KHON KAEN AGR. J. 48 (3): 651-660 (2020)./doi:10.14456/kaj.2020.60.

ประสิทธิภาพของเชื้อราสกุล *Chaetomium* ในการควบคุมโรครากเน่าของส้มเขียวหวาน

Efficiency of *Chaetomium* in Controlling Citrus Root Rot

สุณิสา ชมชิด[1], โรเบิร์ต เจมส์ แมกกอฟเว่น[1], รัชดาวรรณ ชีวังกูร[1] และ ชัยวัฒน์ โตอนันต์[1*]

Sunisa Chomchid[1], Robert J. McGovern[1], Ratchadawan Cheewankoon[1], and Chaiwat To-anun[1*]

บทคัดย่อ: แยกเชื้อราไฟทอฟธอรา (*Phytophthora* spp.) สาเหตุโรครากเน่าจากดินที่เก็บจากบริเวณรากส้มที่แสดงอาการของโรค ในพื้นที่จังหวัดเชียงใหม่ จำนวน 25 ไอโซเลท และนำมาทำการทดสอบความสามารถในการเกิดโรคบนใบส้มโดยการปลูกเชื้อบนใบส้มด้วยชิ้นเชื้อสาเหตุโรคโดยวิธี Detached leaf พบ เชื้อราไฟทอฟธอราที่มีความสามารถในการทำให้เกิดโรคบนใบส้มในระดับที่รุนแรง 3 ไอโซเลท ได้แก่ YY002 WF185 และ PS85 จากนั้นทดสอบความต้านทานของเชื้อราไฟทอฟธอราต่อสารป้องกันกำจัดเชื้อราเมทาแลกซิล พบว่า ที่ระดับความเข้มข้น 250 ppm ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราไฟทอฟธอราไอโซเลท YY002 เมื่อศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาพบว่า เชื้อราไฟทอฟธอรา มีลักษณะที่ตรงกับเชื้อรา *Phytophthora parasitica* ทำการแยกเชื้อราปฏิปักษ์คีโตเมียม (*Chaetomium* spp.) จากตัวอย่างดินและวัสดุทางการเกษตร ได้ 25 ไอโซเลท และศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อราคีโตเมียมในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าของส้ม ด้วยวิธี Dual culture บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA พบว่า เชื้อราคีโตเมียมไอโซเลท HT1 มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *P. parasitica* ไอโซเลท YY002 ได้ดีที่สุด คือ 64.56 เปอร์เซ็นต์ ส่วนการศึกษาสารสกัดจากเชื้อราคีโตเมียมไอโซเลท HT1 พบว่า สารสกัดหยาบที่สกัดด้วยเอทิล อะซิเตท ระดับความเข้มข้น 1,000 ppm สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตและการสร้าง chlamydospore ของเชื้อราสาเหตุโรคได้สูงที่สุดโดยมีค่า ED_{50} ของการยับยั้งการเจริญเติบโตเท่ากับ 12.65 ppm และมีค่า ED_{50} ของการยับยั้งการสร้าง chlamydospore เท่ากับ 38.28 ppm

คำสำคัญ: เชื้อราไฟทอฟธอรา เชื้อราคีโตเมียม โรครากเน่าของส้ม

ABSTRACT: Twenty-five isolates of *Phytophthora* spp. were isolated from the rhizosphere soil of citrus diseased plants in Chiang Mai. The pathogenicity of all isolates was tested by inoculating the fungal isolates on the citrus leaves with culture disc of each isolate, using detached leaf technique. It was found that three isolates, of the *Phytophthora* e.g. YY002, WF185 and PS85, were the most virulent isolates who gave highest disease severity. The fungicide resistant test of the three isolates of *Phytophthora* with metalaxyl showed that the isolate YY002 resisted to metalaxyl at concentration of 250 ppm. The morphological study of this *Phytophthora* indicated that it has similar characteristics to *Phytophthora parasitica*. The effectiveness of *Chaetomium* for control of citrus root-rot disease was studied. A total of 25 *Chaetomium* isolates were isolated from soil and agricultural materials. The efficacy of the antagonists to control the pathogenic fungus was tested, using dual culture technique on PDA.

Received August 6, 2019

Accepted December 17, 2019

[1] ภาควิชากีฏวิทยาและโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เชียงใหม่ 50200

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

[*] Corresponding author: chaiwat.toanun@gmail.com

Result showed that the *Chaetomium* isolates HT1 could inhibit growth of the isolate *Phytophthora* YY002 at 64.56%. The similar test on the EtOAc crude extract of *Chaetomium* isolate HT1 at 1,000 ppm. showed highest growth inhibition and chlamydospore production of the pathogen; having ED_{50} of growth inhibition at 12.65 ppm. and ED_{50} of chlamydospore production at 38.28 ppm.
Keywords: *Phytophthora*, *Chaetomium*, citrus root rot

บทนำ

ส้มเป็นพืชสำคัญทางเศรษฐกิจของไทยที่มีการบริโภคภายในประเทศ และส่งออกไปยังประเทศต่างๆ โดยส้มที่ได้รับความนิยมสูงที่สุดทั้งภายในประเทศและประเทศเพื่อนบ้านคือ ส้มเขียวหวาน ซึ่งมีการปลูกมากที่สุดที่จังหวัดเชียงใหม่ สุโขทัย แพร่ กำแพงเพชร และเชียงราย ตามลำดับ ช่วงเก็บเกี่ยวผลผลิตมากที่สุดอยู่ในช่วงเดือนพฤศจิกายนถึงเดือนกุมภาพันธ์ของทุกปี (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2560) ในปี 2549-2559 พบว่า พื้นที่การปลูกส้มในประเทศไทยลดลงจาก 149,206 ไร่ เหลือพื้นที่ปลูกส้ม 90,085 ไร่ (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2560) อย่างไรก็ตามปัจจัยที่ส่งผลกระทบต่อปริมาณผลผลิตของส้มเขียวหวานของประเทศไทยคือการเกิดโรคในส้มเขียวหวานโดยโรคสำคัญในการปลูกส้มเขียวหวานมีหลายโรค โรคที่สำคัญหนึ่งในนั้นคือโรครากเน่าของส้ม ซึ่งเกิดจากเชื้อรา *Phytophthora parasitica* ซึ่งเป็นโรคระบาดรุนแรง นอกจากนี้ยังพบเชื้อ *Pythium* sp. ที่สามารถก่อให้เกิดโรครากเน่าได้ โดยเชื้อทั้งสองชนิดสามารถเข้าทำลายร่วมกันได้ เนื่องจากเชื้อสาเหตุทั้งสองชนิดอยู่ในดินและน้ำ สามารถแพร่ระบาดได้อย่างกว้างขวาง ลักษณะอาการของพืชที่ได้รับเชื้อนี้ ใบจะเหลืองลู่ลงและร่วง กิ่งบริเวณที่แสดงอาการของโรคเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลและแห้งตายในที่สุด เมื่อเกิดอาการโคนเน่ารอบลำต้นจะทำให้เกิดอาการแห้งตายทั้งต้นได้ (Davis, 1982) ในการควบคุมโรคเกษตรกรมักใช้สารป้องกันกำจัดเชื้อรา โดยสารป้องกันกำจัดเชื้อราที่นิยมใช้คือเมทาแลคซิล (metalaxyl) ซึ่งใช้ควบคุมเชื้อโรค เฉพาะกลุ่ม Oomycetes (อมรรัตน์, 2553) ซึ่งเมื่อใช้ในการควบคุมเป็นระยะเวลานานมากยิ่งขึ้น พบว่า เชื้อรา *Phytophthora* spp. สามารถต้านทานต่อเมทาแลคซิล เป็นผลให้เชื้อมีการดื้อยาจนไม่สามารถใช้สารป้องกันกำจัดเชื้อราเมทาแลคซิลในการควบคุมได้อีก (Bakoonyi and Ersek, 1997) และการใช้ในปริมาณที่เพิ่มมากขึ้นต่อเนื่องเป็นเวลานานทำให้ดินเสื่อมสภาพ เพราะสารดังกล่าวมีฤทธิ์ตกค้างในดินและแหล่งน้ำ ส่งผลเสียต่อสิ่งแวดล้อม ส่งผลกระทบต่อคุณภาพชีวิตเกษตรกรรวมถึงผู้บริโภค ด้วยเหตุนี้จึงมีการพิจารณาหาแนวทางการป้องกันกำจัดโรคพืชด้วยวิธีอื่น เพื่อทดแทนการใช้สารป้องกันกำจัดโรคพืช ซึ่งการควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี ด้วยการใช้เชื้อจุลินทรีย์ต่อต้าน (microbial antagonism) เป็นทางเลือกหนึ่งที่มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดโรคพืชได้ เช่น การใช้เชื้อรา *Chaetomium* spp. และสารสกัดหยาบที่ได้จากเชื้อราดังกล่าว สามารถควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืชหลายชนิดได้แก่ *Phytopthora palmivora, Pythium ultimum*, *Phomopsis sojae*, *Pyricularia oryzae*, *Sclerotium rolfsii* และ *Venturia inequalis* เป็นต้น (Pietro et al. 1992; เกษม, 2535) ดังนั้นในการทดลองครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อการคัดเลือกเชื้อรา *Chaetomium* ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อสาเหตุโรครากเน่าของส้มในห้องปฏิบัติการสำหรับนำไปพัฒนาเป็นสารชีวภัณฑ์ป้องกันกำจัดโรครากเน่าของส้มเขียวหวานต่อไป

วิธีการศึกษา

การสำรวจ และแยกเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าของส้ม

สำรวจสวนส้มในพื้นที่อำเภอฝาง แม่อาย และอำเภอไชยปราการ จังหวัดเชียงใหม่ เนื่องจากเป็นพื้นที่ปลูกส้มมากที่สุดของประเทศและพบปัญหาโรครากเน่าของส้มในระดับรุนแรง โดยเก็บตัวอย่าง และบันทึกลักษณะอาการของส้มที่แสดงอาการของโรครากเน่าโคนเน่าถ่ายภาพลักษณะอาการของโรค แยกเชื้อด้วยวิธี soil baiting Technique ซึ่งประยุกต์จากวิธีการของ Soytong et al. (1999) โดยใช้ดินที่อยู่บริเวณรอบรากของส้มที่เป็นโรครากเน่าโคนเน่า จำนวน 5 กรัม ใส่ลงในจาน

อาหารเลี้ยงเชื้อ เติมน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ปริมาตร 15 มล. นำใบส้มปลอดโรคมาฆ่าเชื้อที่ผิวใบด้วย 1% NaOCl ตัดใบส้มให้มีขนาด 1x1 ซม. จำนวน 5 ชิ้น ลอยไว้บนผิวน้ำกลั่นที่ละลายดินตัวอย่างไว้ เก็บในกล่องรักษาความชื้นเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำใบส้มออกมาซับน้ำให้แห้ง แล้วนำมาวางบนอาหารเลี้ยงเชื้อ water agar (WA) ที่ผสมสาร streptomycin 0.5 มคล. (อัตราส่วน 200 มล.: 0.5 มคล.) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นทำการแยกเชื้อราด้วยวิธี hypha tip isolation โดยตัดบริเวณปลายเส้นใยที่มีการเจริญของเชื้อราออกมา นำไปเลี้ยงบนอาหาร potato dextrose agar (PDA) บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 วันหรือจนกว่าเชื้อราจะเจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ นำเส้นใยเชื้อราบริสุทธิ์มาทำการทดลองและเก็บรักษา stock culture ไว้ที่ ภาควิชากีฏวิทยาและโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

การทดสอบความสามารถในการก่อโรค และการศึกษาความต้านทานของเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าของส้มที่มีต่อสารป้องกันกำจัดเชื้อราเมทาแลกซิล

การปลูกเชื้อเพื่อทำการทดสอบความสามารถในการเกิดโรค โดยการนำใบส้มที่มีอายุใกล้เคียงกันมาทำความสะอาดผิวใบด้วย 0.1% NaOCl เป็นเวลา 3 นาที ล้างทำความสะอาดด้วยน้ำกลั่น แล้วซับให้แห้ง ใช้เข็มเขี่ยที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วมาทำแผลบนใบ และนำ cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 มม. ตัดปลายเส้นใยของเชื้อราที่ใช้ในการทดสอบมาวางบนใบบริเวณที่ทำแผล ในส่วนของชุดควบคุมใช้ชิ้นวุ้นอาหาร PDA บ่มในกล่องควบคุมความชื้นที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ทำการประเมินความรุนแรงของโรคจากการทดสอบความสามารถในการเกิดโรค ประเมินจากขนาดแผลที่เกิดขึ้นบนพื้นที่ใบ โดยแบ่งระดับความรุนแรงออกเป็น 5 ระดับ (ดัดแปลงจากวิธีการของ Thomas et al. 1993) ดังนี้ ระดับที่ 1 เชื้อมีความรุนแรง 0-20 % ระดับที่ 2 เชื้อมีความรุนแรง 21-40 % ระดับที่ 3 เชื้อมีความรุนแรง 41-60 % ระดับที่ 4 เชื้อมีความรุนแรง 61-80 % และระดับที่ 5 เชื้อมีความรุนแรง 81-100 %

ทดสอบความต้านทานของเชื้อรา *Phytophthora* sp. ไอโซเลท YY002 ต่อสารป้องกันกำจัดเชื้อราเมทาแลกซิล บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ผสมสารป้องกันกำจัดเชื้อราเมทาแลกซิล แบ่งตามระดับความเข้มข้นของสารเมตาแลกซิล ได้แก่ความเข้มข้น 0 250 500 และ 1,000 ppm เตรียมอาหาร PDA ที่มีส่วนผสมของเมทาแลกซิลแต่ละความเข้มข้นดังกล่าว แล้วย้ายเชื้อรา *Phytophthora* sp. ไอโซเลท YY002 มาวางกลางจานอาหารเลี้ยงเชื้อ หลังจากนั้นบ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้อง เก็บผลการทดลองสองวิธีได้แก่การวัดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีหน่วยเป็นมิลลิเมตร และการนับ chlamydospores ด้วย haemacytometer

การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อสาเหตุโรค

ศึกษาลักษณะเชื้อรา *Phytophthora* sp. สาเหตุของโรครากเน่าโคนเน่าในส้ม แยกได้จากตัวอย่างดินบริเวณรอบรากส้มที่เน่าเปื่อย ซึ่งมีสามารถก่อโรคได้รุนแรงที่สุด โดยนำเชื้อที่ได้มาเลี้ยงบนอาหาร PDA บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 3 วัน สังเกตการเจริญเติบโตของเชื้อรา ลักษณะโคโลนี ลักษณะของเส้นใย ลักษณะของ sporangium, oospores และ chlamydospores วัดขนาดภายใต้กล้องจุลทรรศน์ และจัดจำแนกลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อราตามวิธีของของ Waterhouse (1963)

การศึกษาเชื้อรา *Chaetomium* spp.

นำตัวอย่างดิน 15 กรัม มาใส่ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ แล้วเติมน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้วลงบนดินปริมาตร 5 มล. ต่อจาน ใช้ฟางข้าวและกระดาษกรองที่ตัดเป็นชิ้นซึ่งผ่านการฆ่าเชื้อแล้วใส่ลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยวางฟางข้าวเป็นแนวนอนขนานไปกับดิน ในส่วนของกระดาษกรองให้วางทำมุม 45 องศากับดินบ่มทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลาอย่างน้อย 2 สัปดาห์ เมื่อมีโครงสร้างของเชื้อราเจริญขึ้นบนฟางข้าวหรือกระดาษกรองซึ่งคาดว่าจะเป็นเชื้อรา *Chaetomium* spp. ทำการแยกเชื้อรา *Chaetomium* spp.บริสุทธิ์ด้วยเทคนิค single spore isolation โดยการนำโครงสร้างของเชื้อรา *Chaetomium* spp. มาใส่ในน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ บดให้แตกเพื่อให้สปอร์ไหลออกมา จากนั้นนำสปอร์ที่แขวนลอยในน้ำมาทำการ streak ลงบนอาหาร WA บ่มทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ตัดปลายเส้นใยที่งอกจากสปอร์ที่ขึ้นตามรอย streak เท่านั้น เมื่อตัดเส้นใยที่งอกจากสปอร์ได้แล้วให้ย้ายมาเลี้ยงลงบนอาหาร PDA จากนั้นบ่มทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องจากนั้นนำเชื้อรา *Chaetomium* spp. มาเลี้ยงเพิ่มปริมาณบนอาหาร PDA บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 20 วัน ทำสไลด์ตรวจดูลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อด้วยกล้องจุลทรรศน์

การทดสอบการยับยั้งเชื้อรา *Phytophthora parasitica* YY002

นำเชื้อรา *Chaetomium* spp. ในอาหาร PDA เป็นเวลา 15 วัน ใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 มม. ตัดปลายเส้นใยเชื้อรา *Chaetomium* sp. บนอาหาร PDA ย้ายชิ้นเชื้อวุ้นดังกล่าววางลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA โดยวางค่อนไปทางด้านใดด้านหนึ่งห่างจากจุดศูนย์กลาง 30 มม. หลังจากนั้นจึงใช้ cork borer ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ตัดปลายเส้นใยเชื้อรา *Phytophthora parasitica* YY002 บนอาหาร PDA ย้ายมาวางบน PDA ในด้านตรงกันข้ามกับเชื้อรา *Chaetomium* sp. โดยมีระยะห่างกัน 60 มม. บันทึกผลการทดลอง โดยวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของโคโลนี แล้วนำมาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโต (Percent inhibition of radial growth, PIRG) คือ PIRG = ((R1-R2)/R1) x 100 โดย R1: รัศมีของเชื้อรา *Phytophthora* sp. ในชุดควบคุม R2: รัศมีของเชื้อรา *Phytophthora* sp. ในชุดทดลอง มีหน่วยเป็น มม.

นำเชื้อรา *Chaetomium* spp. ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคมาเลี้ยงในอาหาร potato dextrose broth (PDB) เป็นเวลา 30 วัน จากนั้นแยกเอา Fungal biomass ตากแห้งในอุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3-4 วัน นำ Fungal biomass บดให้ละเอียดแล้วนำไปแช่ด้วยตัวทำละลาย hexane ในปริมาตร 1:1 (W/V) เป็นเวลา 5 วัน นำมากรองผ่าน Whatman filter paper No. 4 เมื่อได้สารละลาย (culture filtrate) ออกมา นำไประเหยตัวทำละลายออก (solvent) โดยใช้เครื่อง rotary evaporator จนได้สารสกัดหยาบเฮกเซน (crude hexane) ส่วนกาก (marc) ที่ได้จากการกรองนำไปสกัดโดยใช้ตัวทำละลายที่มีขั้วมากขึ้นคือ ethyl acetate (EtOAc) และ methanol (MeOH) ตามลำดับ จะได้สารสกัดหยาบเอทิล อะซิเตท (crude EtOAc) และ สารสกัดหยาบเมทานอล (crude MeOH)

การทดสอบสารสกัดหยาบจากเชื้อราปฏิปักษ์ในการยับยั้งเชื้อรา *Phytophthora parasitica* ไอโซเลท YY002 โดยการนำสารสกัดหยาบเฮกเซน เอทิล อะซิเตท และเมทานอล ละลายใน 2% Dimethylsulfoxide (DMSO) และผสมกับอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA โดยปรับปริมาตรในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA แบ่งตามระดับความเข้มข้นของสารที่ 0, 10, 50, 100, 500 และ 1,000 ppm. นำชิ้นวุ้นที่มีปลายเส้นใยของเชื้อรา *Phytophthora parasitica* ไอโซเลท YY002 วางจุดกึ่งกลางบนอาหาร PDA ที่ผสมสารสกัดหยาบแต่ละความเข้มข้น จากนั้นบ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 7 วัน เก็บผลการทดลองคือ การวัดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีหน่วยเป็นมิลลิเมตร และการนับจำนวน chlamydospore ของเชื้อราสาเหตุโรค โดยใช้ haemacytometer

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ข้อมูล เปอร์เซ็นต์การยับยั้งเส้นใยและการยับยั้งการสร้าง chlamydospore ของเชื้อราสาเหตุโรค ตามแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) จำนวน 4 ซ้ำต่อกรรมวิธี วิเคราะห์ค่า treatment mean แบบ Duncan's Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($P<0.05$) และคำนวณค่าของการยับยั้งเชื้อรา 50%, (ED_{50} (ppm)) โดยวิธีโพรบิท (Probit analysis)

ผลการศึกษาและวิจารณ์ผลการทดลอง

การสำรวจ และแยกเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าของส้ม

การเก็บตัวอย่างดินบริเวณรากส้มที่เป็นโรคในสวนส้มอำเภอฝาง แม่อาย และไชยปราการ จังหวัดเชียงใหม่ มาทำการแยกเชื้อ พบเชื้อราที่คาดว่าจะเป็นเชื้อสาเหตุโรคจำนวน 25 ไอโซเลท **(Table 1)** โดยแบ่งเป็น เชื้อรา *Phytophthora* spp. จำนวน 20 ไอโซเลท และเชื้อรา *Pythium* spp. จำนวน 5 ไอโซเลท จากการสำรวจสวนส้มในพื้นที่อำเภอฝาง แม่อาย และไชยปราการ จังหวัดเชียงใหม่ พบต้นส้มแสดงอาการรากเน่า โดยมีลักษณะใบเหลืองซีด ต้นโทรม ใบร่วง เมื่อขุดบริเวณรากจะพบว่ารากของส้มแสดงอาการเน่าเปื่อย เนื้อเยื่อที่หุ้มรากหลุดออกได้ง่าย หรือที่เรียกว่าอาการรากถอดปลอกซึ่ง สอดคล้องกับอาการของโรคโคนเน่า (Foot Rot) ของส้ม (Smith et al. 1987) ซึ่งมีสาเหตุจากเชื้อราที่อาศัยอยู่ในดิน นลินี และคณะ (2553) ได้อธิบายลักษณะต้นส้มที่เป็นโรครากเน่าโคนเน่าว่า จะมีอาการรากเน่า โคนเน่า ใบมีสีซีดไม่เป็นสีเขียวปกติ อาการรุนแรงจะทำให้เหลืองทั้งใบ ใบร่วง ปลายกิ่งแห้ง ต้นโทรมและแห้งตายในที่สุด

Table 1 Isolates of *Phytophthora* spp. and *Pythium* spp. from various locations.

No.	Locations	Isolates	
		Phytophthora spp.	*Pythium* spp.
1	Chaiprakarn orchard	YY001, YY002, YY003	-
2	Fang orchard	WF185, WF186	-
3	Phang Seaw orchard	PS61, PS63, PS64, PS71, PS73, PS83, PS84, PS85, PS87, PS201, PS202, PS711, PS721, PS731	PS212, PS213, PS214, PS216
4	Sitthawong orchard	ST301, ST302, ST303, ST311, ST313, ST325, ST326	-
5	Pheu Meum orchard	PM133, PM272, PM291	PM274
	Total	20	5

การทดสอบความสามารถในการก่อโรคและการทดสอบความต้านทานต่อสารป้องกันกำจัดเชื้อราเมทาแลกซิลของเชื้อรา *Phytophthora parasitica* ไอโซเลท YY002

การทดสอบความสามารถในการก่อโรคของเชื้อราที่แยกได้จากอาการรากเน่าของส้มโดยวิธีการ detached leaf พบว่า หลังจากทำการปลูกเชื้อก่อโรคเป็นเวลา 3 วัน ใบส้มแสดงอาการฉ่ำน้ำในช่วงแรก และเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีน้ำตาลคล้ำ ใบเละ เมื่อเทียบกับชุดควบคุมที่ยังคงสภาพใบปกติ (Figure 1) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Yan (2017) ที่ทำการทดสอบส้มสายพันธุ์ Guang-gan (*Citrus reticulata*) ที่มีความต้านทานต่อเชื้อรา *P. nicotianae* ซึ่งเมื่อทำการทดลองเปรียบเทียบกับส้มสายพันธุ์อื่นพืชจะแสดงอาการติดเชื้อ โดยการเปลี่ยนแปลงของใบที่ถูกเข้าทำลายพบเป็นสีน้ำตาล เกิดจากเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าบนใบส้มทั้งหมด 25 ไอโซเลท พบว่ามีเชื้อราสาเหตุโรคที่ก่อให้เกิดโรครุนแรงที่สุด 4 จำนวน 3 ไอโซเลท ได้แก่ YY002, WF185 และPS85

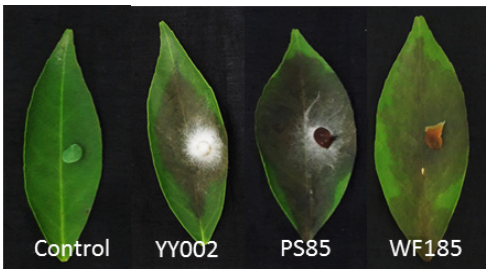

Figure 1 Pathogenicity test of *Phytophthora* for 3 days after inoculation.

การทดสอบความต้านทานของเชื้อรา *Phytophthora* sp. ไอโซเลท YY002 ต่อสารป้องกันกำจัดเชื้อราเมทาแลกซิล พบว่าที่ระดับความเข้มข้น 250 ppm (อัตราแนะนำ) สารป้องกันกำจัดเชื้อราเมทาแลกซิลยับยั้งการเจริญเติบโตของโคโลนีของเชื้อรา *Phytophthora* sp. ไอโซเลท YY002 มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ยเท่ากับ 85.60 มม. มีค่าการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อสาเหตุโรคคิดเป็น 4.86 % เมื่อเทียบกับความเข้มข้นที่ 0 ppm ซึ่งมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเท่ากับ 90.00 มม. เมื่อตรวจนับจำนวนการสร้าง chlamydospore พบว่าที่ระดับความเข้มข้น 250 ppm มีปริมาณสปอร์เท่ากับ 56.75×10^5 สปอร์ต่อมิลลิลิตร

มีค่าการยับยั้งการสร้าง chlamydospore เท่ากับ 18.04 เปอร์เซ็นต์ และมีค่า ED_{50} ของการยับยั้งการเจริญเติบโตของโคโลนี เท่ากับ 2,216.02 ppm และค่า ED_{50} การยับยั้งการสร้าง chlamydospore เท่ากับ 805.19 ppm **(Table 2)** ในขณะที่เชื้อรา Phytophthora sp. ไอโซเลท WF185 และ PS85 ไม่พบการเจริญของเส้นใยบนอาหารที่ผสมสารป้องกันกำจัดเชื้อรา เมทาแลกซิล ที่ระดับความเข้มข้นตามอัตราแนะนำ

การทดสอบความต้านทานของเชื้อรา *Phytophthora* sp. ไอโซเลท YY002 ต่อสารป้องกันกำจัดเชื้อราเมทาแลกซิล สอดคล้องกับรายงานของ อมรรัตน์ และคณะ (2552) ที่ศึกษาผลของสารป้องกันกำจัดโรคพืชเมทาแลกซิลต่อการเจริญของเชื้อรา *Phytophthora palmivora* พบว่า เชื้อรา *P. palmivora* ไอโซเลท 54 Du CB 6 S เจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ไม่ผสมสารป้องกันกำจัดโรคพืชเมทาแลกซิล มีเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเท่ากับ 90.0 มม. ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) กับอาหารที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ผสมการป้องกันกำจัดโรคพืชเมทาแลกซิลที่ความเข้มข้น 1000 ppm เชื้อราไม่มีการเจริญ และการทดสอบความต้านทานของเชื้อรา *Phytophthora* sp. ไอโซเลท YY002 ที่มีต่อสารป้องกันกำจัดเชื้อราเมทาแลกซิล ที่ระดับความเข้มข้น 250 (อัตราแนะนำ), 500 และ 1,000 ppm ไม่สามารถควบคุมการเจริญของเชื้อรา *Phytophthora* sp. ไอโซเลท YY002 เช่นเดียวกับ อมรรัตน์ และคณะ (2555) ได้ศึกษา สารป้องกันกำจัดโรคพืชเมทาแลกซิลต่อการเจริญของเชื้อรา *P. palmivora* เพื่อได้ข้อมูลการดื้อยาของเชื้อรา *P. palmivora* พบว่าสารป้องกันกำจัดโรคพืชเมทาแลกซิล ความเข้มข้น 10 และ 100 ppm ไม่สามารถควบคุมการเจริญของเส้นใยของเชื้อราไอโซเลท 54 Du CB 6 S และ 54 Du NST 8 S ได้ ราทุกไอโซเลทสร้าง sporangia และ chlamydospore ลดลง เมื่อความเข้มข้นของสารป้องกันกำจัดโรคพืชเมทาแลกซิลที่เพิ่มขึ้นไม่พบการสร้างสปอร์ที่ความเข้มข้น 10,000 ppm

Table 2 Metalaxyl - resistance of *Phytophthora* sp. isolate YY002 causing of Citrus Root Rot.

Concentration (ppm)	Colony diameter of pathogens (mm)[1/]	PIRG[/1,2]	ED_{50} (ppm)	Chlamydospore production (x 10^5)[/1]	CI[/1,3] (%)	ED_{50} (ppm)
0	90.00a	-		69.25a	-	
250	85.60b	4.86c	2,216.02	56.75b	18.04c	805.19
500	78.20c	13.05b		47.75c	31.08b	
1000	58.50d	35.00a		28.50d	58.82a	
CV(%)	2.19	14.41		3.27	8.29	

[/1] Mean of four replications. Mean followed by a common letter are not significantly different by DMRT at P =0.05

[/2] PIRG= percent inhibition of radial growth

[/3] CI= chlamydospore inhibition

การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อสาเหตุโรค

เชื้อ *Phytophthora* sp. ไอโซเลท YY002 บนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เชื้อสามารถเจริญได้ค่อนข้างดี เส้นใยของเชื้อมีลักษณะฟู ละเอียด สีขาว ลักษณะการเจริญของโคโลนีบนอาหาร PDA เป็นแบบ arachnoid คือมีการเจริญเป็นรูปใยแมงมุม เจริญเต็มอาหาร เมื่ออายุ 2-3 วัน เมื่อศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่าเส้นใยไม่มีผนังกั้นระหว่างเซลล์ ไม่มีสี เส้นใยมีลักษณะเรียบ มีการสร้าง sporangium รูปร่างกลมจนถึงรูปไข่ มีขนาดเฉลี่ย 34.15 x 48.05 ไมครอน มีอัตราส่วน L/B ratio เท่ากับ 1.40 ภายใน sporangium มี zoospores เป็นจำนวนมาก chlamydospore มีขนาดประมาณ 20 x 22 ไมครอน **(Figure 2)** จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Phytophthora* sp. ไอโซเลท YY002

มีความสอดคล้องและแสดงให้เห็นว่าเป็นเชื้อรา *P. Parasitica* ตามการรายงานของ Waterhouse (1963) รายงานไว้ว่าเชื้อรา *P. parasitica* เป็นเชื้อราที่มีเส้นใยกว้างถึง 9 ไมครอน sporangiophore เรียวยาว เส้นใยแตกกิ่งก้านแบบ sympodial sporangium รูปร่างกลมจนถึงรูปไข่ ขนาดเฉลี่ย 38.00 - 40 x 30 - 50 ไมครอน อัตราส่วนความยาว: ความกว้าง (L: B) = 1.4 หรือต่ำกว่านี้ sporangium เกิดที่ปลายเส้นใย บางครั้งพบเป็นแบบ intercalary pendicel สั้นประมาณ 2 ไมครอน chlamydospore ขนาดโตถึง 60 ไมครอน เมื่ออายุ 1 - 2 สัปดาห์ มีผนังหนา 3 - 4 ไมครอน และมีสีเหลืองอ่อน

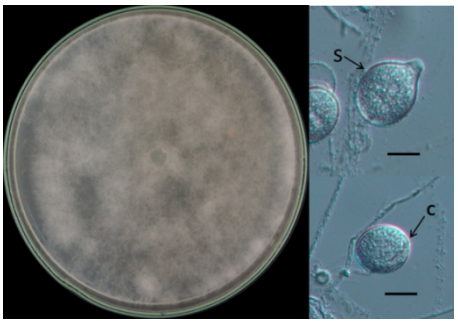

Figure 2 *Phytophthora parasitica* isolate YY002 on PDA at 7 days (left), (S) sporangia, (C) chlamydospore and scale bar = 20 µm.

การศึกษาเชื้อรา *Chaetomium* spp.

สำรวจและเก็บตัวอย่างจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่ได้จากดินในพื้นที่ทั้งหมด 11 แหล่งในจังหวัดเชียงใหม่ เมื่อทำการศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 630 เท่า พบว่าเชื้อจุลินทรีย์มีการสร้าง perithecium รูปไข่ถึงกลม มีการสร้าง sterile hypha หรือเรียกว่า terminal hairs และ leteral hairs ขดม้วนเป็นวงซึ่งเป็นลักษณะพิเศษโดยเฉพาะ ยื่นออกจากผนังด้านนอกโดยรอบ ascus มีรูปร่างแบบกระบอง ภายในมี 8 ascospore ซึ่งสปอร์นั้นจะมีรูปร่างคล้ายผลมะนาวท้ายแหลม สีน้ำตาลอ่อน และจะถูกปล่อยออกจาก ostiole โดยรวมอยู่กับ gelatinous matrix ไหลออกมาเป็นสาย สอดคล้องกับ Anandi et al. (1989) ที่เคยรายงานไว้ เชื้อรา *Chaetomium* spp. มีการสร้าง perithecium มี sterile hypha ยื่นออกมาจากผนังด้านนอก มีการสร้าง ascus รูปร่างทรงกระบอง ภายในมี 8 ascospore โดย ascospore มีลักษณะคล้ายผลมะนาว (lemon shaped) ผนังมีสีน้ำตาล หรือสีดำมี 1 เซลล์ ก่อนที่ ascospore จะแก่เต็มที่ผนัง ascus จะสลายตัวและปล่อยให้ ascospore กระจายตัวจนถูกปล่อยออกจาก ostiole ไหลออกมาเป็นสาย เชื้อราชนิดนี้สามารถสร้างสารปฏิชีวนะคือ chaetoglobosins, chaetomugilins, chaetoviridins, chaetoglobosins และ chaetomin เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ทั้งหมดจำนวน 25 ไอโซเลท

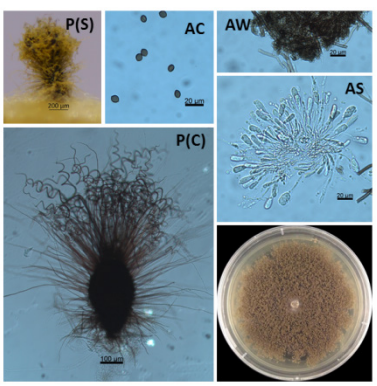

Figure 3 *Chaetomium* sp. isolate HT1; P(S)=Perithecium on stereo microscope, P(C)=Perithecium on compound microscope, AC=ascospoes, AS=asci, and AW=ascomatal wall.

การทดสอบการยับยั้งเชื้อรา *P. parasitica* ไอโซเลท YY002

การใช้เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *Chaetomium* spp. จำนวน 25 ไอโซเลท ในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคต้นโทรมของส้มเขียวหวานในห้องปฏิบัติการ ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งความสามารถการเจริญเติบโตของเส้นใยของเชื้อรา *P. parasitica* ไอโซเลท YY002 โดยวิธี Dual Creature เป็นเวลา 7 วัน พบว่าเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *Chaetomium* sp. ไอโซเลท HT1 **(Figure 3)** สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อรา *P. parasitica* ไอโซเลท YY002 บนอาหารเลี้ยงเชื้อราคิดเป็น 64.56 % **(Figure 4)** และเมื่อครบ 30 วันเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *Chaetomium* spp.สามารถเจริญครอบคลุมโคโนลีของเชื้อรา *P. parasitica* เช่นเดียวกับ Heller and Theiler (1994) ได้ศึกษาถึงการใช้เชื้อรา *Chaetomium globosum*, *Gliocladium virens* และ *Trichoderma viride* ในการเป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อรา *Phytophthora* ทั้ง 4 species คือ *P.cactorum*, *P. cinnamon*. *P. fragariae* และ *P. nicotinae* พบว่า เชื้อราปฏิปักษ์ทั้งสามชนิดสามารถเจริญครอบคลุมบนโคโลนีของเชื้อรา *Phytophthora* และสามารถทำลายเซลล์ของเชื้อให้แตก และเสื่อมสภาพได้ ทั้งนี้ยังสอดคล้องกับรายงานของ Johnson and Booth (1983) พบว่าเชื้อรา *C. globosum* และ *C. cochliodes* สามารถ ควบคุมเชื้อโรคทางดินได้และโรคที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ได้ เช่นเชื้อรา *Helminthosporium* spp., *Fusarium* spp., *Alternaria* spp. และ *Rhizoctonia* spp. จากผลการทดลองจะเห็นว่า การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์โดยวิธีเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ เป็นวิธีการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้าน (microbial antagonists) อีกวิธีการหนึ่งใน การที่จะนำไปใช้ควบคุมเชื้อสาเหตุโรคพืชโดยชีววิธีต่อไป

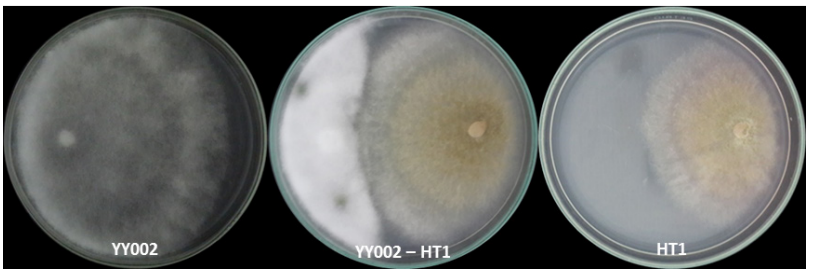

Figure 4 *Chaetomium* sp isolate HT1 against *Phytophthora parasitica* isolate YY002 in dual culture test at 7 days.

การทดสอบสารสกัดหยาบจากเชื้อรา *Chaetomium* spp.

การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากเชื้อรา *Chaetomium* sp. ไอโซเลท HT1 พบว่าสารสกัดหยาบเอทิล อะซิเตท มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการยับยั้งการเจริญเติบโตเส้นใยและการสร้าง chlamydospore โดยมีค่า ED_{50} เท่ากับ 16.65 และ 38.28 ppm. ตามลำดับ รองลงมาคือ สารสกัดหยาบเฮกเซน มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตเส้นใยและการสร้าง chlamydospore โดยมีค่า ED_{50} เท่ากับ 38.00 และ 52.04 ppm. ตามลำดับ และสารสกัดหยาบ เมทานอล มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตเส้นใยและการสร้าง chlamydospore โดยมีค่า ED_{50} เท่ากับ 58.48 และ 67.11 ppm. ตามลำดับ **(Table 3 and Figure 5)** จากการทดสอบสารสกัดหยาบ (crude extract) จาก *Chaetomium* spp. ไอโซเลท HT1 ที่มีผลต่อการยับยั้งเชื้อรา *P. parasitica* ไอโซเลท YY002 พบว่าสารที่สกัดด้วย เอทิล อะซิเตท สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของโคโลนีของเชื้อราได้ดีที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ เกษม (2534) เชื้อรา *Chaetomium globosum* สามารถควบคุมโรคใบจุดในข้าวโพดหวานที่เกิดจากเชื้อรา *Curvularia lunata* ได้ และ Hung et al. (2014) ที่ศึกษาการใช้ *Chaetomium lucknowense* CL01 ในการควบคุมเชื้อรา *P. palmivora* ไอโซเลท PHY02 สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าในส้มโอ พบว่าสารสกัดหยาบสกัดด้วย เอทิล อะซิเตท มีค่า ED_{50} การเจริญเติบโตของเส้นใยและการสร้าง chlamydospore เท่ากับ 77.0 และ 3.5 ppm ตามลำดับ

Table 3 Median effective dose value of the crude extract from *Chaetomium* sp. isolate HT1 to inhibit the growth and chlamydospores of *Phytopthora parasitica* isolate YY002.

Crude extracts	Effective dose 50 (ppm)	
	MGI[1/]	CI[2/]
crude hexane	38	52.04
crude ethyl acetate	16.65	38.28
crude methanol	58.48	67.11

[1/] MGI= mycelia growth inhibition

[2/] CI= chlamydospore inhibition

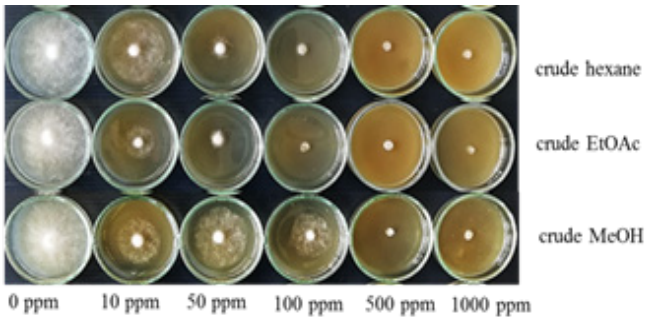

Figure 5 Growth of *Phytophthora parasitica* isolate YY002 at different concentrations of crude extracts of *Chaetomium* sp. isolate HT1.

สรุป

การสำรวจสวนส้มในพื้นที่จังหวัดเชียงใหม่ พบต้นส้มแสดงอาการโรครากเน่า ลักษณะอาการของโรคคือ ใบซีด ต้นโทรม รากมีอาการเน่าเปื่อย ทำการแยกเชื้อราจากตัวอย่างดินนำมาตรวจสอบ พบสาเหตุคือเกิดจากเชื้อรา *Phytophthora* spp. และ *Pythium* spp. จำนวน 25 ไอโซเลท เมื่อไปทดสอบความสามารถในการก่อโรคบนใบส้ม พบ 3 ไอโซเลทที่ก่อโรครุนแรงอยู่ในระดับที่ 4 ได้แก่ เชื้อรา *Phytophthora* spp. ไอโซเลท YY002, WF185 และ PS85 และเชื้อรา *Phytophthora* spp. ไอโซเลท YY002มีความต้านทานต่อสารป้องกันกำจัดเชื้อราเมทาแลกซิล เมื่อศึกษาเชื้อรา *Phytophthora* sp. ไอโซเลท YY002 ตามลักษณะทางสัณฐานวิทยามีลักษณะตรงกับเชื้อรา *Phytophthora parasitica* จากการศึกษาเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *Chaetomium* spp. จากแหล่งที่ทำการสำรวจและเก็บตัวอย่าง สามารถแยกเชื้อได้ทั้งหมดจำนวน 25 ไอโซเลท โดยเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *Chaetomium* sp. ไอโซเลท HT1 สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อรา *P. parasitica* ไอโซเลท YY002 อาหารเลี้ยงเชื้อรวมได้ดีที่สุด เมื่อนำสารสกัดหยาบ (crude extracts) จากเชื้อรา *Chaetomium* sp. ไอโซเลท HT1 มาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อรา *P. parasitica* จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าสารสกัดหยาบ เอทิล อะซิเตท สามารถยับยั้งการเจริญและการสร้าง chlamydospore ของเชื้อสาเหตุโรคได้ดีที่สุด อย่างไรก็ตามจะต้องมีการทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมโรคในสภาพโรงเรือนและแปลงปลูกต่อไป

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณสาขาวิชาโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่สนับสนุนการทำวิจัยครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

กรมส่งเสริมการเกษตร. 2560. ส้มเขียวหวาน. แหล่งข้อมูล: http://www.agriinfo.doae.go.th/year60/plant /rortor/fruit2/orange.pdf. ค้นเมื่อ 10 ตุลาคม 2562.

เกษม สร้อยทอง. 2534. การใช้รา *Chaetomium globosum* ควบคุมโรคใบจุดของข้าวโพด. น. 269-275. ใน: การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยวันที่ 4-7 กุมภาพันธ์ 2534 กรุงเทพฯ.

เกษม สร้อยทอง. 2535. การผลิตยาเชื้อสำหรับควบคุมเชื้อโรคพืชโดยชีววิธี. น. 301-307. ใน: การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัย 29 มกราคม - 1 กุมภาพันธ์ 2535 กรุงเทพฯ.

นลินี ศิวากรณ์ , พจนา ตระกูลสุขรัตน์ และ เพลินพิศ สงสังข์. 2553. การควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าของส้มโอโดยใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์. รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2553 สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. เอกสารวิชาการลำดับที่ 1/2554. หน้า 2592-2612.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2560. ส้มเขียวหวาน. แหล่งข้อมูล:http://www.oae.go.th/assets/portals/1/fileups/prcai data/files/tangerines60.pdf. ค้นเมื่อ 15 มีนาคม 2561.

อมรัตน์ ภู่ไพบูลย์, พระวรรณ พัฒนวิภาส และ ยุทธศักดิ์ เจียมไชยศรี. 2555. ผลของสารป้องกันกำจัดโรคพืช metalaxyl ต่อการเจริญของรา *Phytophthora palmivora*. รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2555 สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

อมรัตน์ ภู่ไพบูลย์, พัชราภรณ์ ลีลาภิรมย์กุล, ศรีสุรางค์ ลิขิตเอกราช และ พจนา ตระกูลสุขรัตน์. 2552. การจัดการโรครา้ำฝนของลำไย. เอกสารออนไลน์ เอกสารวิชาการสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

อมรัตน์ ภู่ไพบูลย์. 2553. รา *Phytophthora* สาเหตุโรคพืชในประเทศไทย. เอกสารวิชาการกลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช.

Anandi, V., T.J. John, A. Walter, J.C.M. Shastry, M.K. Lalitha, A.A. Padhye, L. Ajello, and F.W. Chandler. 1989. Cerebral Phaeohyphomycosis caused by *Chaetomium globosum* in a renal transplant recipient. Journal of Clinical Microbiology. 27: 2226-2229.

Bakoonyi, J., and T. Ersek. 1997. A thereat of potato to late blight in Hungary. Novenyvedelem 33: 221-228.

Davis, R.M. 1982. Control of Phytopthora root and foot rot of citrus with systemic fungicides metalaxyl and phosethyl aluminum. Plant Disease. 66: 218-220.

Heller, W.E., and H.R. Theiler. 1994. Antagonism of *Chaetomium globosum*, *Gliocladium virens* and *Trichoderma viride* to Four Soil Borne *Phytophthora* species. Phytopatho. 141: 390-394.

Hung, P.M., W. Pongnak, and K. Soytong. 2014. Biological control of Pomelo diseases using *Chaetoium* sp. Journal of Agricultural Technology 10: 833-844.

Johnston, A. and C. Booth. 1983. Plant Partholo-gists Pocketbook. Commonweath Mycological Institute.

Pietro, A.D., M. Gut-Rella, J. P. Pachlatko, and F.J. Schwinn. 1992. Role of antibiotics produced by *Chaetomium globosum* in biocontrol of *Pythium ultimum*, a causal agent of damping-off. Phytopathology 82: 131-135.

Smith G.S., D.J. Hutchison, and C.T. Henderson. 1987. Screening sweet orange citrus cultivars for relative susceptibility to Phytophthora root rot. Proc. Fla. State Hort. Soc. 100: 64-66.

Soytong, K., P. Usuwan, S. Kanokmedhakul, K. Knokmedhakul, V. Kukongviriyapan, and M. Isobe. 1999. Integrated biological control of Phytophthora rot of sweet orange using mycofungicides in Thailand. Proc. of the 5th International Conference on Plant Protection in the Tropics. 15-18 March 1999. Malaysia.

Thomas E.J., David L.C., and D.E. Weller. 1993. Nutrient interception by a riparian forest receiving inputs from adjacent cropland. J. ENVIRON. QUAL. 22: 467-473.

Waterhouse, G. M. 1963. Key to the species of *Phytophthora* de bary. Mycological Papers. 92: 1-22.

Yan, H., Y. Zhong, B. Jiang, B. Zhou, B. Wu, and G. Zhong. 2017. Guanggan (*Citrus reticulata*) shows strong resistance to *Phytophthora nicotianae*. Scientia Horticulturae. 225: 141-149.