที่เกิดจากเชื้อรา *Cladosporium cladosporioides* และ *Cladosporium sphaerospermum* (Park et al., 2005; Inácio et al., 2006)

สรุป

จากผลการทดสอบประสิทธิภาพของ *E. nidulans* ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสในวานิลา โดยวิธีเลี้ยงเชื้อบนอาหารร่วมและวิธีใช้สารสกัดหยาบแสดงให้เห็นว่าสารสกัดหยาบจาก *E. nidulans* มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* VA8 ได้ดีกว่าวิธีการเลี้ยงเชื้อบนอาหารร่วม ดังนั้นการนำสารสกัดหยาบที่ได้จากเชื้อราที่มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดโรคพืชมาวิจัยและพัฒนา เพื่อจะได้นำมาใช้ให้เกิดประโยชน์สูงสุดต่อไป

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ คุณทัศนารถ กระจ่างวุฒิ และเจ้าหน้าที่ประจำพระตำหนักสวนปทุมจังหวัดปทุมธานี ที่ให้ความช่วยเหลือในการทำวิจัยครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

จินันทนา จอมดวง และกิตติ บุญเลิศนิรันดร์. 2541. ประสิทธิภาพของเชื้อรา *Gliocladium virens* ในการป้องกันกำจัดโรคโคนเน่าของพริกที่เกิดจากเชื้อรา *Sclerotium rolfsii*. วารสารโรคพืช 13:12-20.

เต็ม สมิตินันทน์. 2544. ชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย. พิมพ์ครั้งที่ 2. ส่วนพฤกษศาสตร์ป่าไม้ สำนักวิชาการป่าไม้ กรมป่าไม้, กรุงเทพฯ.

ถิรัตน์ สมารักษ์ และเกษม สร้อยทอง. 2545. การใช้จุลินทรีย์คีโตเมี่ยมควบคุมโรคแอนแทรคโนสของปาล์มโดยชีววิธี. น. 19-20. ใน: การประชุมเสนอผลงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษาของประเทศไทย ครั้งที่ 3 18-19 กรกฎาคม 2545. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี, นครราชสีมา.

วราวุธ ชูธรรมธัช. 2536. วนิลา. ศูนย์วิจัยพืชสวนชุมพร สถาบันวิจัยพืชสวน กรมวิชาการเกษตร.

สุมิตรา น้อยเอี่ยม. 2540. การควบคุมโรคแอนแทรคโนสของมะม่วงพันธุ์โชคอนันต์โดยชีววิธีแบบผสมผสาน. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพฯ.

แสงมณี ชิงดวง, เอี่ยน ศิลาย้อย, ศรีสุรางค์ ลิขิตเอกราช, สมถวิล ศศิผลิน และเสริมศักดิ์ รักธรรม. 2536. โรคเน่าดำของวานิลลา. สามแยกเกษตร. เคหการเกษตร. 17:170-172

แสงมณี ชิงดวง. 2539. การป้องกันกำจัดโรคพืชโดยใช้พืชสมุนไพร. ข่าวสารกองโรคพืชและจุลชีววิทยา 16:32-34.

อบฉันท์ ไทยทอง. 2543. กล้วยไม้เมืองไทย. บริษัท อมรินทร์พริ้นติ้งแอนด์พับลิชชิ่ง จำกัด(มหาชน), กรุงเทพฯ.

Divakaran, M., Pillai, G.S., Babu, K.N. and Peter, K.V. 2008. Isolation and fusion of protoplasts in *Vanilla* species. Current Science 94:115-120.

Inácio, M.L., Silva, G.H., Teles, H.L., Trevisan, H.C., Cavalheiro, A.J., Bolzani, V.da.S., Young, M.C.M., Pfenning, L.H. and Araújo, Á.R. 2006. Antifungal metabolites from *Colletotrichum gloeosporioides,* an endophytic fungus in *Cryptocarya mandioccana* Nees (Lauraceae). Biochemical Systematics and Ecology 34:822-824.

Kango, N., Agrawal, S.C. and Jain, P.C. 2003. Production of xylanase by *Emericella nidulans* NK-62 on low-value lignocellulosic substrates. World Journal of Microbiology & Biotechnology 19:691-694.

Korsten, L. and Govender, V. 2006. Evaluation of different formulations of *Bacillus licheniformis* in mango pack house trials. Biological control 37:237-242.

Park, J.H., Choi, G.J., Jang, K.S., Lim, H.K., Kim, H.T., Cho, K.Y. and Kim, J.C. 2005. Antifungal activity against plant pathogenic fungi of chaetoviridins isolated from *Chaetomium globosum*. FEMS Microbiology Letters 252:309-313.

Pornpakakul, S., Liangsakul, J., Ngamrojanavanich, N., Roengsumran, S., Sihanonth, P., Piapukiew, J., Sangvichien, Ek., Puthong, S. and Petsom, A. 2006. Cytotoxic activity of four xanthones from *Emericella variecolor,* an endophytic fungus isolated from *Croton oblongifolius.* Archives of Pharmacal Research 29:140-144.

Ratanacherdchai, K. and Soytong, K. 2004. A study of vanilla diseases in Thailand. P. 232-235. In: Proc. of the 1st KMITL International Conference on Intergration of Science & Technology for sustainable development, Bangkok, Thailand. 25-26 August 2004.

Sibounnavong, P., Cynthia, C.D., Kanokmedhakul, S. and Soytong, K. 2008. The new antagonistic fungus, *Emericella nidulans* strain EN against Fusarium Wilt of Tomato. Journal of Agricultural Technology 4:89-99.

Usuwan, P., Soytong, K., Kanokmedhakul, S., Kanokmedhakul, K., Kukongviriyapan, V. and Isobe, M. 1999. Integrated biological control of *Phytophthora* root rot sweet orange using mycofungicide. P. 329-331. In: Thailand 5th International conference on Plant Protection in the Tropics 15-18 March 1999. Kuala Lumpur.

Wei, H., Itoh, T., Kinoshita, M., Nakai, Y., Kurotaki, M. and Kobayashi, M. 2004. Cytotoxic sesterterpenes, 6-epi-ophiobolin G and 6-epi-ophiobolin N, from marine derived fungus *Emericella variecolor* GF10. Tetrahedron 60:6015-6019.

Yadav, B.K. and Tarafder, J.C. 2007. Ability of *Emericella rugulosa* to mobilize unavailable P compounds during pearl millet (*Pennisetum glaucum* (L.) R.Br.) crop under arid condition. Indian Journal of Microbiology 47:57-63.