

ความหลากหลาย และอนุกรมวิธานของเชื้อราปฏิปักษ์ *Chaetomium* spp. ต่อเชื้อรา *Phytophthora palmivora* ที่พบในภาคเหนือของประเทศไทย

Diversity and taxonomy of antagonistic fungi *Chaetomium* spp. on *Phytophthora palmivora* found in Northern Thailand

ฤทัยภัทร เมามูล¹, อัมพล พรหมเมศรี¹, จินตนา อันอาดม้งาม² อาทิตย์ ยาวุทธิ³
และ ชัยวัฒน์ โตอนันต์^{1*}

Ruthaipat Maumoon¹, Amphol Prommate¹, Jintana Unartngam² Artit Yawootti³
and Chaiwat To-anun^{1*}

บทคัดย่อ: เชื้อ *Phytophthora palmivora* เป็นเชื้อสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าในทุเรียน ซึ่งทำความเสียหายกับผลผลิตเป็นอย่างมาก แนวทางการแก้ไขปัญหาคือการหาเชื้อรา *Chaetomium* spp. บางสายพันธุ์ที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งต่อเชื้อสาเหตุดังกล่าวได้ แต่ข้อมูลการจำแนกเชื้อราดังกล่าว มีอยู่อย่างจำกัดจึงทำการสำรวจ รวบรวม และจัดจำแนกเชื้อรา *Chaetomium* spp. ที่พบบนวัสดุการเกษตรต่างๆ เช่น ฟางข้าว แกลบดิบ กะลาเผา ใบปาล์ม หน่อกล้วย และดิน ในเขตภาคเหนือของประเทศไทย ได้แก่ จังหวัดเชียงใหม่แพร่ อุตรดิตถ์ และลำพูน โดยแยกเชื้อด้วยวิธี Baiting technique พบว่าสามารถแยกเชื้อรา *Chaetomium* spp. ได้ทั้งหมด 28 ไอโซเลท เมื่อศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา และวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณตำแหน่ง ITS-rDNA โดยเปรียบเทียบกับเชื้อราที่อยู่ในฐานข้อมูล Genbank (NCBI) พบว่าสามารถจำแนกเชื้อรา *Chaetomium* spp. ได้ทั้งหมด 5 ชนิด คือ *Chaetomium globosum*, *Chaetomium brasiliense*, *Chaetomium atrobrunneum*, *Chaetomium aureum* และ *Chaetomium cupreum* สุ่มเชื้อราแต่ละกลุ่มนำมาทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *Chaetomium* spp. ต่อการยับยั้งเชื้อรา *Phytophthora palmivora* สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าในทุเรียนโดยวิธี dual culture พบว่าเชื้อรา *C. aureum* ไอโซเลท MCRC-019, *C. cupreum* ไอโซเลท MCRC-008, *C. brasiliense* ไอโซเลท MCRC-020, *C. globosum* ไอโซเลท MCRC-013 และ *C. atrobrunneum* ไอโซเลท MCRC-021 มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 99.41 53.09 51.62 40.59 และ 32.50 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ผลการศึกษาที่ได้อาจใช้เป็นแนวทางในการคัดเลือกสายพันธุ์เชื้อรา เพื่อการควบคุมโรคต่อไปได้

คำสำคัญ: *Chaetomium* spp., การจำแนกชนิด, ITS rDNA

Received February 11, 2020

Accepted July 8, 2020

¹ ภาควิชากีฏวิทยาและโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เชียงใหม่ 50200

¹ Department of Entomology and Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200

² ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน 73140

² Department of Plant Pathology, Faculty of Agriculture at Kamphaeng Saen, Kasetsart University Kamphaengsaen Campus 73140

³ คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา, เชียงใหม่ 50300

³ Faculty of Engineering Rajamangala University of Technology Lanna, Chiang Mai, Thailand, 50300

* Corresponding author: chaiwat.toanun@gmail.com

ABSTRACT: *Phytophthora palmivora*, a causal agent of root rot disease, is a severe pathogen affecting durian production. Some strain of *Chaetomium* exhibit antifungal activity and can be used to solve this problem. However, the data of the identification of *Chaetomium* is limited. Thus, *Chaetomium* species obtained from various agricultural materials including rice straw, husk, coffee shell, palm leaves, hay and soil in Northern Thailand (Chiang Mai, Phrae, Uttaradit and Lumphun) were surveyed, collected and identified. Twenty eight isolations were isolated by Baiting techniques and fungal morphological characteristics were observed. A phylogenetic tree based on internal transcribed spacer region (ITS) region revealed that 28 fungal isolations were identified to five fungal species include; *Chaetomium atrobrunneum*, *C. aureum*, *C. brasiliense*, *C. cupreum*, and *C. globosum*. The antagonistic fungal were tested for the mycelial growth inhibition of *Phytophthora palmivora* which causes the durian root and stem rot diseases by the dual culture method. Five isolates of antagonistic fungal *C. atrobrunneum* (MCRC-021), *C. aureum* (MCRC-019), *C. brasiliense* (MCRC-020), *C. cupreum* (MCRC-008) and *C. globosum* (MCRC-013), result showed that the *Chaetomium* isolates could inhibit growth of *P. palmivora* with the percentages of 99.41 53.09 51.62 40.59 and 32.50 respectively. The finding in this study might be useful for the selection of *Chaetomium* species in plant disease control in the future.

Keywords: *Chaetomium* spp., identification, ITS rDNA

บทนำ

ทุเรียน (*Durio ziberthinus*) เป็นพืชวงศ์ Bombaceae ไม้ผลเขตร้อนที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศไทย ส่วนใหญ่ปลูกทางภาคตะวันออก เช่น จันทบุรี ตราด ระยอง ตลอดจนภาคใต้ของประเทศ ทุเรียนเป็นสินค้าส่งออกที่ทำรายได้อย่างสม่ำเสมอ การปลูกทุเรียนจึงมีการขยายพื้นที่ปลูกเพิ่มมากขึ้น ปัญหาเรื่องโรคและแมลงจึงเพิ่มขึ้นตาม ก่อให้เกิดความเสียหายทางเศรษฐกิจเป็นจำนวนมาก โรคทุเรียนที่สำคัญและทำความเสียหายให้แก่ต้นทุเรียนสูงเป็นอันดับหนึ่ง และเป็นปัญหาแก่ชาวสวนทุเรียนตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบันคือ โรครากเน่าโคนเน่า ซึ่งเกิดจากเชื้อรา *Phytophthora palmivora*. โรคนี้สร้างความเสียหายให้กับต้นทุเรียน โดยทำให้ทุเรียนตายเพราะรากและบริเวณโคนเน่า และยังสามารถทำให้เกิดเปลือกเน่าที่กิ่ง (ชวลา, 2531) จากปัญหาดังกล่าวเกษตรกรส่วนใหญ่เลือกใช้วิธีป้องกันกำจัดโรคโดยการใส่สารเคมีในการป้องกันกำจัดเชื้อรา และเมื่อใช้ติดต่อกันเป็นเวลานาน ทำให้เชื้อเกิดการต้านทานต่อสารเคมี นอกจากนี้จะทำให้เชื้อเกิดความต้านทานต่อสารเคมีป้องกันกำจัดโรคพืชแล้วยังก่อให้เกิดมลพิษและเสียสมดุลทางธรรมชาติอีกทั้งยังเป็นสารก่อโรคร้ายแรงในมนุษย์อีกด้วย (Amadioha, 2000) ดังนั้นจึงได้ทำการทดสอบ

ความสามารถในการเป็นจุลินทรีย์ต่อต้านของเชื้อรา *Chaetomium* spp. ในการควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียน *Chaetomium* เป็นเชื้อราพวก saprophytes จัดจำแนกอยู่ในตระกูล Chaetomiaceae กลุ่ม Ascomycetes เป็นหนึ่งในกลุ่มที่ใหญ่ที่สุดของ saprophytic ascomycetes มีการสร้าง perithecium ที่มี sterile hypha หรือ hair ยื่นออกจากผนังด้านนอกโดยรอบ มีการสร้าง ascus รูปร่างแบบกระบอกภายในบรรจุสปอร์จำนวน 8 สปอร์ หรือเรียกว่า ascospore (Kunze and Schmidt, 1817) *Chaetomium* เป็นสกุลที่มีการยอมรับประมาณ 100 ชนิด (Kirk et al. 2008) เชื้อรา *Chaetomium* เป็นเชื้อราที่พบในดินสามารถเจริญได้ดีในเศษซากพืช สัตว์ที่เน่าเปื่อยผุพังและอินทรีย์วัตถุต่างๆ มีการขยายพันธุ์โดยใช้เพศและทนต่อสภาพแวดล้อมต่างๆ ได้ดี (Somritthipol, 2004) และยังพบในปุ๋ยอินทรีย์ สามารถย่อยสลายเซลลูโลสและสารอินทรีย์อื่นๆ ได้ เนื่องจากเชื้อรานี้นั้นสามารถสร้างเอนไซม์ cellulase และ xylanase (Wabster and Weber, 2007) นอกจากนี้เชื้อรา *Chaetomium* ยังสามารถผลิตสารทุติยภูมิที่สำคัญได้หลายชนิด เช่น benzoquinone, chaetomanone, ergosterol, ergosteryl palmitate, chrysophanol, chaetoglobosin C, alternariol monomethyl ether, echinuline และ isochaetoglobosin D ซึ่งสามารถยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรค

พืชได้ (Brewer et al. 1986) ในการระบุชนิดของ *Chaetomium* spp. จากลักษณะทางสัณฐานวิทยาเพียงอย่างเดียวไม่สามารถยืนยันสายพันธุ์ที่ใกล้เคียงกันได้ เช่น *Chaetomium indicum* และ *Chaetomium funicola*, *C. globosum* และ *Chaetomium olivaceum*, *C. globosum* และ *Chaetomium globosporum* เป็นต้น (Maheswari et al. 2013) เนื่องจากความซับซ้อนและความสัมพันธ์ที่เกี่ยวข้องกันอย่างใกล้ชิด จึงได้มีการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ ITS rDNA เพื่อใช้ในการจัดจำแนกได้อย่างถูกต้อง นอกจากนี้ ITS rDNA ยังใช้สำหรับการจัดจำแนกเชื้อราชนิดอื่นได้ในระดับหนึ่ง อย่างไรก็ตาม ข้อมูลการจัดจำแนกเชื้อรา *Chaetomium* spp. ในประเทศไทยยังมีอยู่อย่างจำกัด ดังนั้นการศึกษาค้นคว้าวิจัยมีวัตถุประสงค์เพื่อจำแนกชนิดของเชื้อรา *Chaetomium* spp. โดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยา และการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ เพื่อเป็นแนวทางในการคัดเลือกสายพันธุ์เชื้อราในการควบคุมโรคพืชโดยชีววิธีได้อย่างมีประสิทธิภาพ

อุปกรณ์และวิธีการ

การสำรวจ เก็บรวบรวม และการแยกเชื้อบริสุทธิ์ของเชื้อรา *Chaetomium* spp.

ทำการสำรวจ และเก็บรวบรวมตัวอย่างเชื้อรา *Chaetomium* spp. จากวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร เช่น ฟางข้าว แกลบดิบ กะลากาแฟ ใบปาล์ม หญ้าแห้ง และดิน รวมทั้งหมด 28 ไอโซเลท ได้แก่ จังหวัดเชียงใหม่ 17 ไอโซเลท จังหวัดแพร่ 3 ไอโซเลท จังหวัดอุดรธานี 3 ไอโซเลท จังหวัดลำพูน 3 ไอโซเลท และจังหวัดปทุมธานี 2 ไอโซเลท ทำการศึกษาลักษณะสัณฐานของเชื้อราภายใต้ compound microscope จากนั้นนำมาแยกเชื้อสาเหตุของโรคด้วยวิธีการใช้เหยื่อล่อ (baiting technique)

แยกเชื้อรา *Chaetomium* spp. ด้วยวิธี baiting technique (Soytong, 1989a) โดยนำตัวอย่างดินใส่ในจานเลี้ยงเชื้อจานละ 10 กรัม จำนวน 5 จานเลี้ยงเชื้อต่อ 1 ตัวอย่าง จากนั้นใช้น้ำก้นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว พรมในดินเพื่อให้ความชื้น ใส่ฟางข้าวที่ผ่านการฆ่าเชื้อตัดเป็นชิ้นเล็กๆ เพื่อเป็นเหยื่อล่อเชื้อ บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องทิ้งไว้ 2 สัปดาห์ บันทึกผลโดยดูการสร้าง perithecia บนฟางข้าวภายใต้กล้องจุลทรรศน์

แบบ Stereo จากนั้นใช้เข็มเขี่ย เขี่ย fruiting body เชื้อราที่เจริญบนฟางข้าว นำมาวางบนอาหาร Water agar (WA) แล้วหยดน้ำกลั่นลงไป ทำการ spread เชื้อรา *Chaetomium* บน WA แล้วบ่มไว้ 12 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง เมื่อพบว่าเชื้อราเจริญและสร้างเส้นใยแล้ว ตัดปลายเส้นใยนำมาวางลงบนอาหาร Potato dextrose agar (PDA) เพื่อให้ได้เชื้อบริสุทธิ์ โดยวิธี single spore isolation โดยการใช้น้ำเกลือสปอร์มาเกลี่ยบนอาหาร WA และใช้ Pasteur pipette ตักสปอร์เดี่ยวมาเลี้ยงบนอาหาร PDA จากนั้นนำเส้นใยเชื้อราบริสุทธิ์มาทดลอง และเก็บรักษา stock culture ไว้ที่ภาควิชาชีววิทยาและโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา

นำเชื้อราที่ได้จากการแยกเชื้อบริสุทธิ์ ศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยา ได้แก่ ascomata, ascomatal hairs, ascomatal wall, asci, ascus, ascospores และลักษณะโคโคเน็ของเชื้อราที่ได้จากการแยกเชื้อบริสุทธิ์ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (compound microscope)

การเตรียมเส้นใย

การเตรียมเส้นใยและการสกัดดีเอ็นเอของเชื้อรา *Chaetomium* spp. มีวิธีการดังนี้ เตรียมสปอร์แขวนลอย (spore suspension) โดยเติมน้ำกลั่นหนึ่งช้อนชา เชื้อลงบนผิวหน้าอาหารที่มีเชื้อรา *Chaetomium* spp. เจริญอยู่ แล้วขูดผิวหน้าด้วยแท่งแก้วรูปตัวแอล ดูดสปอร์แขวนลอยของเชื้อราใส่ในอาหารเหลว potato dextrose broth (PDB) ที่บรรจุอยู่ในขวดรูปชมพู่ แล้วนำไปบ่มพร้อมเขย่าเป็นเวลา 6-8 ชั่วโมง ทำการกรองเส้นใยด้วยเครื่องบ่มสุญญากาศเก็บเส้นใยที่กรองได้ในแผ่นกระดาษกรอง whatman NO.1 นำไปทำให้แห้งด้วยวิธี freeze dye (lyophilization) เป็นเวลา 14-18 ชั่วโมง และเก็บที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียสตามหลักการของ Weising et al. (2000)

การสกัดดีเอ็นเอ

นำเส้นใยแห้งมาบดโดยใช้ไนโตรเจนเหลว ซึ่งเส้นใยผงละเอียด 0.05 กรัม เติมน้ำ extraction buffer 500 ไมโครลิตร (200 mM Tris HCL, pH 8.0; 250 mM EDTA และ 0.5% SDS) บ่มที่ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา

30 นาที สกัดแยกดีเอ็นเอโดยใช้ phenol และ chloroform: isoamyl alcohol (24:1) 500 ไมโครลิตร แล้วนำมาหมุนเหวี่ยงด้วยความเร็ว 13,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 10 นาที ดูดส่วนใสด้านบนย้ายใส่หลอดใหม่ แล้วเติม chloroform IAA อัตราส่วน 1 เท่า ผสมให้เข้ากัน หมุนเหวี่ยงด้วยความเร็ว 13,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 10 นาที เติมน้ำ ethanol 2 เท่า เก็บไว้ที่ -20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 45-60 นาที จากนั้นตกตะกอนดีเอ็นเอด้วยการหมุนเหวี่ยงด้วยความเร็ว 13,000 รอบ/นาทีเป็นเวลา 10 นาที ล้างตะกอนดีเอ็นเอด้วย 70% ethanol 100 มล. และหมุนเหวี่ยงด้วยความเร็ว 13,000 รอบ/นาทีเป็นเวลา 10 นาที ทำซ้ำ 2 ครั้ง เก็บตะกอนดีเอ็นเอไว้ที่ -20 องศาเซลเซียส หรือละลายตะกอนดีเอ็นเอด้วย TE buffer (10 mM Tris HCL pH 8.0, 1 mM EDTA) นำดีเอ็นเอที่สกัดได้มาทำการตรวจสอบบน 1% agarose gel electrophoresis ดัดแปลงมาจากวิธีของ Zimand et al. (1994)

การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ ITS (internal transcribed spacer) ribosomal DNA

เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอบริเวณ ITS rDNA ของเชื้อรา *Chaetomium* spp. จำนวน 28 ไอโซเลท ได้แก่ CMU01-CMU28 ด้วยไพรเมอร์ 2 ชนิด คือ ITS5 (5'-GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG-3') และ ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') (White et al. 1990) อย่างละ 10 pmole และเติม 1 mM MgCl₂, 0.2 mM dNTP, 1X PCR buffer และ 1 unit Taq polymerase โดยทำปฏิกิริยา Denaturation ที่ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 นาที 1 รอบ จากนั้นทำปฏิกิริยาแบบวนซ้ำ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วินาที ต่อด้วยปฏิกิริยา Annealing 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที และทำปฏิกิริยา Extension 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที ทั้งหมดจำนวน 35 รอบ และรอบสุดท้ายที่ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที นำ PCR product ที่ได้มาตรวจสอบด้วย 1% agarose gel electrophoresis จากนั้นทำ PCR product ให้บริสุทธิ์ Microspin s-400 HR column และส่งวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์โดยบริษัท BIOGENOMED CO., LTD. Phylogenetic tree เปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อราบริเวณ ITS โดยวิเคราะห์ข้อมูลร่วมกับลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณเดียวกันที่มีบันทึกไว้ในฐาน

ข้อมูล Genbank (The National Center for Biotechnology Information; NCBI) ในโปรแกรมชุดคอมพิวเตอร์ MEGA7 (Sudhir et al. 2016) จากนั้นนำข้อมูล alignment (M7:ClustaW Parameters) มาสร้าง Phylogenetic tree โดยจัดกลุ่มด้วยวิธี Neighbor-joining (Saitou and Nei, 1987) และหาค่า bootstrap (Felsenstein, 1985) ด้วยโปรแกรมเดียวกันจำนวน 1,000 ซ้ำ

การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราปฏิภักษ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียน

ทดสอบการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคด้วยวิธี dual culture method นำเชื้อรา *Chaetomium* spp. ที่เลี้ยงบนอาหาร PDA เป็นเวลา 15 วัน ย้ายเชื้อใช้ Cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร ตัดชิ้นวุ้นที่มีเชื้อรา *Chaetomium* spp. ไปวางลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA โดยวางค้อนไปทางด้านใดด้านหนึ่งห่างจากจุดศูนย์กลาง 3 เซนติเมตร หลังจากนั้นจึงใช้ cork borer เดิมที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ตัดชิ้นวุ้นที่มีเชื้อรา *Phytophthora palmivora* ที่มีอายุ 1 วัน เจริญอยู่ แล้วย้ายมาวางบน PDA ในด้านตรงกันข้ามกับเชื้อรา *Chaetomium* spp. โดยมีระยะห่างกัน 6 cm. จากวิธีการข้างต้นทำการทำ 4 ซ้ำ จากนั้นนำจานอาหารทั้งหมดไปบ่ม (incubate) ที่อุณหภูมิห้องนาน 1 วัน วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) จำนวน 4 ซ้ำต่อกรรมวิธี และเปรียบเทียบค่าความแตกต่างของข้อมูลโดยวิธี Least Significant Difference test (LSD) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

การคำนวณค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง (percent inhibition of radial growth; PIRG)

$$PIRG = \frac{R_1 - R_2}{R_1} \times 100$$

กำหนดให้ : R₁ = รัศมีของโคโลนีเชื้อสาเหตุของโรคในชุดควบคุม

R₂ = รัศมีของโคโลนีเชื้อสาเหตุของโรคในชุดทดสอบ

ผลการทดลองและวิจารณ์

การสำรวจ เก็บรวบรวม และการแยกเชื้อบริสุทธิ์ของเชื้อรา *Chaetomium* spp.

จากการสำรวจเชื้อรา *Chaetomium* spp. จากวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร เช่น ดิน แกลบดิบ กะลา กากแปะ ปาล์ม และฟางข้าว ในจังหวัดเชียงใหม่ 17 ไอโซเลท จังหวัดแพร่ 3 ไอโซเลท จังหวัดอุดรธานี 3 ไอโซเลท จังหวัดลำพูน 3 ไอโซเลท และจังหวัดปทุมธานี 2 ไอโซเลท รวมทั้งหมด 28 ไอโซเลท จำแนกด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยา พบว่าจัดจำแนกเชื้อราได้ทั้งหมด 5 ชนิด ได้แก่ *Chaetomium globosum*, *C. brasiliense*, *C. atrobrunneum*, *C. aureum*, *C. cupreum* โดยวัสดุที่แยกเชื้อราเหล่านี้ได้มากที่สุดคือแกลบดิบที่แยกเชื้อราได้รวม 18 ไอโซเลท โดยพบเชื้อราทั้ง 5 ชนิดที่เจริญบนแกลบดิบ ส่วนวัสดุที่พบเชื้อรา *Chaetomium* รองลงมา ได้แก่ ฟางข้าวและดิน ที่พบตัวอย่างละ 3 ไอโซเลท โดยทุกตัวอย่างที่พบในฟางข้าวจำแนกได้เป็น *C. globosum* ทั้งสามไอโซเลท ส่วนในดินจำแนกได้เป็น *C. globosum* 1 ไอโซเลท และ *C. atrobrunneum* 2 ไอโซเลท สำหรับใบปาล์ม กะลา กากแปะ และหญ้าแห้งพบเชื้อรา *Chaetomium* จำนวน 1, 1 และ 1 ไอโซเลท ตามลำดับ สอดคล้องกับการรายงานของ Wabster and Weber (2007) ที่ว่าเชื้อรา *Chaetomium* spp. สามารถย่อยสลายเซลลูโลสและสารอินทรีย์อื่นๆได้ เนื่องจากเชื้อรานี้สามารถสร้างเอนไซม์ cellulase และ xylanase ซึ่งมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาแตกต่างกันในแต่ละกลุ่ม เช่นเดียวกับการศึกษาของ Petcharat and Soytong (1991) ได้ทำการแยกเชื้อจากดินในสวนยางพาราจาก 8 พื้นที่ในภาคใต้ของประเทศไทยพบเชื้อรา *Chaetomium* หลายชนิด ได้แก่ *Chaetomium aureum*, *C. cupreum*, *C. fusiforme*, *C. globosum*, *C. gracile* และ *C. lucknowense* เป็นต้น โดยแต่ละชนิดมีลักษณะ

ทางสัณฐานวิทยาที่แตกต่างกัน เนื่องจากสมบัติทางกายภาพของดินและสภาพแวดล้อมแตกต่างกัน

ผลการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อราแต่ละไอโซเลทในจำนวน 28 ไอโซเลทที่แยกได้ ซึ่งสามารถแบ่งตามลักษณะที่แตกต่างกัน (Table 1) คือ กลุ่มที่ 1 จำนวน 15 ไอโซเลท มีลักษณะตรงกับเชื้อรา *Chaetomium globosum* กลุ่มที่ 2 จำนวน 5 ไอโซเลท มีลักษณะตรงกับเชื้อรา *Chaetomium atrobrunneum* กลุ่มที่ 3 จำนวน 2 ไอโซเลท มีลักษณะตรงกับเชื้อรา *Chaetomium cupreum* กลุ่มที่ 4 จำนวน 1 ไอโซเลท มีลักษณะตรงกับเชื้อรา *Chaetomium aureum* กลุ่มที่ 5 จำนวน 5 ไอโซเลท มีลักษณะตรงกับเชื้อรา *Chaetomium brasiliense* รายละเอียดผลการศึกษามีดังต่อไปนี้

เชื้อรา *Chaetomium globosum*

ลักษณะโคโคนีเชื้อรา *Chaetomium globosum* เมื่อเลี้ยงบนอาหาร PDA เริ่มแรกมีเส้นใยสีขาวฟู หนาแน่น ไม่มีการสร้างเม็ดสีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ เจริญเต็มจานเลี้ยงเชื้อราภายใน 14 วัน ที่อุณหภูมิห้อง perithecium มีรูปร่างกลมรีหรือรูปไข่ ขนาด 110-180 × 80-132 μm มีลักษณะเป็นสีเขียวเข้มถึงน้ำตาล พบ ostiolate ascomatal hair มีสีเขียวอมน้ำตาล มีลักษณะโค้งงอไม่สม่ำเสมอกัน เป็นคลื่น เรียวยาว มีผนังกันเซลล์ ascomatal wall มีสีน้ำตาลเข้ม เรียงตัวแบบ intricate asci มีรูปร่างคล้ายกระบองฝิวบาง ขนาด 19.1-38.8 × 12-17.5 μm ภายในประกอบด้วย 8 ascospores/ascus และ ascospore มีสีน้ำตาลรูปร่างคล้ายผลมะนาว ขนาด (34.92-38.72-50.51(-57.43) × (52.44-55.22-70.64(-73.36) μm (Figure 1) มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาใกล้เคียงกับเชื้อรา *Chaetomium globosum* ที่มีรายงานไว้โดย Wang et al. (2015)

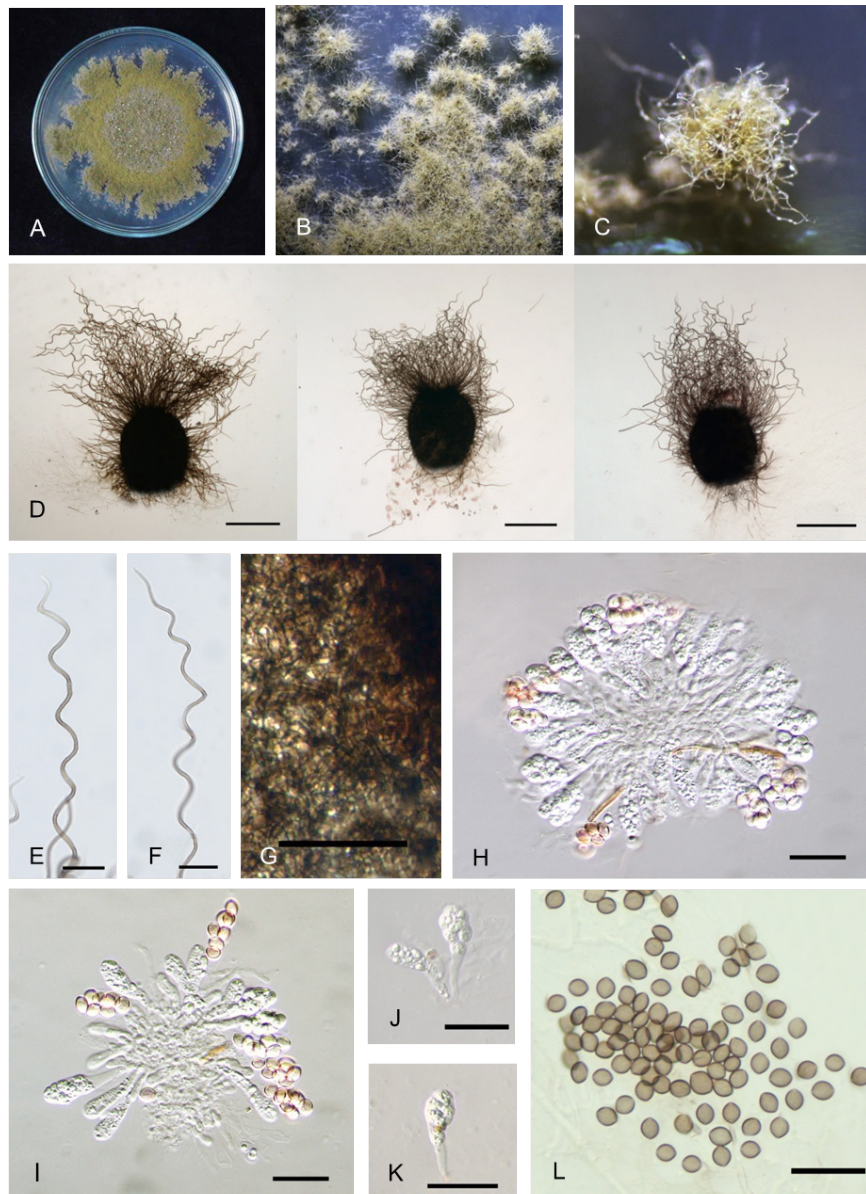


Figure 1 Morphological of *Chaetomium globosum*; (A) colony on PDA, (B-C) ascomata on PDA, (D) perithecium (compound microscope), (E-F) ascomatal hair, (G) ascomatal wall, (H-I) asci, (J-K) ascus, (L) ascospores

เชื้อรา *Chaetomium atrobrunneum*

ลักษณะโคโลนีเชื้อรา *Chaetomium atrobrunneum* เมื่อเลี้ยงบนอาหาร PDA ระยะแรกมีเส้นใยสีขาวฟูไม่หนาแน่นต่อมาเป็นสีเทาเข้มถึงเทาดำ ไม่มีการสร้างเม็ดสี ลักษณะขอบของโคโลนีไม่เรียบ เจริญเต็มจานเลี้ยงเชื้อราภายใน 20 วัน ที่อุณหภูมิห้อง perithecium รูปร่างกลมถึงรูปไข่ สีเทาเข้มถึงสีดำ ขนาด 80-160 × 50-120 μm พบ ostiolate ascomatal hair มีสีเทาเข้มหรือสีน้ำตาลเข้ม มีลักษณะปลายตรง มีผนังกันเซลล์ asco-

matal wall สีน้ำตาลเข้ม เรียงตัวแบบ angularis asci รูปทรงกระบอกหรือคล้ายกระสวย ขนาด 20.9-32.4 × 10.1-13.5 μm มีขนาดเล็ก สีน้ำตาลเข้ม รูปร่างคล้ายกระสวย เรียวยาว ผิวบางเรียบ ขนาด (28.44-) 30.35-39.44(-42.93) × (51.61-)57.58-71.47(-78.88) μm (Figure 2) มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาใกล้เคียงกับเชื้อรา *Chaetomium atrobrunneum* ที่มีรายงานไว้โดย Ames (1963) และ Wang et al. (2016)

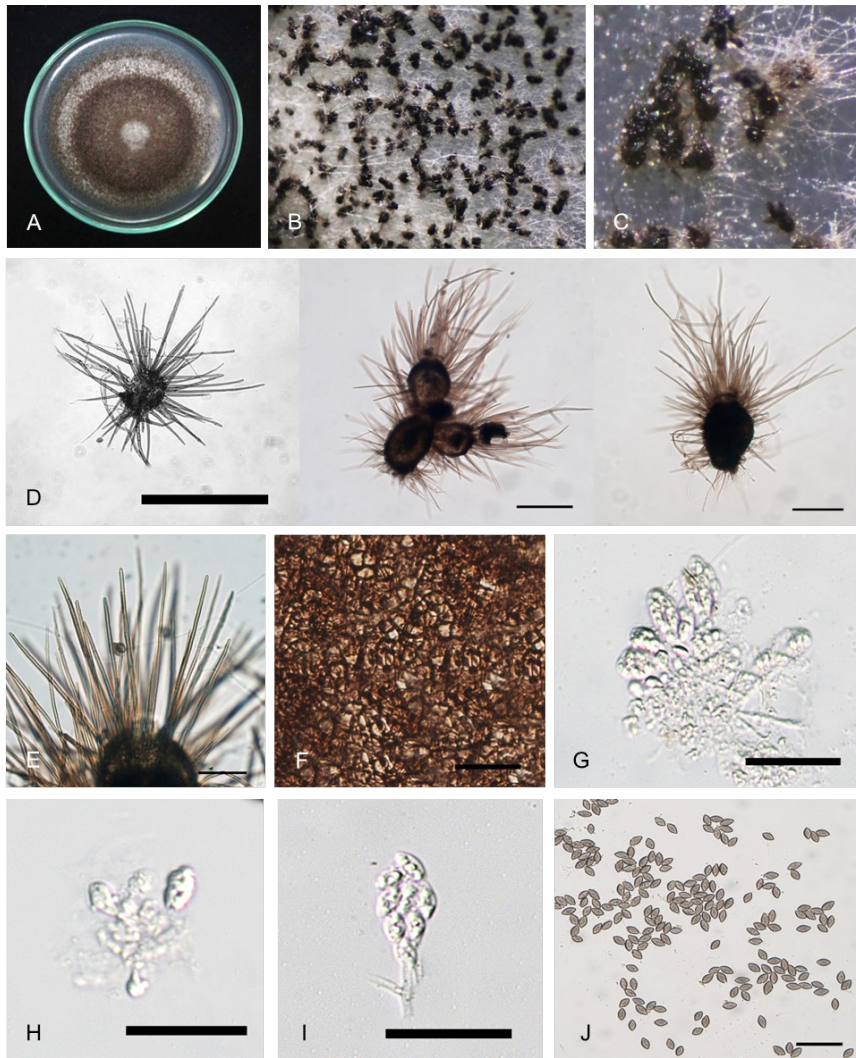


Figure 2 Morphological of *Chaetomium atrobrunneum*; (A) colony on PDA, (B-C) ascomata on PDA, (D) perithecium (compound microscope), (E) ascomatal hair, (F) ascomatal wall, (G-H) asci, (I) ascus, (J) ascospores

เชื้อรา *Chaetomium cupreum*

ลักษณะโคโลนีเชื้อรา *Chaetomium cupreum* เมื่อเลี้ยงบนอาหาร PDA มีเส้นใยสีขาว ต่อมาสีส้มแดง โคโลนีมีขอบเรียบ มีการสร้างเม็ดสีสีแดงทั่วอาหารเลี้ยงเชื้อ เจริญเต็มจานเลี้ยงเชื้อราภายใน 14 วัน ที่อุณหภูมิห้อง perithecium มีรูปร่างไข่ สีทองแดงหรือสีส้มแดงถึงสีน้ำตาล ขนาด $68-130 \times 53-100 \mu\text{m}$ เข็ม ascomatal hair เส้นขนมีสีทองแดง เรียวยาว ปลายขดเป็นเกลียวมีลักษณะคล้ายตะขอ มีผนังกันเซลล์ มีขนาด $4.5 - 6.0 \mu\text{m}$ ascomatal wall เรียงตัวแบบ angularis asci มีรูป

ร่างคล้ายกระบอง ผิวบาง ขนาด $25.5-33.9 \times 8.4-11.5 \mu\text{m}$ ภายในประกอบด้วย 8 ascospores/ascus และ ascospores มีสีแดงเข้มถึงน้ำตาล รูปร่างคล้ายเรือ ขนาด $(25.07-28.44-37.42(-41.52) \times (47.66-55.39-66.42(-74.08) \mu\text{m}$ (Figure 3) มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาใกล้เคียงกับเชื้อรา *Chaetomium cupreum* ที่มีรายงานไว้โดย Ames (1961), Hanlin and Richard (1998), Millner et al. (1977), Watanabe (2010) และ Singh and Pande (2008)

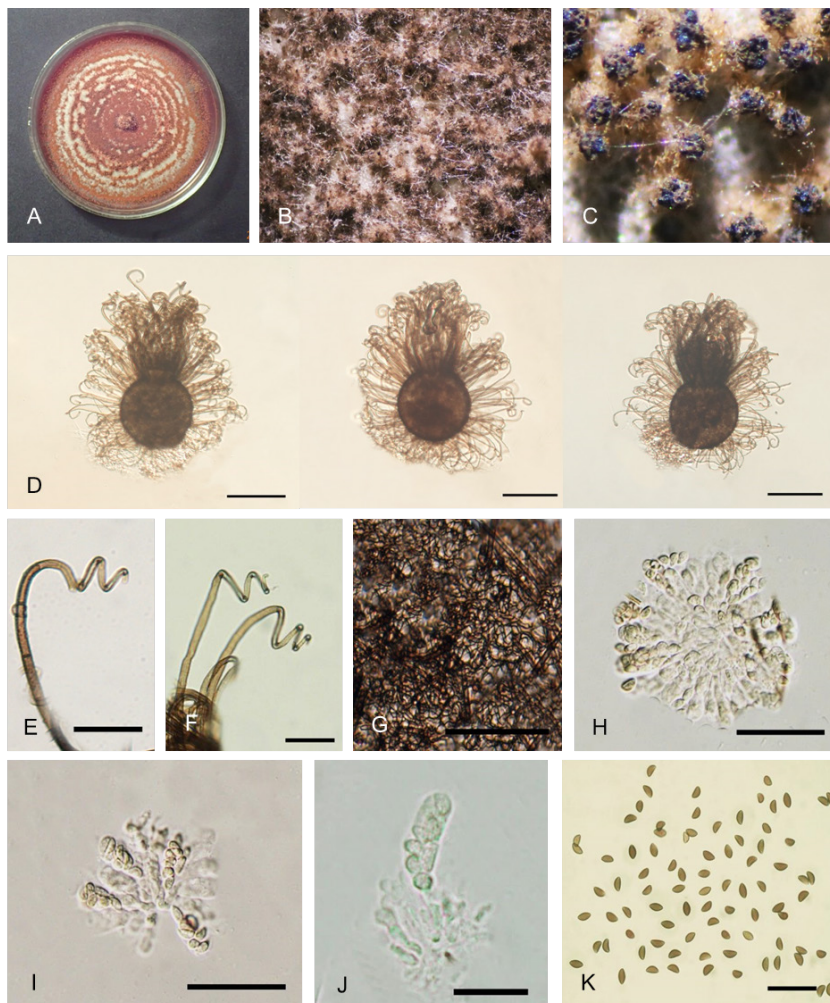


Figure 3 Morphological of *Chaetomium cupreum*; (A) colony on PDA, (B-C) ascomata on PDA, (D) perithecium (compound microscope), (E-F) ascomatal hair, (G) ascomatal wall, (H-I) asci, (J) ascus, (K) ascospores

เชื้อรา *Chaetomium aureum*

ลักษณะโคโลนีเชื้อรา *Chaetomium aureum* เมื่อเลี้ยงบนอาหาร PDA ระยะแรกมีเส้นใยสีขาว มีการสร้างเม็ดสี สีแดงอมม่วงทั่วอาหารเลี้ยงเชื้อ ลักษณะขอบของโคโลนีเรียบ เจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อภายใน 20 วัน ที่อุณหภูมิห้อง perithecium รูปร่างกลมรีหรือรูปไข่ สีแดงเข้มถึงสีน้ำตาลเข้ม ขนาด $78-106 \times 50-72 \mu\text{m}$ พบ ostiolate ขนของ terminal hairs มีสีน้ำตาลแดงโค้งที่ปลาย lateral hairs มีสีเหลืองมะกอก มีความโค้งงอเล็กน้อย ascomatal hair มีสีน้ำตาลแดง หรือสีน้ำตาลเข้ม และมีรูปร่างคล้ายคันศรมีปลายม้วนงอ และขาด

ตัวกันเป็นเกลียว มีผนังกันเซลล์ ascomatal wall เรียงตัวแบบ angularis asci มีรูปร่างคล้ายกระบอง ผิวบาง ขนาด $25.1-33.3 \times 8-10.5 \mu\text{m}$ ภายในประกอบด้วย 8 ascospores/ascus ascospores มีสีน้ำตาลขนาดเล็กมีรูปร่างคล้ายไต คล้ายเรียวหรือคล้ายผลมะนาว ขนาด $(28.22-31.56-38.96(-43.63) \times (47.40-49.95-62.36(-67.53) \mu\text{m}$ (Figure 4) มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาใกล้เคียงกับเชื้อรา *Chaetomium aureum* ที่มีรายงานไว้โดย Chivers (1912), Skolko et al. (1953) และ Von Arx et al. (1986)

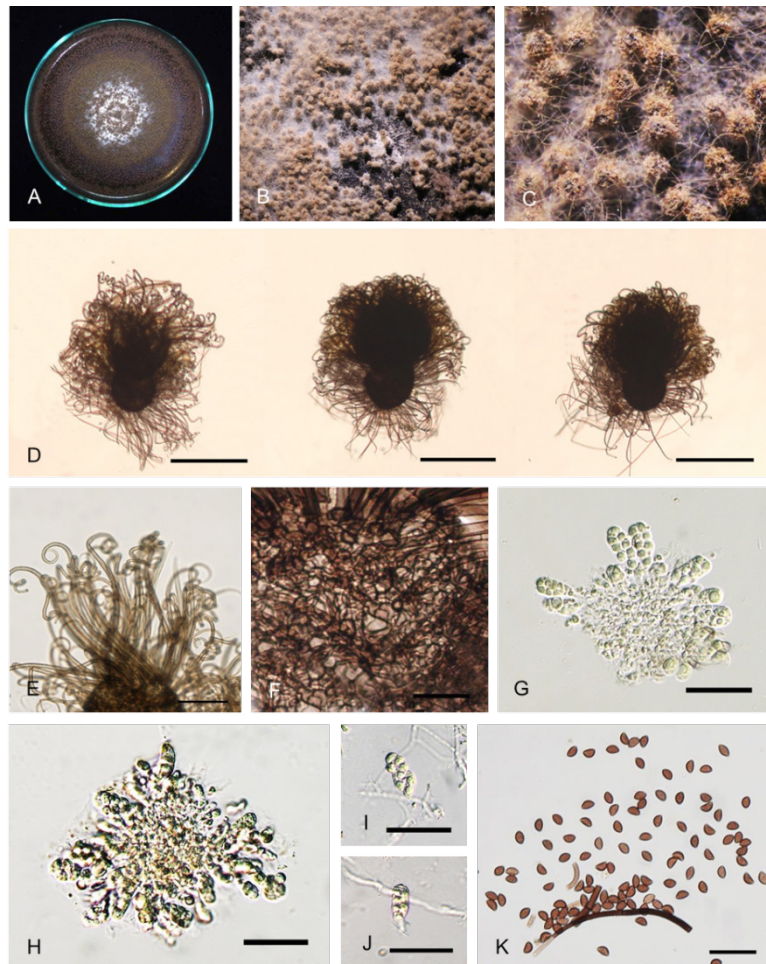


Figure 4 Morphological of *Chaetomium aureum*; (A) colony on PDA, (B-C) ascomata on PDA, (D) perithecium (compound microscope), (E) ascomatal hair, (F) ascomatal wall, (G-H) asci, (I-J) ascus, (K) ascospores

เชื้อรา *Chaetomium brasiliense*

ลักษณะโคโลนีเชื้อรา *Chaetomium brasiliense* เมื่อเลี้ยงบนอาหาร PDA มีเส้นใยสีขาวฟู หนาแน่น ต่อมาเป็นสีเทาถึงเทาเข้ม ไม่มีการสร้างเม็ดสี ลักษณะขอบของโคโลนีเรียบ เจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อราภายใน 20 วัน ที่อุณหภูมิห้อง (27-30 องศาเซลเซียส) perithecium มีรูปร่างทรงกลม สีเทาเข้มถึงสีดำ ขนาด $85-135 \times 75-110 \mu\text{m}$ พบ ostiolate ascomatal hair มีสีเทาเข้ม ปลายขนม้วนงอคล้ายสปริง มีผนังกันเซลล์ ascomatal

wall สีน้ำตาลเข้ม เรียงตัวแบบ angularis asci มีรูปร่างทรงกระบอก ขนาด $35.6-48.5 \times 5.6-7.1 \mu\text{m}$ ภายในประกอบด้วย 8 ascospores/ascus ascospores มีสีน้ำตาล รูปร่างกลมขนาด $(21.17-27.44-40.22(-42.41) \times (37.08-38.16-45.86(-50.55) \mu\text{m}$ (Figure 5) มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาใกล้เคียงกับเชื้อรา *Chaetomium brasiliense* ที่มีรายงานไว้โดย Ames (1963) และ Wang et al. (2016)

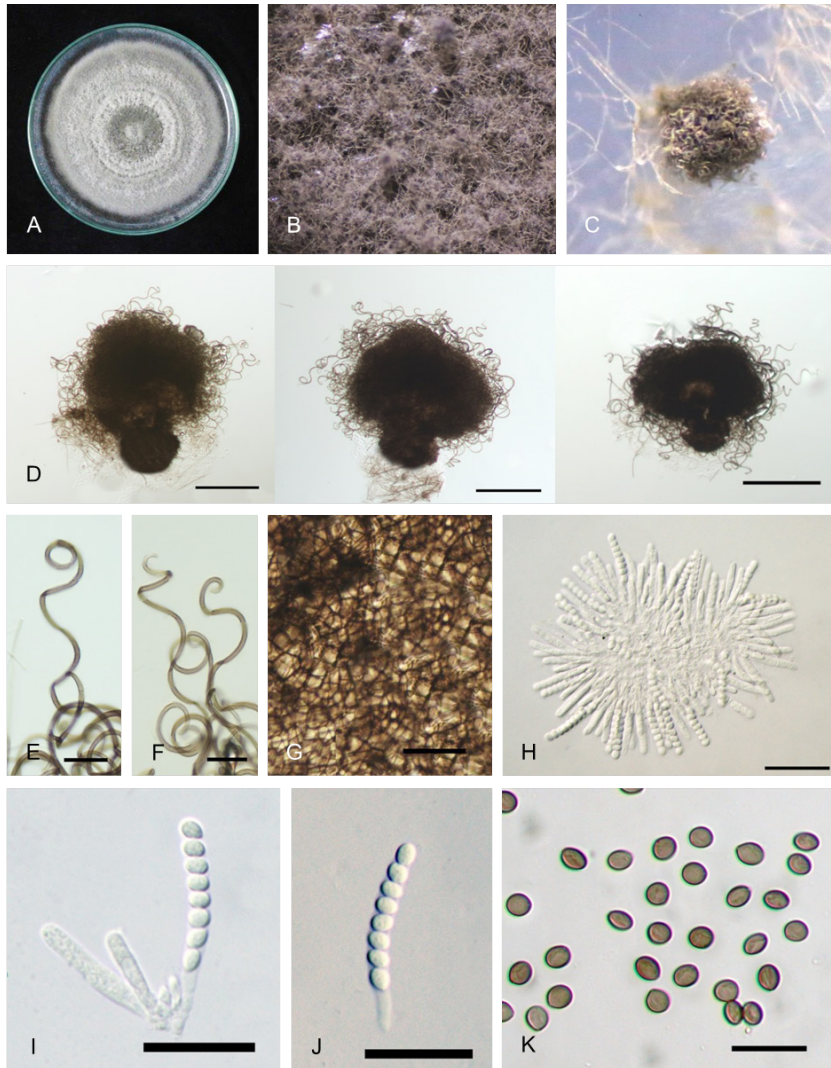


Figure 5 Morphological of *Chaetomium brasiliense*; (A) colony on PDA, (B-C) ascomata on PDA, (D) perithecium (compound microscope) , (E-F) ascomatal hair, (G) ascomatal wall, (H-I) asci,, (J) ascus, (K) ascospores

Table 1 Morphology of *Chaetomium* spp. isolated from rice straw, husk, coffee shell, palm leaves, hay and soil in Northern Thailand

Isolate number	Fungal species	Ascomata shape	Asci shape	Ascospores size (μm)	Ascospores shape	Colony color
MCRC-001	<i>Chaetomium globosum</i>	globose or oval	fusiform or clavate	(34.92-38.72-50.51(-57.43) × (52.44-55.22-70.64(-73.36)	lemon shape	greenish
MCRC-002	<i>Chaetomium globosum</i>	globose or oval	fusiform or clavate	(34.08-37.75-51.04(-55.43) × (52.91-56.05-71.43(-74.60)	lemon shape	greenish
MCRC-003	<i>Chaetomium globosum</i>	globose or oval	fusiform or clavate	(33.96-36.40-50.29(-53.56) × (51.81-53.56-70.81(-73.30)	lemon shape	greenish
MCRC-004	<i>Chaetomium globosum</i>	globose or oval	fusiform or clavate	(33.46-36.83-51.60(-56.88) × (52.35-56.28-70.56(-74.13)	lemon shape	greenish
MCRC-005	<i>Chaetomium globosum</i>	globose or oval	fusiform or clavate	(33.43-37.08-51.96(-57.43) × (51.66-57.51-71.49(-73.87)	lemon shape	greenish
MCRC-006	<i>Chaetomium globosum</i>	globose or oval	fusiform or clavate	(32.81-37.42-51.81(-56.99) × (52.14-56.99-69.40(-70.53)	lemon shape	greenish
MCRC-007	<i>Chaetomium globosum</i>	globose or oval	fusiform or clavate	(32.52-38.16-52.73(-59.50) × (53.73-57.84-72.98(-74.72)	lemon shape	greenish
MCRC-008	<i>Chaetomium cupreum</i>	oval shape	club-shaped	(25.07-28.44-37.42(-41.52) × (47.66-55.39-66.42(-74.08)	boat shaped	copper
MCRC-009	<i>Chaetomium globosum</i>	globose or oval	fusiform or clavate	(32.43-37.42-50.90(-58.45) × (55.10-58.97-70.08(-73.39)	lemon shape	greenish
MCRC-010	<i>Chaetomium globosum</i>	globose or oval	fusiform or clavate	(33.28-37.08-51.33(-59.29) × (58.23-60.33-71.42(-74.65)	lemon shape	greenish
MCRC-011	<i>Chaetomium brasiliense</i>	oval shape	cylindrical	(21.17-27.44-40.22(-42.41) × (37.08-38.16-45.86(-50.55)	ovate shaped	dark grey
MCRC-012	<i>Chaetomium globosum</i>	globose or oval	fusiform or clavate	(33.92-38.04-52.60(-59.97) × (54.98-60.90-70.96(-73.72)	lemon shape	greenish
MCRC-013	<i>Chaetomium globosum</i>	globose or oval	fusiform or clavate	(34.93-38.77-51.61(-58.44) × (53.01-56.21-70.60(-73.34)	lemon shape	greenish
MCRC-014	<i>Chaetomium brasiliense</i>	oval shape	cylindrical	(22.86-30.03-41.52(-43.38) × (37.16-39.98-45.99(-51.96)	ovate shaped	dark grey
MCRC-015	<i>Chaetomium globosum</i>	globose or oval	fusiform or clavate	(33.95-38.33-50.86(-57.49) × (52.75-56.24-70.77(-73.30)	lemon shape	greenish

Table 1 Morphology of *Chaetomium* spp. isolated from rice straw, husk, coffee shell, palm leaves, hay and soil in Northern Thailand (Cont.)

Isolate number	Fungal species	Ascomata shape	Asci shape	Ascospores size (μm)	Ascospores shape	Colony color
MCRC-016	<i>Chaetomium brasiliense</i>	oval shape	cylindrical	(21.54-)30.35-42.41(-43.30) \times (36.98-)39.98-45.18(-50.30)	ovate shaped	dark grey
MCRC-017	<i>Chaetomium globosum</i>	globose or oval	fusiform or clavate	(33.80-)37.96-51.12(-56.25) \times (51.48-)55.10-71.38(-74.06)	lemon shape	greenish
MCRC-018	<i>Chaetomium globosum</i>	globose or oval	fusiform or clavate	(32.89-)37.48-50.86(-55.30) \times (54.42-)56.44-70.97(-73.65)	lemon shape	greenish
MCRC-019	<i>Chaetomium aureum</i>	flask or oval	club-shaped	(28.22-)31.56-38.96(-43.63) \times (47.40-)49.95-62.36(-67.53)	boat or kidney	olive-green
MCRC-020	<i>Chaetomium brasiliense</i>	oval shape	cylindrical	(20.98-)28.54-39.43(-41.52) \times (36.86-)40.03-45.79(-50.08)	ovate shaped	dark grey
MCRC-021	<i>Chaetomium atrobrunneum</i>	spherical to oval	clavate or fusiform	(28.44-)30.35-39.44(-42.93) \times (51.61-)57.58-71.47(-78.88)	fusiform	dark grey
MCRC-022	<i>Chaetomium atrobrunneum</i>	spherical to oval	clavate or fusiform	(27.96-)30.44-40.33(-43.08) \times (50.63-)57.43-70.56(-77.49)	fusiform	dark grey
MCRC-023	<i>Chaetomium atrobrunneum</i>	spherical to oval	clavate or fusiform	(28.30-)31.25-40.91(-43.52) \times (52.43-)59.13-71.88(-79.04)	fusiform	dark grey
MCRC-024	<i>Chaetomium cupreum</i>	oval shape	club-shaped	(26.52-)30.03-37.49(-42.64) \times (48.50-)56.44-67.12(-74.96)	boat shaped	copper
MCRC-025	<i>Chaetomium brasiliense</i>	oval shape	cylindrical	(22.36-)31.55-42.41(-43.29) \times (37.42-)39.98-45.62(-51.88)	ovate shaped	dark grey
MCRC-026	<i>Chaetomium atrobrunneum</i>	spherical to oval	clavate or fusiform	(29.44-)31.26-41.12(-43.29) \times (51.06-)57.48-70.90(-78.94)	fusiform	dark grey
MCRC-027	<i>Chaetomium atrobrunneum</i>	spherical to oval	clavate or fusiform	(28.36-)31.55-40.44(-42.96) \times (51.28-)59.29-71.58(-79.01)	fusiform	dark grey
MCRC-028	<i>Chaetomium globosum</i>	globose or oval	fusiform or clavate	(34.65-)38.08-50.55(-57.38) \times (51.90-)56.44-67.39(-74.33)	lemon shape	greenish

การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ internal transcribed spacer region (ITS) rDNA

จากการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ ITS rDNA ของเชื้อรา *Chaetomium* โดยใช้ไพรเมอร์ ITS5 และ ITS4 สามารถจัดกลุ่มได้เป็น 5 กลุ่ม (Figure 6) มีขนาดชิ้นส่วนของดีเอ็นเอประมาณ 600 คู่เบส เมื่อนำข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้มาวิเคราะห์ร่วมกับข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์จากฐานข้อมูล NCBI โดยกลุ่มที่ 1 มีทั้งหมด 15 ไอโซเลท ประกอบด้วย MCRC-001, MCRC-002, MCRC-003, MCRC-004, MCRC-005, MCRC-006, MCRC-007, MCRC-009, MCRC-010, MCRC-012, MCRC-013, MCRC-015, MCRC-017, MCRC-018 และ MCRC-028 ซึ่งจัดเป็นกลุ่มเดียวกับเชื้อรา *C. globosum* จากฐานข้อมูล NCBI จำนวน 4 ไอโซเลท ได้แก่ เชื้อรา *C. globosum* ไอโซเลท CBS 666.82, MG664777, KM030576 และ KY078824 โดยมีค่าความเชื่อมั่นในการจัดกลุ่ม 100% สำหรับกลุ่มที่ 2 มีทั้งหมด 5 ไอโซเลท ประกอบด้วย MCRC-021, MCRC-022, MCRC-023, MCRC-026 และ MCRC-027 ซึ่งจัดเป็นกลุ่มเดียวกับเชื้อรา *C. atrobrunneum* จากฐานข้อมูล NCBI จำนวน 3 ไอโซเลท คือ เชื้อรา *C. atrobrunneum* ไอโซเลท CBS 379.66, GU966500 และ AB746177 โดยมีค่าความเชื่อมั่นในการจัดกลุ่ม 100% กลุ่มที่ 3 มีทั้งหมด 2 ไอโซเลท

ประกอบด้วย MCRC-008 และ MCRC-024 ซึ่งจัดเป็นกลุ่มเดียวกับเชื้อรา *C. cupreum* จากฐานข้อมูล NCBI จำนวน 2 ไอโซเลท ได้แก่ เชื้อรา *C. cupreum* ไอโซเลท CBS 560.80 และ KF601371 โดยมีค่าความเชื่อมั่นในการจัดกลุ่ม 99% กลุ่มที่ 4 มีทั้งหมด 1 ไอโซเลท ประกอบด้วย MCRC-019 ซึ่งจัดเป็นกลุ่มเดียวกับเชื้อรา *C. aureum* จากฐานข้อมูล NCBI จำนวน 1 ไอโซเลท ได้แก่ CBS 153.52 โดยมีค่าความเชื่อมั่นในการจัดกลุ่ม 91% กลุ่มที่ 5 มีทั้งหมด 5 ไอโซเลท ประกอบด้วย MCRC-011, MCRC-014, MCRC-016, MCRC-020 และ MCRC-025 ซึ่งจัดเป็นกลุ่มเดียวกับเชื้อรา *C. brasiliense* จากฐานข้อมูล NCBI จำนวน 4 ไอโซเลท ได้แก่ เชื้อรา *C. brasiliense* ไอโซเลท CBS 130174, KT357687, JX966545 และ KX146504 มีค่าความเชื่อมั่นในการจัดกลุ่ม 100% โดยมีเชื้อรา *Corynascella humicola* (CBS 337.72) เป็น out group สอดคล้องกับการรายงานของ White et al. (1990) ได้จำแนกเชื้อรา Chaetomiaceae จากการเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอบริเวณ ITS rDNA ด้วยไพรเมอร์ ITS5 และ ITS4 จากการศึกษาของ Tamura et al. (2004) ได้จัดจำแนกเชื้อราโดยใช้โปรแกรม The neighbor-joining tree (NJ) และ maximum parsimony (MP)

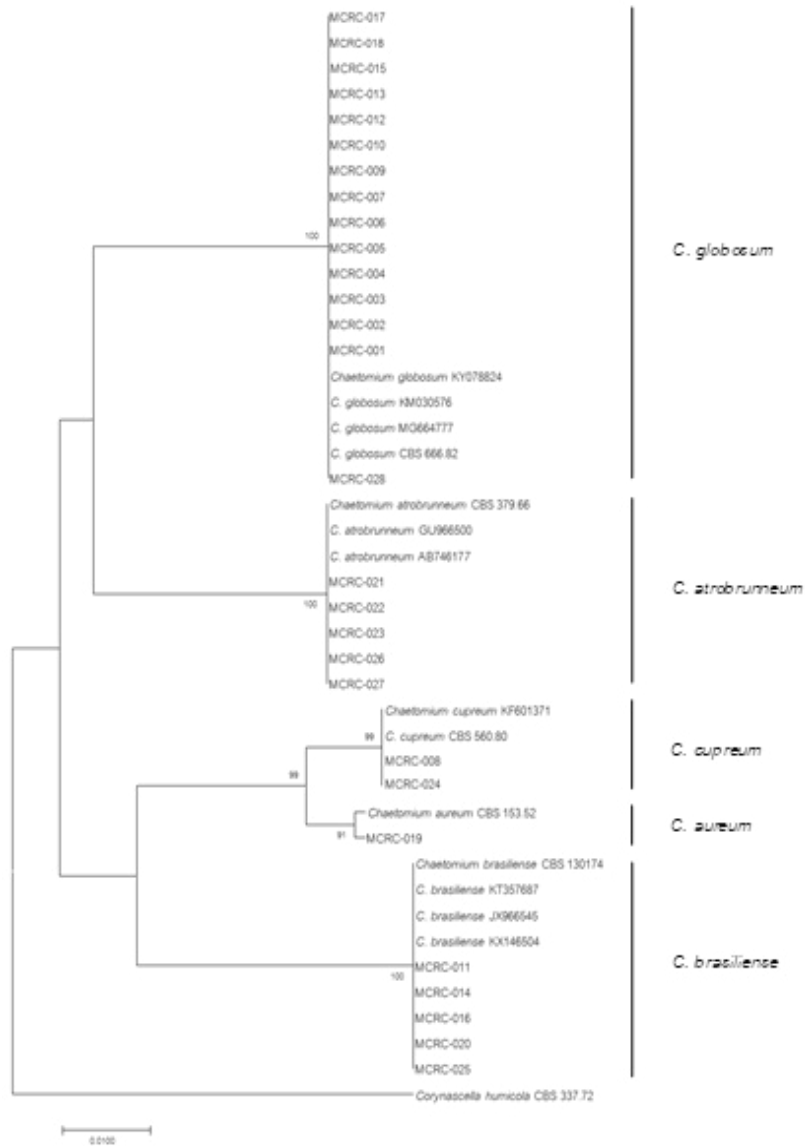


Figure 6 The neighbor-joining tree obtained from ITS rDNA nucleotide sequence *Chaetomium* spp. isolates comparing from NCBI databases. Bootstrap values are indicated on the branches (1000 replications)

การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *Chaetium* spp. ในการควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียนที่เกิดจากเชื้อรา *Phytophthora palmivora* โดยวิธี dual culture

ทำการส่มเชื้อราปฏิปักษ์ *Chaetomium* spp. จำนวน 5 ไอโซเลท ที่มีการเจริญได้ดีที่สุดในแต่ละกลุ่ม นำมาควบคุมเชื้อรา *P. palmivora* โดยวิธี dual culture บนอาหาร PDA เป็นเวลา 1 วัน พบว่าเชื้อราปฏิปักษ์ *Chaetomium* spp. ไอโซเลท MCRC-019 สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยของเชื้อรา *P. palmivora* บนอาหารเลี้ยงเชื้อได้ 99.41 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ ไอโซเลท MCRC-008, MCRC-020, MCRC-013 และ MCRC-021 สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *P. palmivora* บนอาหารเลี้ยงเชื้อได้ 53.09 51.62 40.59 และ 32.50 เปอร์เซ็นต์

ตามลำดับ (Table 2, Figure 7) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Hung et al. (2015) ได้ศึกษาการยับยั้งเชื้อรา *P. palmivora* สาเหตุโรครากเน่าของส้มโอโดยใช้เชื้อรา *Chaetomium* spp. พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของราสาเหตุโรคพืชได้ และมีกลไกการพดริ่งและแทงเข้าเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคพืช และยังสามารถสร้างสารปฏิชีวนะเพื่อยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืชได้ นอกจากนี้ยังสอดคล้องกับการศึกษาของ อัมพล และคณะ (2562) ได้ทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *Chaetomium* spp. ในการควบคุมเชื้อรา *P. palmivora* สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียนโดยวิธี dual culture และการใช้สารสกัดหยาบจากเชื้อรา *Chaetomium* spp. พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยและทำลาย chlamydospore ของเชื้อรา *P. palmivora* ได้

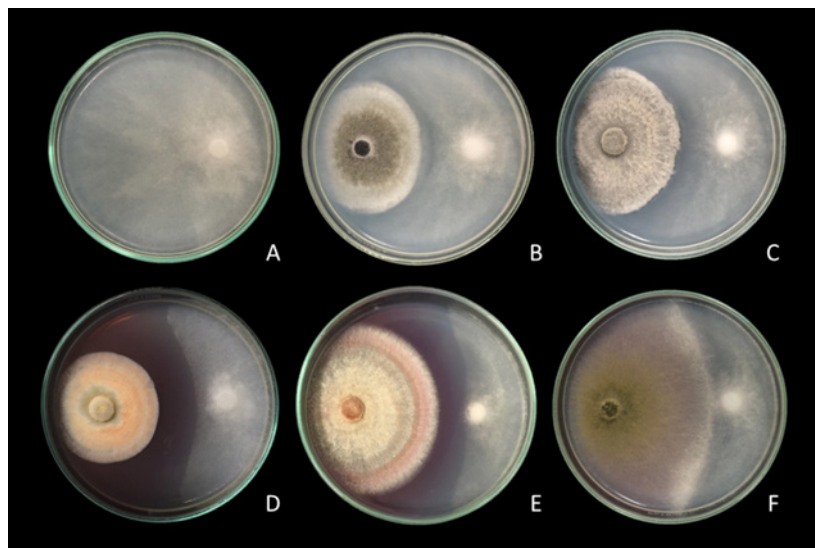


Figure 7 Growth of *Phytophthora palmivora* in dual culture assays with antagonistic fungal *Chaetomium* spp. on PDA at 1 day after inoculation (DAI) A: control, B: MCRC-021, C: MCRC-020, D: MCRC-019, E: MCRC-008, F: MCRC-013

Table 2 Growth inhibition of *Phytophthora palmivora* in dual culture assays with antagonistic fungal *Chaetomium* spp. on PDA at 1 day after inoculation (DAI)

Isolates	Dual culture ¹	
	Radial growth (cm)	% inhibition
MCRC-021	2.28 a ²	32.50 d
MCRC-020	1.63 c	51.62 b
MCRC-019	0.00 d	99.41 a
MCRC-008	1.58 c	53.09 b
MCRC-013	2.00 b	40.59 c
LSD (0.05)	0.19	5.64
%CV	8.50	6.75

¹ Average from 4 replicates for each isolate² Means within the same column followed by the same letter are not significantly different at the 0.05 level by LSD test

สรุปผลการทดลอง

ผลจากการแยกเชื้อรา *Chaetomium* spp. จากวัสดุการเกษตรต่างๆ ได้แก่ ดิน แกลบดิบ ฟางข้าว กะลาตากแห้ง หญ้าแห้ง และใบปาล์ม ในพื้นที่จังหวัดเชียงใหม่ แพร่ อุตรดิตถ์ ลำพูน และปทุมธานี พบว่าแยกเชื้อรา *Chaetomium* spp. ได้จำนวน 28 ไอโซเลท เมื่อนำมาศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา ร่วมกับการวิเคราะห์ลำดับเบสบริเวณตำแหน่ง ITS rDNA เปรียบเทียบกับฐานข้อมูล Genbank พบว่าสามารถจำแนกเชื้อราเหล่านี้ออกเป็น 5 กลุ่ม คือ *C. globosum*, *C. atrobrunneum*, *C. brasiliense*, *C. aureum* และ *C. cupreum* ตามลำดับ เมื่อทำการส่งเชื้อรา *Chaetomium* แต่ละกลุ่ม นำมาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *P. palmivora* สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่า

ที่เรียนด้วยวิธี dual culture พบว่าเชื้อรา *C. aureum* ไอโซเลท MCRC-019, *C. cupreum* ไอโซเลท MCRC-008, *C. brasiliense* ไอโซเลท MCRC-020, *C. globosum* ไอโซเลท MCRC-013 และ *C. atrobrunneum* ไอโซเลท MCRC-021 มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 99.41 53.09 51.62 40.59 และ 32.50 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ซึ่งแสดงให้เห็นถึงศักยภาพที่จะนำเชื้อรา *Chaetomium* spp. มาประยุกต์ใช้ในการควบคุมโรคพืชที่เกิดจากเชื้อรา *Phytophthora* spp. ได้

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ในการสนับสนุนทุนวิจัยบางส่วนในการศึกษาในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

- ชวาลา บุรณศิริ. 2531. โรคของพืชสวน. คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพฯ.
- อำพล พรหมเมศร์ ตรีญญาวัลยะเสวี ทัทยา อรุโณทยานันท์ โรเบิร์ต เจมส์ แมกกอเฟเวิน รัชดาวรรณ ชีวังกูร และชัยวัฒน์ โตอนันต์. 2562. ประสิทธิภาพของราปฏิบิักษ์ *Chaetomium* spp. ต่อ *Phytophthora palmivora* (P-50) สาเหตุโรครากและโคนเน่าทุเรียน. เกษตร 47: 1251-1264.
- Amadioha, A. C. 2000. Controlling Rice Blast in Vitro and in Vivo with Extracts of *Azadirachta indica*. Journal of Crop Protection. 19: 287-290.
- Brewer, D., W. A. Jerram, and A. Taylor. 1968. The production of cochliodinol and a related metabolite by *Chaetomium* species. Canadian Journal of Microbiology. 14: 861-866.
- Felsenstein, J. 1985. Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap. Evolution. 39: 783-791.
- Hung, M. P., Pongnak, W., Soyong, K. and S. Poaim. 2015. Biological control of *Phytophthora palmivora* causing root rot of pomelo using *Chaetomium* spp. Mycobiology 43: 63-70.
- Kirk, P. M., P. F. Cannon, D. W. Minter and J. A. Stalpers. 2008. Dictionary of the Fungi. 10 th Edition. CAB International, Wallingford, UK.
- Kunze. G. and J. K. Schmidt. 1817. Chaetomium. Mykologische Hefte nebst einem allgemein-botanischen Anzeiger, Leipzig. 1-2:15.
- Maheswari, C. U., N. Mathur, P. Nallathambi and P. T. Devi. 2013. Comparative morphology and taxonomy of the genus *Chaetomium* Kunze and its species. J Mycol Plant Pathol. 43: 67-71.
- Petcharat, V. and Soyong, K. 1991. *Chaetomium* in soil under para rubber. Songklanakarin Journal of Science and Technology 13: 129-132.
- Saitou, N. and M. Nei. 1987. The neighborjoining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. Mol. Bio. and Evo. 4: 406-425.
- Somrithipol, S. 2004. Coprophilous fungi. In: Thai fungal diversity (eds. E.B.G. Jones, M. Tanticharoen and K.D. Hyde). BIOTEC, Thailand. 119-128.
- Soyong, K. and T. H. Quimio. 1989a. A taxonomic study on the Philippines species of *Chaetomium*. The Philippine Agriculturist. 72: 59-72.
- Sudhir, K., G. Stecher and K. Tamura. 2016. MEGA7: molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. Mol. Bio. Evol. 33: 1870-1874.
- Tamura K, M Nei and S. Kumar. 2004. Prospects for inferring very large phylogenies by using the neighbor-joining method. Proc Natl Acad Sci U S A. 101: 11030-11035.
- Von Arx, J. .A., J. Guarro and M. J. Figueras. 1986. The ascomycete genus *Chaetomium*. Beihefte zur Nova Hedwigia. 84: 1-162.
- Wabster, J. and R. Weber. 2007. Introduction to Fungi. Cambridge University Press, UK. 841 p.

- Weising, K., H. Nybom, K. Wolff and W. Meyer. 2000. DNA fingerprinting in plants and fungi. CRC Press. 322 p.
- White, T. J., T. Bruns, S. Lee and J. W. Taylor. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, White TJ, eds. PCR protocols: a guide to methods and applications. New York: Academic Press Inc. p. 315-322.
- White, T. J., T. Bruns, S. Lee and J. W. Taylor. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, White TJ, eds. PCR protocols: a guide to methods and applications. New York: Academic Press Inc. p. 315-322.
- Zimand, G., L. Valinsky, Y. Elad, I. Chet and S. Manulis. 1994. Use of the RAPD procedure for the identification of *Trichoderma* strains. Myco. Res. 98: 531-534.