

## รายงานผลงานเรื่องเต็มการทดลองที่สิ้นสุด

- 1. แผนงานวิจัย** : การจัดทำฐานข้อมูลศัตรูพืชและศัตรูธรรมชาติเพื่อการวิจัยพัฒนาด้านการอารักขาพืชในประเทศไทย
- 2. โครงการวิจัย** : อนุกรมวิธาน เชื้อวิทยา และการจำแนกชนิดโดยดีเอ็นเอบาร์โค้ดของศัตรูพืชและศัตรูธรรมชาติเพื่อการวิจัยด้านอารักขาพืชในประเทศไทย
- กิจกรรมที่ 3** : การจำแนกชนิดศัตรูพืชและศัตรูธรรมชาติโดยดีเอ็นเอบาร์โค้ด
- 3. ชื่อการทดลอง (ภาษาไทย)** : การใช้ดีเอ็นเอบาร์โค้ดเพื่อจำแนกเชื้อรา *Chaetomium cupreum* และ *Ch. globosum*
- ชื่อการทดลอง (ภาษาอังกฤษ)** : DNA barcoding for *Chaetomium cupreum* and *Ch. globosum* identification
- 4. คณะผู้ดำเนินงาน**
  - หัวหน้าการทดลอง** : นางสาวชนินทร ดวงสอาด สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
  - ผู้ร่วมงาน** : นางสาวพรพิมล อธิปัญญาคม สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
  - นางสาวสุนิรัตน์ สิมะเตือ สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
  - นางสาวมะโนรัตน์ สุดสงวน สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
  - นางสาวอมรรักษ์ คัดใจเดียว สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
  - นางสาวสุทธิณี ลิขิตตระกูลรุ่ง สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตร เขตที่ 1
- 5. บทคัดย่อ**

ปัจจุบันข้อมูลและวิธีการทางชีวโมเลกุล เข้ามามีบทบาทมากในงานอนุกรมวิธานเพื่อการจำแนกชนิดของเชื้อราโดยเฉพาะกรณีที่ไม่สามารถชี้ขาดได้ด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยา สำนักวิจัยและพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร เป็นหน่วยงานรับผิดชอบตรวจสอบความถูกต้องของชนิดสายพันธุ์เชื้อราที่ระบุในสารชีวภัณฑ์ป้องกันกำจัดโรคพืช ที่นำมาขึ้นทะเบียนกับกรมวิชาการเกษตร ซึ่งจะเป็นประโยชน์ต่อผู้ใช้สารชีวภัณฑ์ที่สามารถใช้สารชีวภัณฑ์ได้ตรงชนิด การศึกษาครั้งนี้ดำเนินการระหว่างเดือนตุลาคม 2561 - กันยายน 2563 เพื่อจัดทำดีเอ็นเอบาร์โค้ดของเชื้อรา *Chaetomium cupreum* และ *Ch. globosum* ในประเทศไทย เก็บและรวบรวมตัวอย่างเชื้อรา *Chaetomium* จากตัวอย่างดิน พืช และจาก culture collection ของกลุ่มวิจัยโรคพืช เมื่อจำแนกชนิดด้วยลักษณะสัณฐานวิทยาสามารถแบ่งได้เป็น 3 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มที่ 1 มีลักษณะพ้องกับเชื้อรา *Ch. cupreum* กลุ่มที่ 2 มีลักษณะพ้องกับเชื้อรา *Ch. globosum* และ กลุ่มที่ 3 มีลักษณะพ้องกับเชื้อราเชื้อราในสกุล *Chaetomium* แต่ยังไม่สามารถระบุชนิดได้ เมื่อจำแนกชนิดด้วยวิธี phylogenetic reconstruction โดยเปรียบเทียบกับ type sequence ของเชื้อรา *Chaetomiaceae* พบว่า topology ที่ได้จาก Maximum Likelihood (ML) และ Bayesian inference (BI) มีความสอดคล้องกัน และเป็น monophyletic พบว่า เชื้อรา

กลุ่มที่ 1 คือ *Arcopilus cupreus* ซึ่งเป็นชื่อปัจจุบันของ *Ch. cupreum* เชื้อรากลุ่มที่ 2 คือ *Ch. globosum* และ เชื้อรากลุ่มที่ 3 คือ *Ovatospora brasiliensis* ซึ่งเป็นชื่อปัจจุบันของ *Ch. brasiliensis* จากการศึกษาค้นคว้านี้ได้ตีเอ็นเอบาร์โค้ดของเชื้อรา *A. cupreus* (syn. *Ch. cupreum*), *Ch. globosum* และ *O. brasiliensis* (syn. *Ch. brasiliensis*) จำนวน 5 ตำแหน่ง ได้แก่ the Internal Transcribed Spacer (ITS), the translation elongation factor 1-alpha (EF1- $\alpha$ ), the Large Subunit (LSU, 28S), Partial RNA polymerase II second largest subunit (rpb2) และ  $\beta$ -Tubulin 2 (TUB2) ไอโซเลทของเชื้อราและตีเอ็นเอบาร์โค้ดจะเก็บรักษาไว้ใน culture collection ของกลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร เพื่อเป็นฐานข้อมูลในการตรวจสอบชนิดของเชื้อรา

The fungal identification based on genealogical concordance has been applied to classify and identify fungal, especially in many cryptic and complex species. The DNA data of genes obtained from fungi had been analyzed for the identification and also applied as barcodes of certain species of fungi. Plant Protection Research and Development Office, Department of Agriculture is a responsible agency to verify the fungal species in the bioproduct, which to be registered. This will benefit users of biological control products. This study was conducted during October 2018 - September 2020 in order to obtain the DNA barcodes of *Chaetomium cupreum* and *Ch. globosum* for Thailand. The *Chaetomium* was isolated from soil surround roots and plant with additional isolates selected from culture collection of Plant Pathology Research Group. The morphological characters had been observed to identify the *Chaetomium* isolates, which could be identified into three groups. The first group was found to have the similarity morphology to *Ch. cupreum*, the characters of the second group was agreed with *Ch. globosum* and the third group could be identified at genus level as *Chaetomium* sp. The representative from each group were selected for further identification using molecular data compare with the type sequences of *Chaetomiaceae*. The phylogenetic reconstruction obtained from Maximum Likelihood (ML) and Bayesian inference (BI) presented the monophyletic and congruent topology. The results showed that the first group was identity to *Arcopilus cupreus*, the current name of *Ch. cupreum*. The second group was identity to *Ch. globosum*, and the third group could be identified as *Ovatospora brasiliensis*, the current name of *Ch. brasiliensis*. The DNA barcodes of five loci namely, the Internal Transcribed Spacer (ITS), the translation elongation factor 1-alpha (EF1- $\alpha$ ), the Large Subunit (LSU, 28S), Partial RNA polymerase II second largest subunit (rpb2) and  $\beta$ -Tubulin 2 (TUB2) had been obtained from *A. cupreus* (syn. *Ch. cupreum*), *Ch. globosum* and *O. brasiliensis* (syn. *Ch. brasiliensis*). The isolates and DNA barcodes of *A. cupreus*, *Ch. globosum* and *O. brasiliensis* have been curated

and databased in culture collection of Plant Pathology Research Group, Plant Protection Research and Development Office, Department of Agriculture for the identification.

## 6. คำนำ

ปัจจุบันการนำจุลินทรีย์ที่มีคุณสมบัติในการเป็นปฏิปักษ์ (antagonist) มาใช้ประโยชน์ และเริ่มมีบทบาทและความสำคัญทางเศรษฐกิจด้านการเกษตร เชื้อราหลายชนิดที่มีคุณสมบัติเป็นเชื้อราปฏิปักษ์และนำมาใช้เป็นสารชีวภัณฑ์ (biocontrol agent) เนื่องจากคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืช เช่น เชื้อรา *Trichoderma* (Ascomycetes, Hypocreales) (de los Santos-Villalobos *et al.*, 2013; Kindermann *et al.*, 1998; Mbarga *et al.*, 2012) และ เชื้อรา *Chaetomium* (Sordariomycetes, Sordariales) (Soytong, 1990; Soytong, 2001) ลักษณะของเชื้อราปฏิปักษ์จะมีอัตราการเจริญอย่างรวดเร็วเมื่อเปรียบเทียบกับเชื้อราสาเหตุโรคพืช จึงทำให้มีประสิทธิภาพในการแย่งใช้สารอาหารและพื้นที่ในการเจริญ สามารถใช้สารอาหารและเจริญในเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคพืช (mycoparasite) บางชนิดสร้างสารปฏิชีวนะที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช เช่น *Ch. globosum* สามารถสร้างสารปฏิชีวนะที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Pythium ultimum* สาเหตุโรค damping-off ของ sugar beet (Di-Pietro *et al.*, 1991) เชื้อรา *Ch. cupreum* มีรายงานว่าสร้างสารปฏิชีวนะและสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Fusarium* sp., *Macrophomina phaseolina*, *Phomopsis* sp., *Cercospora kikuchii*, *Colletotrichum dematium* var. *truncate*, *Phomopsis* sp. และ *Rhizoctonia solani* พบว่าสารที่เชื้อราปฏิปักษ์บางชนิดสร้างขึ้นมีผลดีต่อพืช โดยช่วยในการเจริญเติบโต (plant growth) รวมถึงกระตุ้นให้พืชมีความแข็งแรงต่อการเข้าทำลายของเชื้อราสาเหตุโรคพืช (plant defence responses) จึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการควบคุมโรคพืชโดยไม่ก่อให้เกิดผลเสียแก่พืช เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม โดยช่วยลดการใช้สารเคมีในการป้องกันกำจัดโรคพืช (Yeh and Sinclair, 1980)

เชื้อราใน genus *Chaetomium* (Sordariomycetes, Sordariales) มีมากกว่า 400 ชนิด (Rodríguez *et al.*, 2002; Wang and Zheng 2005a, b; Wang *et al.*, 2014) เป็นเชื้อราที่สามารถพบและแยกได้โดยทั่วไปจากรากพืชและดิน ในประเทศไทยมีรายงานว่าพบเชื้อราปฏิปักษ์ชนิดนี้ประมาณ 20 ชนิด (Gené and Guarro, 1996; Petcharat and Soyong, 1991; Somrithipol, 2004; Somrithipol *et al.*, 2004; Soyong, 1991; Udagawa, 1973) การจัดจำแนกเชื้อรา *Chaetomium* สามารถทำได้โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา (Doveri, 2013) เช่น ลักษณะและตำแหน่งของ ascomata setae รูปร่างลักษณะและขนาดของ ascospores (von Arx *et al.*, 1986; Doveri, 2013)

การจัดจำแนกและวิวัฒนาการของเชื้อรา *Chaetomium* ใช้ลักษณะทางด้านพันธุกรรม (DNA) กันมากขึ้น (Lee and Hanlin, 1999; Untereiner *et al.*, 2001; Greif *et al.*, 2009; Asgari and Zare, 2011; Pornsuriya *et al.*, 2011; Wang *et al.*, 2014) แต่เนื่องการศึกษาส่วนใหญ่ใช้จำนวนตัวอย่างที่จำกัด ทำให้ผลการศึกษาความแตกต่างรวมถึงความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการของ เชื้อรา *Chaetomium* ที่ไม่มีความชัดเจน ทำให้การจัดจำแนกเชื้อรา *Chaetomium* ด้วยลักษณะทางพันธุกรรมมีความคลุมเครือ (Wang *et al.*, 2014) Wang *et al.* (2014) ใช้ข้อมูลของดีเอ็นเอจากยีน 5 ตำแหน่งคือ the Large Subunit (LSU) the Internal

Transcribed spacer (ITS)  $\beta$ -tubulin elongation factor (TEF1- $\alpha$ ) และ the large subunit of RNA polymerase II (RPB1) เพื่อแยกความแตกต่างของ *Ch. indicum* พบว่ามีเชื้อรา *Chaetomium* จำนวน 6 ชนิด ภายใต้ชื่อ *Ch. indicum* (Wang et al., 2014)

Pornsuriya et al. (2008) แยกเชื้อรา *Chaetomium* หลายชนิด จากดินในพื้นที่เพาะปลูกสลับประดใน จังหวัดพัทลุง ได้แก่ *Ch. aureum*, *Ch. bostrychodes*, *Ch. carinthiacum*, *Ch. cochliodes*, *Ch. cupreum*, *Ch. flavigenum*, *Ch. gracile*, *Ch. perlucidum* และ *Ch. succineum* ซึ่งเชื้อราเหล่านี้มีลักษณะที่ใกล้เคียงกัน ต่อมา มีรายงาน ว่า เชื้อรา *Ch. siamense* ซึ่งมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาใกล้เคียงกับเชื้อรา *Ch. cupreum* มาก แต่เมื่อทำการเปรียบเทียบด้วยลักษณะทางพันธุกรรม (DNA) กลับพบว่าเชื้อราทั้งสองชนิดมีความแตกต่างกัน (Pornsuriya et al., 2011) และพบข้อบ่งชี้ว่าเชื้อรา *Ch. cupreum* ที่รายงานพบในประเทศไทยมีความหลากหลาย แต่ความหลากหลายนี้ไม่สามารถจำแนกได้ด้วยการวิเคราะห์ ITS เพียงตำแหน่งเดียว และมีแนวโน้ม เป็น complex species ที่อาจมีมากกว่า 1 ชนิดภายใต้ชื่อ *Ch. cupreum* เช่นเดียวกับ *Ch. globosum* (Pornsuriya et al., 2011)

*Chaetomium cupreum* และ *Ch. globosum* ถูกเลือกจากจำนวนหลายชนิดของเชื้อรา *Chaetomium* ที่มีการใช้ในการควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี และมีการส่งเสริมให้ใช้ในการป้องกันกำจัดโรคพืชโดยทั้ง ทางรัฐและเอกชน รวมถึงมีการผลิตเชื้อรา *Ch. cupreum* และ *Ch. globosum* ในเชิงพาณิชย์ ปัจจุบันหลาย บริษัทได้แสดงความประสงค์ขอขึ้นทะเบียนผลิตภัณฑ์ของเชื้อรา *Ch. cupreum* และ *Ch. globosum* เป็นสารชีว ภัณฑ์ในเชิงพาณิชย์ การตรวจสอบความถูกต้องของชนิดของเชื้อรา *Ch. cupreum* และ *Ch. globosum* ที่ นำไปใช้ในการควบคุมเชื้อสาเหตุโรคพืช จึงมีความสำคัญเป็นอย่างยิ่ง เนื่องจากส่งผลกระทบต่อประสิทธิภาพในการ ป้องกันและกำจัดเชื้อสาเหตุโรคพืช แต่เนื่องจากลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา genus *Chaetomium* ชนิด มีความคล้ายคลึงกันมากและลักษณะความแตกต่างที่พบไม่เพียงพอทำให้เกิดข้อจำกัดต่อการจัดจำแนก อีกทั้งการ จัดจำแนกนั้นต้องอาศัยความเชี่ยวชาญและชำนาญเป็นอย่างยิ่ง จึงต้องมีการพิจารณาลักษณะทางด้าน พันธุกรรม (DNA) มาร่วมวิเคราะห์ เพื่อบ่งชี้ความแตกต่างและการจัดจำแนกที่ถูกต้อง

เนื่องจากกลุ่มวิจัยโรคพืช เป็นหน่วยงานที่รับผิดชอบในการตรวจสอบความถูกต้องของสายพันธุ์ที่ขอขึ้น ทะเบียนสารชีวภัณฑ์ ดังนั้นการศึกษาเพื่อจำแนกเชื้อรา *Ch. cupreum* และ *Ch. globosum* โดยใช้ลักษณะทางด้าน พันธุกรรมจึงมีความสำคัญ ข้อมูลและผลที่ได้จากการวิจัยจะได้มาซึ่งวิธีการที่มีความแม่นยำและถูกต้องในการ ตรวจสอบชนิดของเชื้อราที่ระบุในสารชีวภัณฑ์ที่นำมาขึ้นทะเบียนกับกรมวิชาการเกษตร ทั้งนี้การตรวจสอบเพื่อ ยืนยันความถูกต้องของชนิดของเชื้อราในสารชีวภัณฑ์ จะก่อให้เกิดประโยชน์สูงสุดต่อผู้ใช้สารชีวภัณฑ์ โดยเฉพาะ อย่างยิ่งต่อเกษตรกร อีกทั้งข้อมูลของลักษณะทางด้านพันธุกรรม (DNA) ที่ได้จากการศึกษาสามารถใช้เป็นฐานข้อมูล เพื่อใช้เปรียบเทียบ หรือศึกษาความหลากหลายและการวิวัฒนาการของ เชื้อรา *Ch. cupreum* และ *Ch. globosum* ในประเทศไทยต่อไป

ดังนั้นการทดลองนี้มีวัตถุประสงค์ เพื่อให้ได้เชื้อรา *Ch. cupreum* และ *Ch. globosum* มาตรฐานที่ ได้รับการจำแนกชนิดอย่างถูกต้อง และเพื่อให้ได้ดีเอ็นเอบาร์โค้ดมาตรฐานของเชื้อรา *Ch. cupreum* และ

*Ch. globosum* เพื่อใช้ตรวจสอบความถูกต้องของชนิดเชื้อรา *Ch. cupreum* และ *Ch. globosum* ในสารชีวภัณฑ์ที่นำมาขึ้นทะเบียนสารชีวภัณฑ์กับกรมวิชาการเกษตร

## 7. วิธีดำเนินการ

### - อุปกรณ์

1. อุปกรณ์เก็บตัวอย่าง ได้แก่ ถุงพลาสติก ถุงกระดาษ กรรไกรตัดแต่งกิ่ง ไม้ทาบตัวอย่าง กระดาษหนังสือพิมพ์ ของกระดาษสำหรับเก็บและรักษาตัวอย่าง

2. อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่

- Microcentrifuge
- Thermal cyclers
- Tissue Lyser
- Gel electrophoresis
- เครื่องถ่ายภาพเจล
- microwave
- micropipette ขนาด 10 100 200 และ 1000 ไมโครลิตร
- กล้องจุลทรรศน์แบบ compound
- กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo
- Dry heat block

3. วัสดุในห้องปฏิบัติการ สไลด์และแผ่นแก้วปิดสไลด์ tips ขนาด 10 100 200 และ 1000 ไมโครลิตร PCR tube ไขมีดผ่าตัด เข็มเขี่ยปลายแหลม ปากคีบ

4. อุปกรณ์เครื่องแก้ว ได้แก่ บีกเกอร์ ขวดดูแรน กระบอกตวง ตะเกียงแอลกอฮอล์ plate

5. สารเคมี ได้แก่

- Green Hot Start PCR Master Mix (biotechrabbit™)
- Lysing Enzymes from *Trichoderma harzianum* (Glucanex®)
- Lithium Borate buffer (LB)
- PureDireX Genomic DNA Isolation Kit
- QIAquick Gel Extraction Kit
- SERVA HiSens Stain G
- Nuclease-Free Water
- ไพรเมอร์ ได้แก่

### the Internal Transcribed Spacer (ITS)

V9G: TTACGTCCCTGCCCTTGTGA (de Hoog and Gerrits van den Ende, 1998)

ITS4: TCCTCCGCTTATTGATATGC (White *et al.*, 1990)

### the translation elongation factor 1-alpha (EF1- $\alpha$ )

EF1-728F: CATCGAGAAGTTCGAGAAGG (Carbone and Kohn, 1999)

EF-2: GGARGTACCAGTSATCATGTT (O'Donnell et al., 1998)

#### the Large Subunit (LSU, 28S)

LROR: ACCCGCTGAACTTAAGC (Vilgalys and Hester, 1990)

LR6: CGCCAGTTTCTGCTTACC (Vilgalys and Hester, 1990)

#### Partial RNA polymerase II second largest subunit (rpb2)

fRPB2-5F: GAYGAYMGWGATCAYTTYGG (Liu et al., 2000)

fRPB2-7cR: CCCATRGCTTGYTTRCCCAT (Liu et al., 2000)

#### $\beta$ -Tubulin 2 (TUB2)

T1: AACATGCGTGAGATTGTAAGT (O'Donnell and Cigelnik 1997)

Bt2b: ACCCTCAGTGTAGTGACCCTTGGC (Glass and Donaldson 1995)

- อาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar (PDA) และ rose bengal agar (RBA)

6. Sequence assemble programs ได้แก่ Geneious Prime 2021.0.3 (<http://www.geneious.com>; Kearse et al., 2012)

#### - วิธีการ

##### 1. ศึกษาข้อมูลของเชื้อรา *Ch. cupreum* และ *Ch. globosum*

รวบรวมข้อมูลสถานะของอนุกรมวิธานของรา *Chaetomium* ให้เป็นปัจจุบัน ได้แก่ ชื่อวิทยาศาสตร์ ชื่อห้อง การจัดจำแนกชนิดของ *Chaetomium* โดยใช้ข้อมูลทางด้านชีวโมเลกุล

##### 2. เก็บและรวบรวมตัวอย่างเชื้อรา *Ch. cupreum* และ *Ch. globosum*

เก็บตัวอย่างดินบริเวณรอบราก ตัวอย่างพืช เพื่อแยกหาเชื้อรา *Chaetomium* ด้วยวิธี alcohol and heat treatment และตัวอย่างเชื้อรา *Chaetomium* ที่นำมาใช้ในการวิจัยบางไอโซเลท นำมาจาก culture collection ของกลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยและพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ โดยตัวอย่างของเชื้อราบริสุทธิ์ จะเลี้ยงบนอาหาร PDA ในหลอดแก้ว เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส โดยจัดเก็บใน culture collection ของกลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยและพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ เพื่อใช้ในการศึกษาหรือเป็นตัวอย่างอ้างอิงต่อไป

##### 3. ศึกษา และจำแนกชนิดเชื้อรา *Ch. cupreum* และ *Ch. globosum* โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา

##### ศึกษาลักษณะของเชื้อรา *Ch. cupreum* และ *Ch. globosum*

นำราที่แยกได้มาเลี้ยงบนอาหาร PDA และบันทึกลักษณะต่าง ๆ ได้แก่ อัตราการเจริญของราบนอาหารเลี้ยงเชื้อ สีของโคโลนีด้านบนและด้านล่างจานอาหารเลี้ยงเชื้อ รวมทั้งการสร้างเม็ดสี (pigment) ศึกษา และบันทึกลักษณะทางสัณฐานวิทยาของรา ได้แก่ รูปร่าง ขนาด สี ของเส้นใย conidia conidiophore และโครงสร้างอื่นๆ

ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ stereo microscope และ compound microscope และถ่ายภาพ จากนั้นหาค่าเฉลี่ยของขนาดโครงสร้างต่างๆของราที่วัดขนาดไว้

#### จำแนกชนิดเชื้อรา *Ch. cupreum* และ *Ch. globosum*

โดยเปรียบเทียบลักษณะของรา *Chaetomium* ที่ศึกษากับคู่มือของ von Arx *et al.* (1986); Doveri (2013) และ Wang *et al.* (2014; 2016a; 2016b)

#### 4. จำแนกชนิดของเชื้อรา *Ch. cupreum* และ *Ch. globosum* โดยใช้ข้อมูลพันธุกรรม

##### สกัดดีเอ็นเอ

ตัดหรือเขี่ยเส้นใยรวมถึง conidia ของเชื้อรา *Ch. cupreum* และ *Ch. globosum* ที่เลี้ยงบนอาหาร PDA ประมาณ 0.2-0.5 กรัม ลงในหลอดสำหรับสกัดดีเอ็นเอ และทำการสกัดตามวิธีของ Dungsard, *et al.* (2015) เก็บรักษาดีเอ็นเอที่สกัดได้จากแต่ละตัวอย่าง ไว้ที่อุณหภูมิ -20 หรือ -40 องศาเซลเซียส เพื่อรักษาสภาพและคุณภาพของดีเอ็นเอ

##### เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอเป้าหมาย

ไพรเมอร์ที่ใช้ในการศึกษา

the Internal Transcribed Spacer (ITS)

V9G: TTACGTCCCTGCCCTTTGTA (de Hoog and Gerrits van den Ende, 1998)

ITS4: TCCTCCGCTTATTGATATGC (White *et al.*, 1990)

the translation elongation factor 1-alpha (EF1- $\alpha$ )

EF1-728F: CATCGAGAAGTTCGAGAAGG (Carbone and Kohn, 1999)

EF-2: GGARGTACCAGTSATCATGTT (O'Donnell *et al.*, 1998)

the Large Subunit (LSU, 28S)

LROR: ACCCGCTGAACTTAAGC (Vilgalys and Hester, 1990)

LR6: CGCCAGTTTCTGCTTACC (Vilgalys and Hester, 1990)

Partial RNA polymerase II second largest subunit (rpb2)

fRPB2-5F: GAYGAYMGWGATCAYTTYGG (Lie *et al.*, 1990)

fRPB2-7cR: CCCATRGCTTGYTTRCCCAT (Lie *et al.*, 1990)

$\beta$ -Tubulin 2 (TUB2)

T1: AACATGCGTGAGATTGTAAGT (O'Donnell and Cigelnik 1997)

Bt2b: ACCCTCAGTGTAGTGACCCTTGGC (Glass and Donaldson 1995)

นำดีเอ็นเอที่สกัดได้จากแต่ละตัวอย่าง มาเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิค Polymerase Chain Reaction (PCR) ของตำแหน่ง the Internal Transcribed Spacer (ITS) the translation elongation factor 1-alpha (EF1- $\alpha$ ) the Large Subunit (LSU, 28S) Partial RNA polymerase II second largest subunit (rpb2) และ

$\beta$ -Tubulin 2 (TUB2) ด้วย Green Hot Start PCR Master Mix (biotechrabbit™) ใช้ cycling และ condition ของปฏิกิริยาตามที่มีผู้ผลิตแนะนำ กำหนด annealing temperature ที่ 56 องศาเซลเซียส

### การตรวจสอบผลิตภัณฑ์ PCR

ตรวจสอบผลิตภัณฑ์ PCR ด้วยวิธีอิเล็กโทรโฟรีซิส (Electrophoresis) เตรียม 1% agarose gel และผสม SERVA HiSens Stain G ในอัตราส่วน 1:50,000 ผสมผลิตภัณฑ์ PCR 5 ไมโครลิตร ด้วย loading dye 1 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันจากนั้นหยอดลงใน agarose gel ที่ความเข้มข้น 1% ให้ผลิตภัณฑ์ PCR เคลื่อนที่ผ่านสารละลาย Lithium Borate buffer (LB buffer) ส่งผลิตภัณฑ์ PCR ไปยัง บริษัท MacroGen Korea เพื่อทำ purification และหาลำดับนิวคลีโอไทด์

### การวิเคราะห์ และตรวจสอบลำดับนิวคลีโอไทด์

นำข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ (sequence) มาทำการวิเคราะห์ โดยนำ forward sequence และ reverse sequence ที่ได้มาเปรียบเทียบกัน โดยใช้โปรแกรม Geneious Prime 2021.0.3 และบันทึกข้อมูลในรูปแบบไฟล์ fasta ทำการตรวจสอบความถูกต้องของชนิดของจุลินทรีย์ที่ทำการศึกษาพื้นฐานข้อมูลทางพันธุกรรม

### การจัดเรียงลำดับนิวคลีโอไทด์

นำ contig ของลำดับนิวคลีโอไทด์ (consensus sequence) แต่ละตำแหน่งมาจัดเรียง (align) เป็นชุดข้อมูล (dataset) ร่วมกับ type sequences ของแต่ละตำแหน่งได้แก่ LSU, ITS, TUB2, rpb2 และ TEF1 จากรายงานศึกษานุกรมวิชาการของเชื้อราวงศ์ *Chaetomiaceae* (Pornsuriya *et al.*, 2008; Doveri, 2013; Wang *et al.*, 2014; 2016a; 2016b) และตรวจสอบการจัดเรียงของชุดข้อมูล (alignment) ด้วยวิธี MUSCLE ในโปรแกรม MAFFT X (Kumar *et al.*, 2018) ใช้โปรแกรม Gblocks (Talavera and Castresana, 2007) เพื่อกรองส่วนที่เป็น ambiguous sequence จากนั้นจัดทำ partitioned (combined) dataset ของตำแหน่ง LSU, ITS, TUB2, rpb2 และ TEF1 บันทึก dataset และ partitioned dataset ในรูปแบบไฟล์ nexus โดยใช้โปรแกรม Mesquite

### วิเคราะห์ความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการเพื่อการจัดจำแนก

จำแนกชนิดของรา *Chaetomium* โดยวิเคราะห์จาก combined dataset ของ LSU-ITS-TUB2-rpb2-TEF1 วิเคราะห์ด้วย phylogenetic criteria 2 แบบคือ

1. Maximum Likelihood (ML) โดยเตรียมไฟล์ phy และวิเคราะห์โดยโปรแกรม RAxML v8.1.15 (Stamatakis, 2014) กำหนด model of evolution แบบ GTRGAMMA ซึ่งจำเพาะต่อการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ วิเคราะห์ด้วย rapid bootstrap (command -f a) เริ่มจาก random starting tree และ กำหนด maximum likelihood bootstrap จำนวน 1000 ครั้ง

2. Bayesian inference (BI) เตรียมไฟล์ nexus วิเคราะห์โดยโปรแกรม MrBayes (Ronquist and Huelsenbeck, 2003) โดยใช้วิธี Markov Chain Monte Carlo (MCMC) กำหนด model of evolution แบบ GTRGAMMA ค่าตั้งต้นที่ใช้ในการวิเคราะห์ครั้งนี้ กำหนด 4 runs แต่ละ run ประกอบด้วย 4 chains วิเคราะห์จำนวน 10 ล้าน generations ตั้งค่า cold chain ที่ temperature 0.25 สุ่มตัวอย่าง substitution model



parameters และบันทึก trees ทุก 500 generations ตรวจสอบความเชื่อมั่นของ topology ด้วย cumulative and compare functions ด้วย AWTY (Nylander *et al.*, 2008)

### การบันทึกข้อมูล

บันทึกข้อมูล เก็บรักษาสายพันธุ์เชื้อรา และเก็บรักษาดีเอ็นเอต้นแบบที่ได้จากการศึกษา เชื้อราที่แยกได้ เก็บรักษาไว้ใน Culture Collection ของกลุ่มวิจัยโรคพืชโดยเลี้ยงบนอาหาร PDA Slant ในหลอดแก้ว เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส ดีเอ็นเอต้นแบบ (DNA templates) จะจัดเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -40 องศาเซลเซียส ณ พิพิธภัณฑสถานโรคพืช กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช และข้อมูลรหัสดีเอ็นเอ (DNA barcodes หรือ consensus sequences) จะถูกเก็บบันทึก และรายงานเพื่อใช้เป็นข้อมูลอ้างอิงสำหรับการจัดทำบัญชีรายชื่อโรคพืช รวมถึงสามารถใช้เป็นข้อมูลประกอบในการศึกษาด้านวิวัฒนาการต่อไป

#### - เวลาและสถานที่

เริ่มต้น ตุลาคม 2560 – กันยายน 2562

กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

## 8. ผลการทดลองและวิจารณ์

การเก็บตัวอย่างและจำแนกชนิดเชื้อรา *Ch. cupreum* และ *Ch. globosum* ด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยา

เก็บตัวอย่างดินบริเวณรอบราก และตัวอย่างพืช นำมาแยกเชื้อราให้บริสุทธิ์ รวมถึงเชื้อราจาก culture collection เมื่อศึกษาด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยา พบเชื้อราที่มีลักษณะพ้องกับเชื้อรา *Chaetomium* จำนวน 12 ไอโซเลท จากการจำแนกชนิดจากลักษณะทางสัณฐานวิทยาต่างๆ ได้แก่ การเจริญของรากับอาหารเลี้ยงเชื้อ สีของโคโลนีด้านบนและด้านล่างจานอาหารเลี้ยงเชื้อ รวมทั้งการสร้างเม็ดสี (pigment) รูปร่าง ขนาด สี ของเส้นใย conidia conidiophore และโครงสร้างอื่นๆ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ stereo microscope และ compound microscope พบว่าเชื้อราทั้ง 12 ไอโซเลท สามารถจำแนกได้เป็น 3 กลุ่ม (Table 1) ได้แก่

1. ลักษณะพ้องกับเชื้อรา *Ch. cupreum* จำนวน 2 ไอโซเลท ได้แก่ เชื้อราไอโซเลท M0069 และ M0774 ที่แยกได้จากดิน จาก อ.เมือง จ. เพชรบุรี
2. ลักษณะพ้องกับเชื้อรา *Ch. globosum* จำนวน 9 ไอโซเลท ได้แก่ C0501, C0502, M0234, M0235, M0236, M0747, M0999, M1000 และ M1001
3. ลักษณะพ้องกับเชื้อราในสกุล *Chaetomium* แต่ยังไม่สามารถระบุชนิดได้ จำนวน 1 ไอโซเลท ได้แก่ M0224

Table 1: List of specimens obtained from study

Voucher No.	Group	Taxa	Sources	Locations
M0069	1	<i>Chaetomium cupreum</i>	soil surround roots	Mueang, Phetchaburi
M0774	1	<i>Ch. cupreum</i>	soil surround roots	Mueang, Phetchaburi
M0234	2	<i>Ch. globosum</i>	<i>Citrullus lanatus</i>	Kaset Sombun, Chaiyaphum
C0501	2	<i>Ch. globosum</i>	<i>Citrullus lanatus</i>	Kaset Sombun, Chaiyaphum
M0235	2	<i>Ch. globosum</i>	<i>Cucumis sativus</i>	incubated seeds

M0236	2	<i>Ch. globosum</i>	<i>Cucumis sativus</i>	incubated seeds
M0747	2	<i>Ch. globosum</i>	<i>Paris polyphylla</i>	Mae Rim, Chiangmai
M0999	2	<i>Ch. globosum</i>	soil surround roots	Mae Rim, Chiangmai
M1000	2	<i>Ch. globosum</i>	soil surround roots	Pan, Chiangrai
C0502	2	<i>Ch. globosum</i>	soil surround roots	Pan, Chiangrai
M1001	2	<i>Ch. globosum</i>	soil surround roots	Wiang Pa Pao, Chiangrai
M0224	3	<i>Chaetomium</i> sp.	<i>Citrus maxima</i>	Kaset Sombun, Chaiyaphum

### การจำแนกชนิดของเชื้อรา *Ch. cupreum* และ *Ch. globosum* โดยใช้ข้อมูลพันธุกรรม

นำเชื้อรากลุ่มที่ 1 จำนวน 2 ไอโซเลท เชื้อรากลุ่มที่ 2 คัดเลือกตัวแทน จำนวน 7 ไอโซเลท และเชื้อรา กลุ่มที่ 3 จำนวน 1 ไอโซเลท รวมจำนวน 12 ไอโซเลท มาแยกเชื้อให้บริสุทธิ์ด้วยวิธี single spore isolation เมื่อเชื้อราเจริญจนมีขนาดโคโลนีประมาณ 6 เซนติเมตร จึงดำเนินการสกัดดีเอ็นเอ จากนั้นดำเนินการเพิ่มปริมาณ ดีเอ็นเอด้วยเทคนิค Polymerase Chain Reaction (PCR) ของยีนตำแหน่ง LSU, ITS, TUB2, rpb2 และ TEF1 ด้วยไพรเมอร์ของแต่ละตำแหน่ง ตรวจสอบผลิตภัณฑ์ PCR ด้วยวิธีอิเล็กโทรโฟรีซิส ส่งผลิตภัณฑ์ PCR ไปยัง บริษัท Macrogen Korea เพื่อทำ purification และหาลำดับนิวคลีโอไทด์ (sequencing)

จัดทำ contig ของลำดับนิวคลีโอไทด์โดยใช้โปรแกรม Geneious Prime 2021.0.3 จากนั้นจัดเรียง (align) เป็นชุดข้อมูล (dataset) ร่วมกับ type sequences ของแต่ละตำแหน่งได้แก่ LSU, ITS, TUB2, rpb2 และ TEF1 จากรายงานศึกษานุกรมวิธานของเชื้อราวงศ์ *Chaetomiaceae* (Pornsuriya *et al.*, 2008; Doveri, 2013; Wang *et al.*, 2014; 2016a; 2016b) (Table 2) จำแนกชนิดของรา *Chaetomium* โดย วิเคราะห์จาก combined dataset ของ ITS-LSU-rpb2-TEF1-TUB2 ของ 140 taxa โดย *Microascus trigonosporus* เป็น outgroup ทำการวิเคราะห์รวม 3,581 bases/taxa มีข้อมูลของแต่ละ partition ดังนี้ ITS = 629 bases, LSU = 520 bases, rpb2 = 650, TEF1 = 866 bases และ TUB2 = 916 bases

เชื้อราในวงศ์ *Chaetomiaceae* ได้มีการศึกษาและจัดจำแนกด้วยวิธีการทางอนุกรมวิธานตาม มาตรฐานสากลโดยใช้ข้อมูลทางสัณฐานร่วมกับข้อมูลพันธุกรรม จากข้อมูล MycoBank พบว่า วงศ์ *Chaetomiaceae* ประกอบไปด้วยเชื้อรากว่า 55 สกุล (MycoBank, 2021) ได้แก่ *Achaetomiella*, *Achaetomium*, *Acrophialophora*, *Allocanariomyces*, *Amesia*, *Aporothielavia*, *Arcopilus*, *Arxotrichum*, *Batnamyces*, *Bolacotricha*, *Bommerella*, *Botryotrichum*, *Brachychaeta*, *Canariomyces*, *Carteria*, *Chaetomidium*, *Chaetomiopsis*, *Chaetomiotricha*, *Chaetomium*, *Chrysanthotrichum*, *Chrysocorona*, *Cladochaete*, *Collariella*, *Condenascus*, *Corynascella*, *Corynascus*, *Crassicarpon*, *Dichotomopilus*, *Emilmuelleria*, *Erythrocarpon*, *Erythrocarpum*, *Farrowia*, *Floropilus*, *Humicola*, *Hyalosphaerella*, *Melanogone*, *Microthielavia*, *Myceliophthora*, *Mycothermus*, *Mycothermus*, *Ovatospora*, *Parachaetomium*, *Parathielavia*, *Parvabulbium*, *Pseudothielavia*, *Remersonia*, *Setiferotheca*, *Stellatospora*, *Stolonocarpus*, *Subramaniula*, *Tajfanglania*, *Thermothelomyces*, *Thermothielavioides*, *Trichocladium* และ *Vanhallia*

เมื่อวิเคราะห์ phylogenetic reconstruction พบว่า topology ที่ได้จาก ML และ BI มีความสอดคล้องกัน และเป็น monophyletic (Figure 1) โดย phylogram ที่ได้จาก ML พิจารณาค่า bootstrap support values ( $\geq 70\%$ ) ที่วิเคราะห์จาก 1,000 ซ้ำ และ BI ได้จากค่าเฉลี่ยของ 20,000 converged trees ดังนั้นผลการจัดจำแนกด้วยข้อมูลพันธุกรรมของเชื้อรา *Chaetomium* ที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้พบว่า เชื้อราไอโซเลข M0069 และ M0774 พบว่าอยู่ใน clade ของ genus *Arcopilus* สามารถจำแนกได้เป็น *Arcopilus cupreus* เชื้อราไอโซเลข M0234 M0235 M0236 M0747 M0999 M1000 และ M1001 สามารถจำแนกได้เป็น *Ch. globosum* และ เชื้อราไอโซเลข M0224 สามารถจำแนกได้เป็น *Ovatospora brasiliensis*

กรมวิชาการเกษตร

**Table 2:** List of *Chaetomiaceae* included in this study

Taxa	Voucher Number	Previous name	Locations	GenBank Number				
				ITS	LSU	rpb2	tef1	tub2
<b><i>Achaetomium</i></b>								
<i>ACh. globosum</i>	CBS 332.67		Rhizosphere, Lucknow, India	KX976570	KX976695	KX976793	KM655479	KX976911
<i>Ac. luteum</i>	CBS 618.68		Cucurbita rhizosphere, Delhi, India	KX976571	KX976696	KX976794	-	KX976912
	CBS 544.83		Rosa stem, Lahore, Pakistan	KX976572	KX976697	KX976795	-	KX976913
<i>Ac. macrosporum</i>	CBS 152.97		Leaf litter, Uttar Pradesh, India	KX976573	KX976698	KX976796	-	KX976914
	CBS 532.94		Mangrove mud, Japan	KX976574	KX976699	KX976797	-	KX976915
<i>Ac. strumarium</i>	CBS 333.67		Soil, Lucknow, India	AY681204	AY681170	KC503254	KC503252	AY681238
<b><i>Amesia</i> gen. nov.</b>								
<i>Am. atrobrunnea</i>	CBS 379.66	<i>Ch. atrobrunneum</i>	Mouldy mattress, Solomon Islands	JX280771	JX280666	KX976798	-	KX976916
	CBS 250.75		Air, Uttar Pradesh, India	KX976575	KX976700	KX976799	-	KX976917
<i>Am. cymbiformis</i>	CBS 175.84	<i>Ch. cymbiforme</i>	Tent rope, Solomon Islands	KX976576	KX976701	KX976800	-	KX976918
<i>Am. nigricolor</i>	CBS 600.66	<i>Ch. nigricolor</i>	Vegetable detritus, India	KX976578	KX976703	KX976802	KM655454	KX976920
<i>Am. gelasinospora</i>	CBS 673.80	<i>Ch. gelasinosporum</i>	Soil, Qus, Egypt	KX976580	KX976705	KX976804	-	KX976922
<b><i>Arcopilus</i></b>								
<i>A. aureus</i>	LC11932	<i>Ch. aureum</i>	<i>Saccharum officinarum</i> , China	MN215718	MN215556	MN255399	-	MN329889
<i>A. cupreus</i>	CBS 560.80	<i>Ch. cupreum</i>	Dung of moose, Mietta Hot Springs, Canada	KX976584	KX976709	KX976808	-	KX976926
	LC13497		<i>Saccharum officinarum</i> , China	MN215731	MN215569	MN255412	-	MN329902
	<b>M0069</b>		Soil, Phetchaburi, Thailand	this study	this study	this study	this study	this study
	<b>M0774</b>		Soil, Phetchaburi, Thailand	this study	this study	this study	this study	this study
<i>A. fusiformis</i>	CBS 484.85	<i>Ch. fusiforme</i>	Dung of rodent, Newberry Mts., Nevada, USA	KX976585	KX976710	KX976809	-	KX976927
<i>A. flavigenus</i>	CBS 337.67	<i>Ch. flavigenum</i>	Soil, Johannesburg, South Africa	KX976587	KX976712	KX976811	-	KX976929
<i>A. turgidopilosus</i>	CBS 169.52	<i>Ch. turgidopilosum</i>	Top of storage tent, USA	KX976588	KX976713	KX976812	-	KX976930
<b><i>Botryotrichum</i></b>								
<i>B. atrogriseum</i>	CBS 130.28		Dung of rabbit, The Netherlands	KX976589	KX976714	KX976813	-	KX976931
	CBS 604.69		Corn field soil, Waterloo, Ontario, Canada	KX976590	KX976715	KX976814	-	KX976932

<i>B. murorum</i>	CBS 163.52	<i>Ch. murorum</i>	Great Smoky Mts., Tennessee, USA	KX976591	KX976716	KX976815	-	KX976933
	CBS 173.68		<i>Homo sapiens</i> , Netherlands	KX976592	KX976717	KX976816	-	KX976934

**Table 2:** Continued

Taxa	Voucher Number	Previous name	Locations	GenBank Number				
				ITS	LSU	rpb2	tef1	tub2
<b><i>Botryotrichum</i></b>								
<i>B. peruvianum</i>	CBS 460.90		Dung of herbivore, Massanella, Spain	KX976623	KX976720	KX976819	-	KX976937
	CBS 421.93		Air, La Habana, Cuba	KX976596	KX976721	KX976820	-	KX976938
<i>B. piluliferum</i>	CBS 654.79		Pastry, Enschede, Netherlands	KX976597	KX976722	KX976821	-	KX976939
<i>B. spirotrichum</i>	CBS 211.55	<i>Emilmuelleria spirotricha</i>	Dung of deer, California, USA	KX976601	KX976726	KX976825	-	KX976943
	CBS 828.71		Dung of donkey, Algeria	KX976602	KX976727	KX976826	-	KX976944
<b><i>Chaetomium sensu stricto</i>**</b>								
<i>Ch. afropilosum</i>	CBS 145.38		-	KT214574	KT214605	KT214675	KT214713	KT214751
<i>Ch. angustispirale</i>	CBS 137.58		Russia	JN209862	MH869263	KF001824	KF001734	JN256141
<i>Ch. capillare</i>	CBS 128489		USA	KT214583	KT214614	KT214686	KT214724	KT214760
<i>Ch. cervicicola</i>	CBS 128492		USA	KT214558	KT214592	KT214662	KT214697	KT214735
<i>Ch. citrinum</i>	CBS 693.82		Japan	KT214587	KT214617	KT214691	KT214730	KT214764
<i>Ch. coarctatum</i>	CBS 162.62		Russia	JN209863	MH869715	KF001802	KF001712	JN256142
<i>Ch. contagiosum</i>	CBS 128494		USA	KT214555	KT214589	KT214659	KT214694	KT214732
<i>Ch. cucumericola</i>	CBS 378.71		Turkey	KT214579	KT214610	KT214680	KT214718	KT214756
	CBS 126777		Iran	HM365247	MH875677	KT214681	KT214719	KT214757
<i>Ch. elatum</i>	CBS 142034	<i>Ch. pannosum</i> , <i>Ch. tenuissimum</i>	Denmark	KX976612	KX976733	KX976832	-	KX976954
	CBS 910.70	<i>Ch. ramipilosum</i>	Germany	KC109757	KC109757	KF001821	KF001731	KC109775
	CBS 374.66	<i>Ch. virgecephalum</i>	USA	KC109758	MH870466	KF001820	KF001730	KC109776
<i>Ch. fimeti</i>	CBS 139034	<i>Thielavia fimeti</i> , <i>T. californica</i>	Germany	KT214559	KT214593	KT214663	KT214698	KT214736
	CBS 168.71		Canada	KT214560	FJ666358	FJ666389	KT214699	KT214737
<i>Ch. globosporum</i>	CBS 108.83		India	KC109750	JX280708	KF001825	KF001735	KC109768
<i>Ch. globosum</i>	CBS 160.62		Germany	KT214565	KT214596	KT214666	KT214704	KT214742

CBS 132.30	<i>Ch. subterraneum</i>	USA	KC109755	KC109755	KF001792	KF001702	KC109773
CBS 147.60	<i>Ch. mollipilium</i>	USA	JN209909	MH869475	KF001793	KF001703	JN256179
CBS 164.62	<i>Ch. rectum</i>	Poland	JN209920	MH869717	KF001796	KF001706	JN256190
CBS 371.66	<i>Ch. cruentum</i>	USA	JN209871	JN209871	KF001795	KF001705	JN256148

Table 2: Continued

Taxa	Voucher Number	Previous name	Locations	GenBank Number				
				ITS	LSU	rpb2	tef1	tub2
<i>Chaetomium sensu stricto**</i>								
	MUCL 39526	<i>Ch. globosum</i> var. <i>flavoviride</i>	Hungary	JN209875	JN209875	KF001800	KF001710	JN256152
	MUCL 39527	<i>Ch. globosum</i> var. <i>griseum</i>	Hungary	JN209899	JN209899	KF001799	KF001709	JN256173
	CBS 149.60	<i>Ch. subglobosum</i>	Russia	JN209930	MH869477	KF001808	KF001718	JN256200
	CBS 155.52	<i>Ch. cochliodes</i>	USA	KC109754	MH868494	KF001811	KF001721	KC109772
	CBS 373.66	<i>Ch. cochliodes</i>	USA	KC109756	MH870465	KF001809	KF001719	KC109774
	<b>M0234</b>		<i>Citrullus lanatus</i> , Chaiyaphum, Thailand	this study	this study	this study	this study	this study
	<b>M0235</b>		incubated seeds of <i>Cucumis sativus</i> , Thailand	this study	this study	this study	this study	this study
	<b>M0236</b>		incubated seeds of <i>Cucumis sativus</i> , Thailand	this study	this study	this study	this study	this study
	<b>M0747</b>		<i>Paris polyphylla</i> , Chiangmai, Thailand	this study	this study	this study	this study	this study
	<b>M0999</b>		soil, Mae Rim, Chiangmai, Thailand	this study	this study	this study	this study	this study
	<b>M1000</b>		soil, Pan, Chiangrai, Thailand	this study	this study	this study	this study	this study
	<b>M1001</b>		soil, Wiang Pa Pao, Chiangrai, Thailand	this study	this study	this study	this study	this study
<i>Ch. graminiforme</i>	CBS 506.84		Canada	KT214584	KT214615	KT214687	KT214725	KT214761
<i>Ch. grande</i>	CBS 126780		Iran	HM365253	MH875679	KT214657	KT214692	HM365273
	CGMCC 3.9414		China	KC109749	KC109749	KF001826	KF001736	KC109767
<i>Ch. interruptum</i>	CBS 126660		Iran	HM365246	MH875650	KT214665	KT214703	KT214741
<i>Ch. madrasense</i>	CBS 315.74		India	KC109751	KC109751	KF001831	KF001741	KC109769
	CBS 113.83	<i>Ch. ascotrichoides</i>	Argentina	KC109752	KC109752	KF001832	KF001742	KC109770
	CBS 110.83	<i>Ch. gibberosporum</i>	Israel	KC109753	MH873286	KF001833	KF001743	KC109771
<i>Ch. megalocarpum</i>	CBS 149.59	<i>Ch. atrosporum</i>	Greece	KC109744	KC109744	KF001828	KF001738	KC109762

<i>Ch. novozelandicum</i>	CBS 124555		New Zealand	KT214576	KT214607	KT214677	KT214715	KT214753
	CBS 128484		USA	KT214578	KT214609	KT214679	KT214717	KT214755
<i>Ch. nozdrenkoae</i>	CBS 163.62	<i>Ch. difforme</i>	Russia	KT214556	KT214590	KT214660	KT214695	KT214733
	CBS 809.68		Germany	KT214557	KT214591	KT214661	KT214696	KT214734
<i>Ch. pilosum</i>	CBS 335.67	<i>Chaetomidium pilosum</i>	Australia	KT214586	FJ666356	FJ666387	KT214729	KT214763

Table 2: Continued

Taxa	Voucher Number	Previous name	Locations	GenBank Number				
				ITS	LSU	rpb2	tef1	tub2
<b><i>Chaetomium sensu stricto</i>**</b>								
<i>Ch. pseudocochliodes</i>	CGMCC 3.9441		China	JN209925	JN209925	KF001816	KF001726	JN256195
	CGMCC 3.9469		China	JN209926	JN209926	KF001815	KF001725	JN256196
<i>Ch. pseudoglobosum</i>	CBS 574.71			KT214573	KT214604	KT214674	KT214712	KT214750
<i>Ch. rectangulare</i>	CBS 126778		Iran	HM365239	HM365239	KT214688	KT214726	HM365285
	CGMCC 3.9409		China	JN209873	JN209873	KF001822	KF001732	JN256150
<i>Ch. spirochaete</i>	CBS 730.84		USA	JN209921	MH873518	KF001819	KF001729	JN256191
<i>Ch. subaffine</i>	CBS 637.91		USSR	JN209929	MH873969	KF001817	KF001727	JN256199
<i>Ch. subfimetii</i>	CBS 370.66	<i>Chaetomidium subfimetii</i>	Wales	KT214562	FJ666354	FJ666385	KT214701	KT214739
	CBS 169.71		USA	KT214563	FJ666357	FJ666388	KT214702	KT214740
<i>Ch. tectifimetii</i>	CBS 142032		Dust, USA	KX976640	KX976737	KX976836	-	KX976982
<i>Ch. telluricola</i>	CBS 151.59		United Kingdom	KT214582	KT214613	KT214685	KT214723	KT214759
<i>Ch. tenue</i>	CBS 139.38			KT214568	KT214599	KT214669	KT214707	KT214745
	CBS 140.38			KT214570	KT214601	KT214671	KT214709	KT214747
<i>Ch. umbonatum</i>	CBS 293.83		Canada	KT214575	KT214606	KT214676	KT214714	KT214752
<i>Ch. undulatum</i>	CBS 126775		Iran	HM365251	MH875675	KT214682	KT214720	HM365279
<i>Ch. unguicola</i>	CBS 128446		USA	KT214567	KT214598	KT214668	KT214706	KT214744
<b><i>Collariella</i></b>								
<i>Col. bostrychodes</i>	CBS 163.73	<i>Ch. bostrychodes</i>	Dung of antelope, East Africa	KX976641	KX976738	KX976837	-	KX976983

	CBS 586.83		Soil, Germany	KX976642	KX976739	KX976838	-	KX976984
<i>Col. causiiformis</i>	CBS 792.83	<i>Ch. causiiform</i>	Sweatband of helmet liner, Solomon Islands	KX976646	KX976741	KX976840	-	KX976988
<i>Col. carteri</i>	CBS 128.85		Air, British Columbia, Canada	KX976647	KX976742	KX976841	-	KX976989
<i>Col. gracilis</i>	CBS 146.60	<i>Ch. gracile</i>	Soil, Tsu, Mie, Japan	KX976648	KX976743	KX976842	-	KX976990
<i>Col. quadrangulata</i>	CBS 142.58	<i>Ch. quadrangulatum</i>	Soil, French Polynesia	KX976650	KX976745	KX976844	-	KX976992
	CBS 152.59		Dung of rabbit, Derbyshire, Chatsworth Park, England	KX976651	KX976746	KX976845	-	KX976993
<i>Col. robusta</i>	CBS 551.83	<i>Ch. robustum</i>	Litter, Portland Parish, Jamaica	KX976652	KX976747	KX976846	-	KX976994
<i>Col. virescens</i>	CBS 148.68	<i>Ch. virescens</i>	Agricultural soil, Lahore, Pakistan	KX976654	KX976749	KX976848	-	KX976996

**Table 2:** Continued

Taxa	Voucher Number	Previous name	Locations	GenBank Number				
				ITS	LSU	rpb2	tef1	tub2
<b><i>Corynascella</i></b>								
<i>Cor. humicola</i>	CBS 337.72		Soil, Piedmont, North Carolina, USA	KX976656	KX976751	KX976850	-	KX976998
<i>Cor. inaequalis</i>	CBS 331.75	<i>T. inaequalis</i>	Soil, Kirovograd, Ukraine	KP204017	-	MK919363	KP204015	MK919420
<b><i>Dichotomopilus</i></b>								
<i>D. dolichotrichus</i>	CBS 162.48	<i>Ch. dolichotrichum</i>	Great Smoky Mts., USA	HM449049	HM449063	KX976852	KC485023	JF772462
<i>D. erectus</i>	CBS 140.56	<i>Ch. erectum</i>	Petroselinum sativum, USA	HM449044	HM449058	KX976854	KC485018	JF772458
<i>D. funicola</i>	CBS 159.52	<i>Ch. funicola</i>	Germany	GU563369	GU563354	KX976856	KC485013	JF772461
<i>D. fusus</i>	CBS 372.66	<i>Ch. fusum</i>	Leaf litter, Bataan, Costa Rica	KX976660	KX976754	KX976859	KM655466	KX977002
<i>D. indicus</i>	CGMCC 3.14184	<i>Ch. indicum</i>	Rhizosphere of Panax notoginseng, Yunnan, China	GU563367	GU563360	KX976861	KC485005	JF772453
<i>D. pratensis</i>	CBS 133396	<i>Ch. pratense</i>	Soil, Huangnan, Qinghai Province	GU563372	GU563357	KX976866	KC485017	JF772450
<i>D. pseudoerectus</i>	CBS 252.75		Air, Uttar Pradesh, India	KX976667	KX976761	KX976869	-	KX977009
<i>D. pseudofunicola</i>	CBS 142033		Dust, USA	KX976668	KX976762	KX976870	-	KX977010
<i>D. ramosissimus</i>	CGMCC 3.14183	<i>Ch. ramosissimum</i>	Rhizosphere of Panax Notoginseng, Yunnan, China	GU563371	GU563361	KX976871	KC485021	JF772452
<i>D. reflexus</i>	CBS 157.49	<i>Ch. reflexum</i>	Germinating seed, Toledo, Ohio, USA	HM449051	HM449055	KX976873	KC485027	JF772460
<i>D. subfunicola</i>	CGMCC 3.12892	<i>Ch. subfunicola</i>	Soil, Shihezi, Xinjiang Autonomous Region	JX867125	JX867125	KX976875	KC485014	JX867122
<i>D. variostiolatus</i>	CBS 179.84	<i>Ch. variostiolatum</i>	Tarpaulin, New Guinea	KX976672	KX976766	KX976879	-	KX977014
<b><i>Humicola</i></b>								

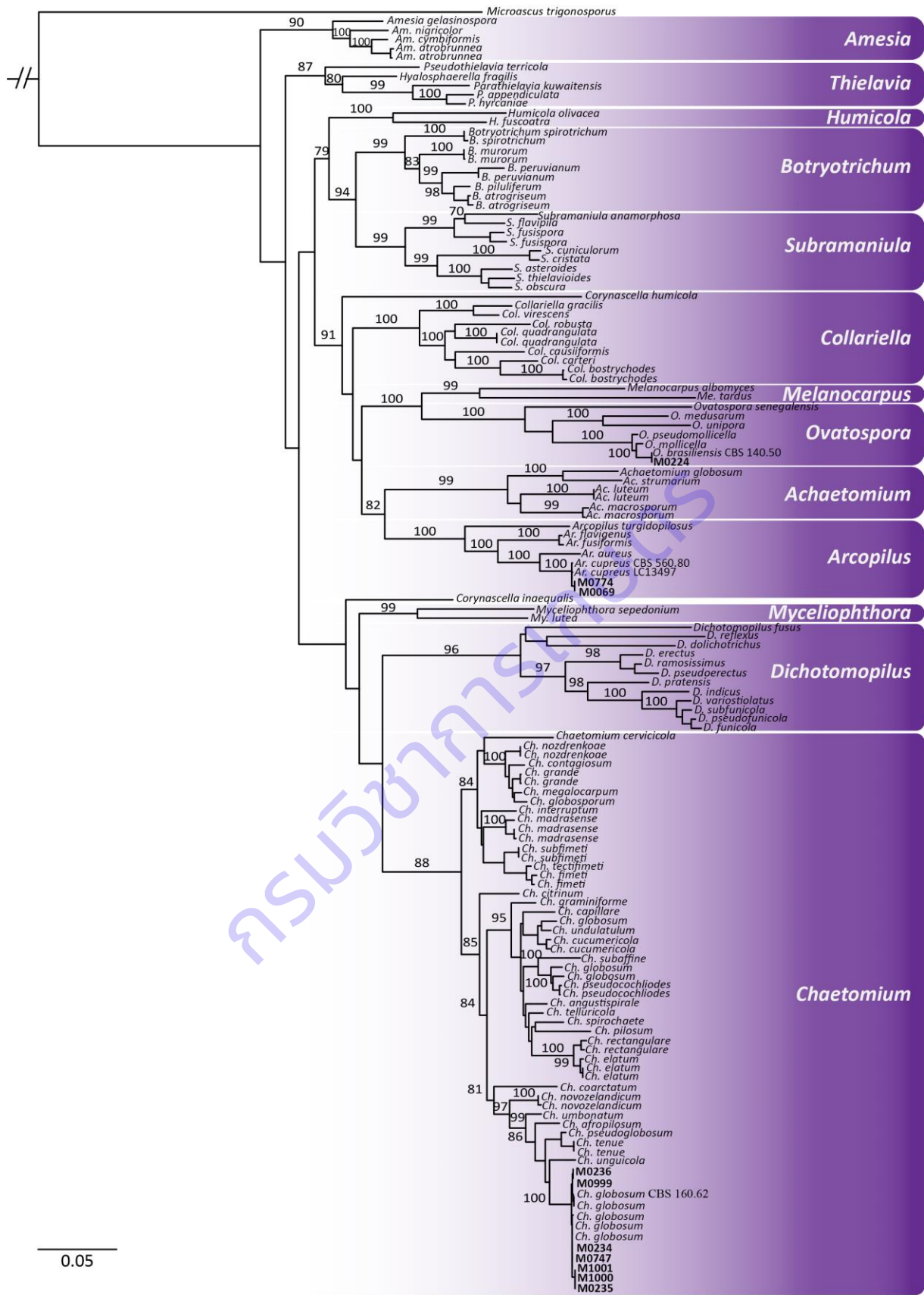


<i>H. fuscoatra</i>	CBS 118.14		Soil, Norway	KX976675	KX976769	KX976882	KM655463	KX977017
<i>H. olivacea</i>	CBS 142031		Dust, USA	KX976676	KX976770	KX976883	-	KX977018
<b>Melanocarpus</b>								
<i>Me. albomyces</i>	ATCC 16460		Chicken nest straw, Nevada, USA	KX976679	KX976773	KX976886	-	KX977021
<i>Me. tardus</i>	CBS 541.76		Cotton jacket, Switzerland	KX976681	KX976775	KX976888	-	KX977023
<b>Myceliophthora</b>								
<i>My. lutea</i>	CBS 145.77		Hay, Newmarket, UK	HQ871775	KM655351	HQ871816	HQ871722	KX977026
<i>My. sepedonium</i>	CBS 111.69	<i>T. sepedonium</i>	Soil, Allahabad, India	HQ871751	KX976777	HQ871827	HQ871734	KX977027

Table 2: Continued

Taxa	Voucher Number	Previous name	Locations	GenBank Number				
				ITS	LSU	rpb2	tef1	tub2
<b>Ovatospora</b>								
<i>O. brasiliensis</i>	CBS 140.50	<i>Ch. brasiliense</i>	Moist jute cloth, Calcutta, India	KX976683	KX976781	KX976896	KM655468	KX977031
	<b>M0224</b>		<i>Citrus maxima</i> , Chaiyaphum, Thailand	this study	this study	this study	this study	this study
<i>O. medusarum</i>	CBS 148.67	<i>Ch. medusarum</i>	Soil, Zaire	KX976684	KX976782	KX976897	-	KX977032
<i>O. mollicella</i>	CBS 583.83	<i>Ch. mollicellum</i>	Dung of spotted skunk, Washington, USA	KX976685	KX976783	KX976898	-	KX977033
<i>O. pseudomollicella</i>	CBS 251.75		Air, Uttar Pradesh, India	KX976686	KX976784	KX976899	-	KX977034
<i>O. senegalensis</i>	CBS 728.84	<i>Ch. senegalense</i>	Plant remains, Senegal	KX976687	KX976785	KX976900	-	KX977035
<i>O. unipora</i>	CBS 109.83	<i>Ch. uniporum</i>	Soil, Egypt	KX976689	KX976787	KX976902	-	KX977037
<b>Subramaniula</b>								
<i>S. anamorphosa</i>	CBS 137114	<i>Ch. anamorphosum</i>	Peritonitis of Homo sapiens, Kuwait	KP862598	KP970641	KP900667	KP900687	KP900704
<i>S. asteroides</i>	CBS 123294		Keratitis of Homo sapiens, USA	HQ906667	JX280731	KP900666	KP900686	KP900703
<i>S. cristata</i>	CBS 156.52	<i>Ch. cristatum</i>	Dung of rabbit, Virginia, USA	KX976690	KX976788	KX976903	KP900674	KX977038
<i>S. cuniculorum</i>	CBS 800.83	<i>Ch. cuniculorum</i>	Soil, Spain	KX976692	KX976790	KX976905	-	KX977040
<i>S. fusispora</i>	CBS 166.61	<i>Ch. fusisporum</i>	Adelaide, Australia	MH869571	NR160087	-	-	-
	CBS 199.84		Dung of marmot, Alberta, Canada	KP862601	KP970645	KP900653	KP900691	KP900707
<i>S. flavipila</i>	CBS 446.66	<i>Ch. irregulare</i>	Dead leaves, Bulgaria	KP862600	KP970647	KP900669	KP900689	KP900706

<i>S. obscura</i>	CBS 132916		Tinea pedis of Homo sapiens, Kuwait	KP862595	KP970653	KP900662	KP900681	KP900700
<i>S. thielavioides</i>	CBS 122.78		Dung of nilgai, Delhi Zoo, India	KP862597	KP970654	KP900670	KP900685	KP900708
<b>Thielavia</b>								
<i>Hyalosphaerella fragilis</i>	CBS 456.73	<i>T. fragilis</i>	Rhizosphere of Pennisetum	KX976693	KX976791	KX976907	-	KX977042
<i>Parathielavia appendiculata</i>	CBS 731.68	<i>T. appendiculata</i>	Dung of rabbit, Wales	KM655330	KM655369	KX976906	KM655460	KX977041
<i>Pa. hyrcaniae</i>	CBS 353.62	<i>T. hyrcaniae</i>	Sand dune soil, Iran	KM655329	KM655368	KX976908	KM655459	KX977043
<i>Pa. kuwaitensis</i>	CBS 945.72	<i>T. kuwaitensis</i>	Desert soil, Kuwait	KM655332	KM655371	KX976909	KM655462	KX977044
<i>Pseudothielavia terricola</i>	CBS 165.88	<i>T. terricola, Ch. terricola</i>	Barren soil, North Carolina, USA	KX976694	KX976792	KX976910	-	KX977045
<b>Outgroup</b>								
<i>Microascus trigonosporus</i>	CBS 218.31		USA	LM652443	HG380436	DQ470908	HG380359	LM652655



**Figure 1:** Phylogram obtained in a maximum likelihood search in RAxML of dataset of ITS-LSU-rpb2-TEF1-TUB2 gene regions. Bootstrap support values ( $\geq 70\%$ ) from 1,000 replicates above nodes.

อนุกรมวิธานและดีเอ็นเอบาร์โค้ดของเชื้อรา *A. cupreus*, *Ch. globosum* และ *O. brasiliensis* มีดังนี้

*Chaetomium cupreum* L.M. Ames, Mycologia 41 (6): 642 (1949)

**Synonymy:**

$\equiv$  *Chaetomium trilaterale* var. *cupreum* (L.M. Ames) J.C. Cooke, Mycologia 65 (5): 1218 (1973)

$\equiv$  *Arcopilus cupreus* (L.M. Ames) X. Wei Wang & Samson, Studies in Mycology 84: 217 (2016)

**Current Name:** *Arcopilus cupreus* (L.M. Ames) X. Wei Wang & Samson, Studies in Mycology 84: 217 (2016)

**Classification**

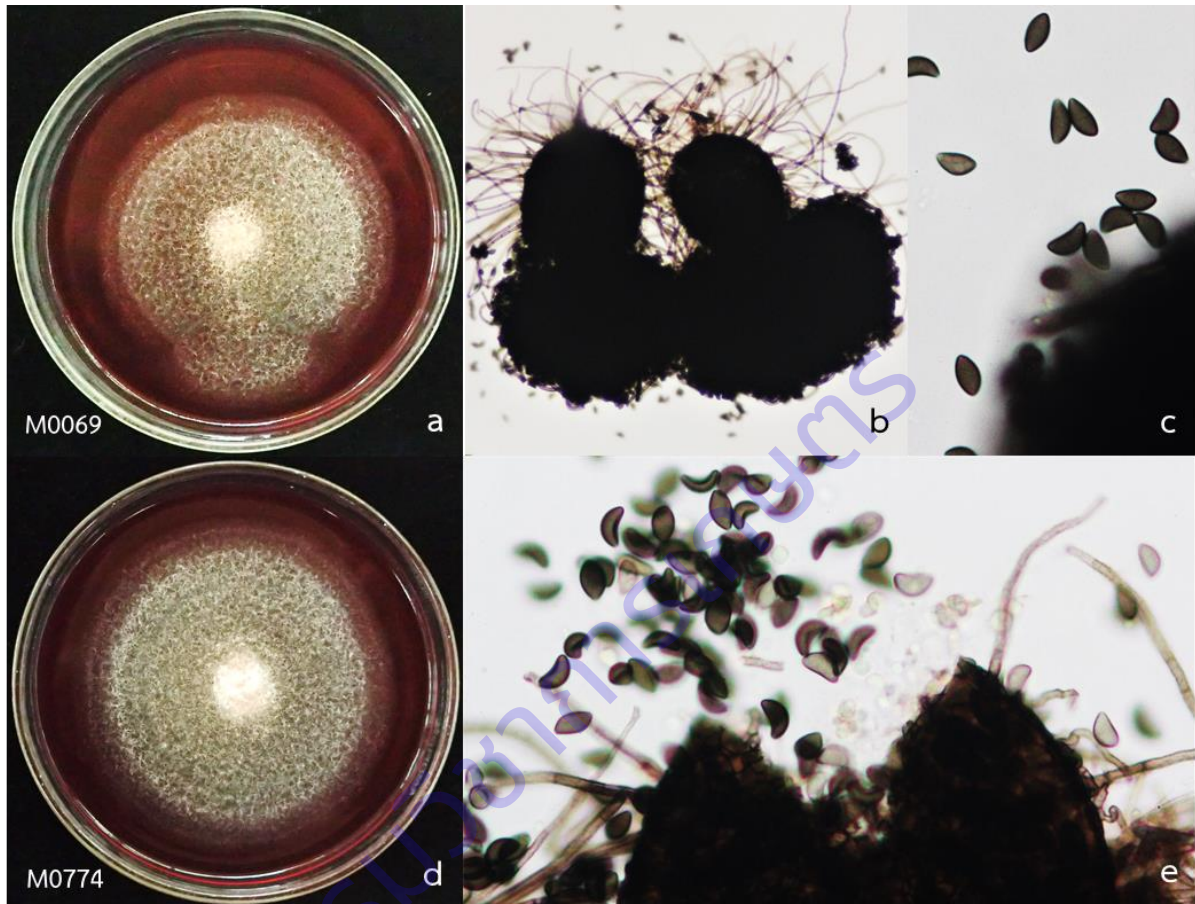
Kingdom	<i>Fungi</i>
Phylum	<i>Ascomycota</i>
Subphylum	<i>Pezizomycotina</i>
Class	<i>Sordariomycetes</i>
Subclass	<i>Sordariomycetidae</i>
Order	<i>Sordariales</i>
Family	<i>Chaetomiaceae</i>
Genus	<i>Arcopilus</i>
Species	<i>cupreus</i>

**ลักษณะของเชื้อ** โคลนินของเชื้อราและ ascomata มีชมพูถึงแดง ascomata รูปร่างคล้ายไข่ ขนาด 79.7-142.7 x 94.7-151.5  $\mu\text{m}$  เส้นของ ascomatal ลักษณะ arcuate ปลายแบบ circinate หรือขด มีผนังกัน asci รูปร่างแบบกระบอกมีสปอร์อยู่ภายในจำนวน 8 ascospores ต่อ ascus สปอร์มีรูปร่างแบบ reniform ขนาด 4.7-6.7 x 6.7-10.0  $\mu\text{m}$  มี apical germ pore 1 รูอยู่ด้านบนสปอร์ (Figure 2)

**Accession No.:** M0069 และ M0774

**หมายเหตุ** - ชื่อวิทยาศาสตร์ปัจจุบันของ *Ch. cupreum* คือ *A. cupreus* (L.M. Ames) X. Wei Wang & Samson, Studies in Mycology 84: 217 (2016)

- การเขียนชื่อวิทยาศาสตร์ในแต่ละระดับของการจัดจำแนกด้านอนุกรมวิธาน (taxonomic ranks) เป็นไปตามข้อแนะนำที่พึงปฏิบัติตาม the International Code of Nomenclature for algae, fungi, and plants (Thine *et al.*, 2020)



**Figure 2:** *Arcopilus cupreus* (syn. *Chaetomium cupreum*)

- a, d. colonies of *A. cupreus* on PDA, presented the red pigment into media;
- b. ascomata subglobose with brown walls (20x)
- c, e. brown ascospores

## ดีเอ็นเอบาร์โค้ด

### Consensus sequences

#### the Internal Transcribed Spacer (ITS)

```
>TTGTGGACGCTACCTTTTAACGTTGCTTCGGCGGGCGGCCCGCTCCCCTGGAAAGCCCCTGTGGCCGCCGGGGCTGCGAGCCCCCGGCCCC
CTCGCGGGGGCGCCCCGCCGAGGATACCCAACCTCTTGATTATTTAGGCCTCTCTGAGTCTTCTGTAAGTAAGTCAAAAACCTTCAACAACGGAT
CTCTTGTTCTTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGACGCACATTGC
GCCCGCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTTTCGAGCGTCATTTCAACCATCAAGCCCCAGGCTTGTGTTGGGGACCTGCGGCTGCCGACGGCCCTG
```

AAATCCAGTGGCGGGTTCGCTGTCACCCCGAGCGTAGTAGCAATATCTCGCTCAGGGCGTGCTGCGGGCACCGGCCGTTAAAAGCTGCCTTCTGGC  
AACACCCAAGGTTGACCTCGGATCAGGTAGG

### **the translation elongation factor 1-alpha (EF1- $\alpha$ )**

>GAGAAGGTTAGTCTACAGTTCTATCTCTATTCTCATGATCTGGGAGTCCCCTCAGTCAGCATCGCATCACAAATCCCTCCATCGCCGCATCA  
TTTTCCGCCATCTCCCGCATTTTCGCTGGGCCTGCCTTTGTGGCTTACCCCTCCCTTATCAAGGCGGGGCAGAAAACCTGATAGCAATTTTTTTT  
GTGGACCGCTTACCCCGCCCTTCCCATCCCCGCCACATCTTAGGTGCCAAGACACAGGGCTGACAGCAGATCACAGGAAGCCGCTGAGCTCGGCA  
AGGGCTCCTTCAAGTATGCGTGGGTTCTTGACAAGCTCAAGGCCGAGCGTGAGCGTGGTATCACCATTGATATCGCCCTCTGGAAGTTCGAGACCC  
CCCAGTACTATGTCACCGTCATCGGTACGTTTTCGCGCCACTCCAGCGCGATGCCCATAGCATCCTGTCTGGCGCACACGCTAACCAAGTTGATTCT  
TGCAGATGCCCCCGCCATCG-TGACTTCATCAAGAACATGATCA

### **the Large Subunit (LSU, 28S)**

>GGGCTCCGCCCTAGGCTTCGTCACTGACCTCCACGGCCGCTACTCCTCAGGGCATCGTTTCTACCCTGAGGGCGGGGTATGGGTGGGACGCTTG  
AGCGCCATCCATTTTCAGGGCTAGTACATTCGGCAGGTGAGTTGTACACAGTCCTTAGCGGATCCGACTTCCATGCCCACCGCTCTGCTGTCAA  
GATGTACTAACGCCTTTTGTGGTGTCTGATGAGCGTCCACTCCGGCACCTTAACCCCGCTTCGGTTCATCCCGCATCGCCAGTTCTGCTTACCAAA  
AATGGCCCACTAGTGTGGTACATTCGAATGCCACGTTCAATTAAGTAACAAGGGCTTCTTACATATTTAAAGTTTGAGAATGGATGAAGGCTAAA  
AAGCGCCCCGAGTCCCTAATCATTTCGCTTTACCTCATAAAACCTGAAGACAACACTGCTATCCTGAGGGAAACTTCGGCGGTAACCAAGCTACTAGA  
TGGTTCGATTAGTCTTTTCGCCCCATGCTCAGATTTGACGATCGATTTGCACGTGAGAACCCTGCGAGCCTCCACCAGAGTTTCTCTGGCTTAC  
CCTATCCAAGCATAGTTCACCATCTTTTCGGGTCCAAGGCTTAACGCTCCTACTCAAATCCATCCGAAAACATCAGGATCGGTGATGATGCGCCGAA  
GCTCTACCTACGTTTCACTTTTATTACGCGTGCAGGTTTTACACCCAAACACTCGCGCAAAACCTTGACTCCTTGGTCCGTGTTTCAAGACGGGTCG  
CTGGTGACCATTACGCCAGCATCCTTGCAGATGCGCGAACCTCGGTCCCCGAGGGCATTGCACCCAGGGCTATAAACTCCCGAGGAGCTACG  
TTCCCTGGGCCTTTATCCCCCGGAGAACCAGTGTGCTGCGCTGAGCCGGGCAGAGTGCACCGGTGAGAACACCGGATGATCAGCCCGCGCAAGT  
CTGGTCACAAGCGCTTCCCTTTCAACAATTTACAGTGTATTTAACTCTTTTCAAAGTGTCTTTTCAATCTTTTCGATCACTTACTTGTGCGTATCG  
GTCTCTGGCCGGTATTTAGCTTTAGAAGAAATTTACCTCCATTTTGAGCAGCATTCCAAACTACTCGACTCGTGAAGGAGCTTTACACAGGCTA  
GGCATCCAATATACGGGGCTCTCACCTCTATGGCGCCCCGTTCCAGGGGACTCAGAAGGTGCCGCGCCTAAAGCTTCTCTGCAAATTTACAACT

### **partial RNA polymerase II second largest subunit (rpb2)**

>TCGTCTCGTGTGTCAGGGCTCGGGAGGAAGAAGTTCATCTCGTTTGAAGTCTCGCTGGTTCGGGACATTGCGATCGCGAGTTCAAGATCTTC  
TCGGATGCGGGACGCGTATGCGGCCGCTTTCACCGTGGAGCAGGAGGACAATGGTTCGAGTGGTGTGGAGAAGGGCCAGCTGATCCTCAACAA  
GGAGCACATTCAGCGGCTCGAGCGGACAAGGAGCTGGCAAGTACCACCCCGACTACTGGGGCTGGAAGGTCTCCTTAAAGTCGGGGCCATCG  
AGTACCTGGATGCCGAGGAGGAAGAGACGGCCATGATCTGCATGACGCCGAGGATCTCGACATGTACCGCCTGAGCAAGATGGGCTTCAGCGTC  
GACGACCACTCTGGTCAAGGCAATAACCGGATCAGGACAAAGACGAACCCGACGACGCACATGTACACGCACTGCGAGATCCACCCAGCATGCTG  
CTCGCATCTGCGGAGCATCATTCCCTTCCCCGACCACAACCA

### **$\beta$ -Tubulin 2 (TUB2)**

>TTCTCTCCCCCGCATTTCTCGCCGACGGGTCCAAGACGCGTCTGGGCTGCATTTTGGGGGCCCTGAAATTACCCACACACTGCGACGACCT  
CCGGCTTCAGAGCCTCCCCGACCTACGCCCGACCCGACCCGCGATGACGCTGTTGGATGGATAGAAACGCGATGCTGACTAGTTCTTCGTGCT  
ACAGGTCCACCTCCAGACCGCCAATGCGTAAGTCGATTCGACTCGAGCTGTGCGACCGACCAGGTGATGCGGTGACTGACACGACGCTCTCCAG  
GGTAACCAAAATCGGTGCCGCTTCTGGTATGTTTAACTGCCGATAATCCAACGTGCGTCAAGGAGGATTCAGATTAACCTTCTCTACAGGCAG  
ACCATCTCGGCGAGCACGGCTTGACAGCAATGGCGTGTATGTACTGTGCGCAGTCCAATTCGGTTAACCCACGCTCACCGCCCTATTAGGT  
ACAACGGCACCTCGGAGCTCCAGCTCGAGCGCATGAACGTCTATTTCAACGAGGTGAGTTGTATTGCGAGGACCCGGGCTCAACAGTAGAGTTCTG  
CTTGCTGACGGCATCTTTTCTGACGGCTCCGGCAACAAGTATGTCCCCGTCGCGTCTGGTGCATCTGGAGCCCGGCACCATGGACGCCGCTCCG  
CGCCGGCCCTTCGGCCAG

*Chaetomium globosum* Kunze ex Fr., Systema Mycologicum 3: 255 (1829)

**Synonymy:**

- ≡*Chaetomium globosum* Kunze, Mykologische Hefte 1: 15, tab. 1, fig. 9 (1817)
- =*Chaetomium globosum* var. *affine* Tschudy (?)
- =*Chaetomium kunzeanum* var. *chlorina* Sacc. (?)
- =*Chaetomium affine* Corda, Icones fungorum hucusque cognitorum 4: 37, tab. 8, fig. 101 (1840)
- =*Chaetomium olivaceum* Cooke & Ellis, Grevillea 6 (39): 96 (1878)
- =*Chaetomium kunzeanum* Zopf (1881)
- =*Chaetomium spirale* Zopf, Nova Acta Academiae Caesareae Leopoldino-Carolinae Germanicae Naturae Curiosorum 42 (5): 275 (1881)
- =*Chaetomium cochlioides* Palliser (1910)
- =*Chaetomium cochliodes* Palliser, North American Flora 3 (1): 61 (1910)
- =*Chaetomidium barbatum* Traaen, Nytt Magazin for Naturvidenskapene 52: 19 (1914)
- =*Chaetomium subterraneum* Swift & Povah, Mycologia 21 (4): 210 (1929)
- =*Chaetomium ochraceum* Tschudy, American Journal of Botany 24: 472 (1937)
- =*Chaetomium fibripilium* L.M. Ames, Mycologia 42 (5): 642 (1950)
- =*Chaetomium mollipilium* L.M. Ames, Mycologia 42 (5): 644 (1950)
- =*Chaetomium lusitanicum* M.R.M. Gomes, Estudos e Informação: 3 (1953)
- =*Chaetomium subglobosum* Sergeeva, Not. syst. Pl. non-vasc.: 172 (1960)
- =*Chaetomium rectum* Sergeeva, Not. syst. Pl. non-vasc.: 143 (1961)
- =*Chaetomium spiculipilium* L.M. Ames, A monograph of the Chaetomiaceae: 37 (1963)

**Classification**

Kingdom	Fungi
Phylum	Ascomycota
Subphylum	Pezizomycotina
Class	Sordariomycetes
Subclass	Sordariomycetidae
Order	Sordariales
Family	Chaetomiaceae
Genus	<i>Chaetomium</i>
Species	<i>globosum</i>

**ลักษณะของเชื้อ** โคโลนีของเชื้อรามีสีเขียวยาวอ่อนถึงเขียวมะกอกเข้ม ascomata ลักษณะกลม จนถึงรูปร่างคล้ายไข่ ความสูง 210-300  $\mu\text{m}$  เส้นผ่าศูนย์กลาง 145-220  $\mu\text{m}$  เริ่มแรก ascomata ไม่มีสี แต่สะท้อนต่อแสงได้ สปอร์อยู่เป็นกลุ่มบน ascomata ascomatal มีลักษณะ translucent ยาว flexuous และ บาง (Figure 3) asci อาจพบได้ไม่บ่อยเนื่องจากลักษณะนี้จะปรากฏและคงอยู่ไม่นาน สปอร์มีสีน้ำตาลเข้ม รูปร่างแบบ biapiculate ขนาด 9.5-11(-11.5)  $\times$  7.5-8.5(-9)  $\mu\text{m}$  มี apical germ pore 1 รูอยู่ด้านบนสปอร์ (Wang *et al.*, 2016)

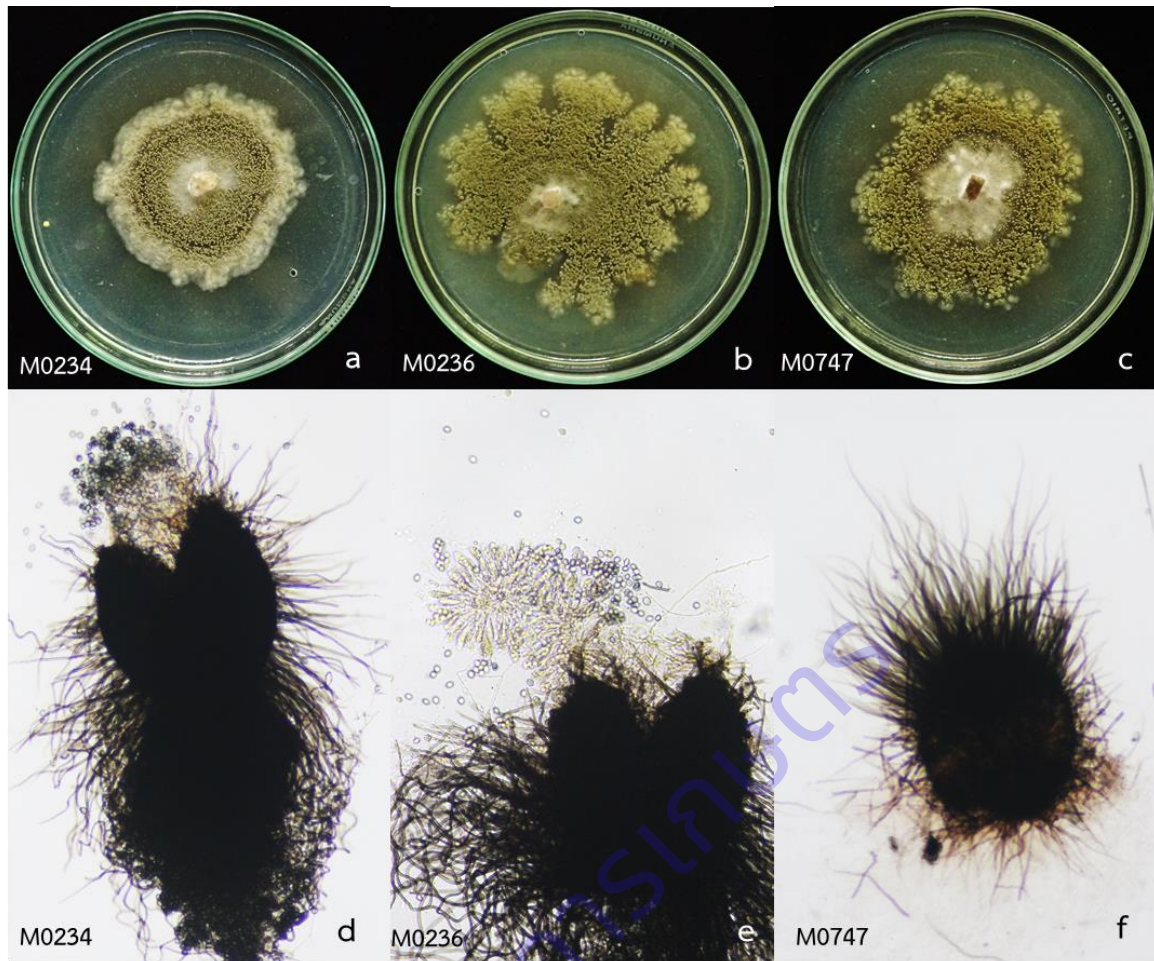
**Accession No.:** M0234, M0235, M0236, M0747, M0999, M1000, M1001, C0501 และ C0502

**หมายเหตุ** - *Chaetomium globosum* เป็น species complex ประกอบไปด้วยอย่างน้อย 12 ชนิด (Wang *et al.*, 2016) จากการศึกษาค้นคว้าพบว่า เชื้อรา *Ch. globosum* ที่ทำการศึกษาคือ *Ch. globosum sensu stricto* (true *Ch. globosum*)

- การเขียนชื่อวิทยาศาสตร์ในแต่ละระดับของการจัดจำแนกด้านอนุกรมวิธาน (taxonomic ranks) เป็นไปตามข้อเสนอแนะที่พึงปฏิบัติตาม the International Code of Nomenclature for algae, fungi, and plants (Thine *et al.*, 2020)

กรมวิชาการเกษตร





**Figure 3:** *Chaetomium globosum*

a-c. colonies of *Ch. globosum* on PDA;

d-f. ascospores superficial, slightly dark olivaceous buff or green (20x)

e. presented asci with 8 brown ascospores inside (20x)

### ดีเอ็นเอบาร์โค้ด

#### Consensus sequences

##### the Internal Transcribed Spacer (ITS)

```
>CAGAGTTGCAAACTCCCTAAACCATTGTGAACGTTACCTATACCGTTGCTTCGGCGGGCGGCCCGGGGTTTACCCCCGGGCGCCCTGGGCC
CCACCGCGGGCGCCCGCGGAGGTCACCAAACCTTTGATAATTTATGGCCTCTCTGAGTCTTCTGTACTGAATAAGTCAAACTTTCAACAACGGAT
CTCTTGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGC
GCCCGCCAGCATTCTGGCGGGCATGCTGTTCGAGCGTCATTTCAACCATCAAGCCCCGGGCTTGTGTTGGGGACCTGCGGCTGCCGAGGCCCT
GAAAAGCAGTGGCGGGCTCGCTGTGCGACCGAGCGTAGTAGCATAACATCTCGCTCTGGTCGCGCCGCGGGTTCCGGCCGTTAAACCACCTTTTAAC
CCAAGGTTGACCTCGGATCAGGTAGGAAGACCCGCTGAACT
```

##### the translation elongation factor 1-alpha (EF1- $\alpha$ )

```
>GATTGCGCTATTCTCATCATCGCCTCTGGTACTGGTGTGAGTTCGAGGCTGGTATCTCCAAGGATGGCCAGACCCGTGAGCACGCTCTGCTCGCCTA
CACCCTGGGTGTCAAGCAGCTCATCGTCGCCATCAACAAGATGGACACCACCAAGTGGTCTGAGGCCCGCTACCAGGAGATCATCAAGGAGACCTC
```

CAACTTCATCAAGAAGGTCGGCTACAACCCCAAGTCCGTTGCCTTCGTCCTATCTCCGGCTTCCACGGCGACAACATGCTTGAGCCCACCACCAA  
CGCTCCTTGGTACAAGGGCTGGGAGAAGGAGGCCAAGGGGGGTGCCAAGGTCACCTGGCAAGACCCTCCTCGAGGCCATCGACTCCATCGAGCCCC  
CCAAGCGTCTACCGACAAGCCGCTCCGCTTCCCTCCAGGATGTGTACAAGATCGGTGGTATCGGAACGGTCCCTGTCGGCCGTATCGAGACTG  
GTATCCTGAAGCCCGGTATGGTCGTACCTTCGCCCTTCCAACGTACCCACGGAAGTCAAGTCCGTCGAGATGCACCACGAGCAGCTTACCGAAG  
GTGTTCCCGCGACAACGTTGGTTTCAACGTCAAGAACGTCTCCGTCAAGGATATTCGCCGTGGCAACGTGCTGGCGACTCCAAGAACGACCCGC  
CCATGGGTGCTGCGTCGTTGACGCTCAGGTCATTGTCCTGAACCACCCCGGCCAGGTCGGTGTGTTACGCCCCGTCTCGACTGCCACACGG  
CCCACATTGCCTGCAAGTTCGCCGAGCTCCAGCAGAAGATCGATCGCCGTACCGGCAAGTCTGTTGAAGACTCGCCCAAGTTCATCAAGTCTGGCC  
ATGCCGCCATCGTCAAGATGATCCCTCCAAGCCATGTGCGTTGAGT

### the Large Subunit (LSU, 28S)

>GGGCTCCGCCCTAGGCTTCGTCACTGACCTCCACGGCCGCTACTCCTCAGGGCATCGTTTCTACCCTGAGGGCGGGGTATGGGTGGGACGCTTG  
AGCGCCATCCATTTTCAGGGCTAGTACATTCGGCAGGTGAGTTGTTACACAGTCTTAGCGGATCCGACTTCCATGGCCACCGTCTGCTGTCAA  
GATGTAATAACGCCTTTTGTGGTGTCTGATGAGCGTCCACTCCGGCACCTTAACCCCGCTTCGGTTCATCCCGCATCGCCAGTTCTGTTACCAAA  
AATGGCCCACTAGTGTGGTACATTCGAATGCCACGTTCAATTAAGTAAACAAGGGCTTCTTACATATTTAAAGTTTGAGAATGGATGAAGGCTAAA  
AAGCGCCCCGAGTCCCTAATCATTGCTTTACCTCATAAACTGAAGACAACACTGCTATCCTGAGGGAAACTTCGGCGGTAACCGACTACTAGA  
TGTTTCGATTAGTCTTTCCGCCCATGCTCAGATTTGACGATCGATTTGCACGTGAGAACCCTGCGAGCCTCCACCAGAGTTTCTCTGGCTTAC  
CCTATCCAAGCATAGTTCACCATCTTTCCGGTCCAAGGCTTAACGCTCCTACTCAAATCCATCCGAAAACATCAGGATCGGTGATGATGCGCCGAA  
GCTCTCACCTACGTTCACTTTTATTACGCTGCGGGTTTTACACCCAAACACTCGCGCAAACCTTGACTCCTTGGTCCGTGTTCAAGACGGGTGCG  
CTGGTGACCATTACGCCAGCATCTTGCAGATGCGCGAACCTCGTCCCCGCGAGGGCATTGCAACCAGGGCTATAACACTCCCGGAGGAGCTACG  
TTCCCTGGGCCTTTATCCCCCGGAGAACCGATGCTGGCCTGAGCCGGGAGAGTGCACCGGTGAGAACACCGGATGATCAGCCCGGCGCAAGT  
CTGGTCACAAGCGCTTCCCTTTCAACAATTTACGCTGCTATTTAACCTCTTTTCAAAGTGTCTTTTCACTTTTCGATCACTCTACTGTGCGCTATCG  
GTCTCTGGCCGTATTTAGCTTTAGAAGAAATTTACCTCCATTTTGAGCAGCATTTCCAAACTACTCGACTCGTGAAGGAGCTTTACACAGGCTA  
GGCATCCAACATACGGGGCTCTACCCTCTATGGCGCCCCGTTCCAGGGGACTCAGAAGGTGCCGCGCCTAAAGCTTCTCTGCAAATTAACAAT

### partial RNA polymerase II second largest subunit (rpb2)

>CGCTGGTTCAGGGGCTGCGGAGAAAGAACGTTATCTCGTTTGGAGTTTCGCTCGTTAGAGACATCCGCGACCGTGAGTTCAAGATCTTTTCAGAT  
GCGGGTGGGTGATGAGGCCGCTGTTACGGTGGAGCAAGAACCGAATGGCGAGAGCGGCGCTGAGATGGGCGCACTGATCCTGAACAAGGATCA  
TATTGGGCGCCTGAAGATGGACGCAGAGCTGGGCAAATACCACCCGGACTACTGGGGCTGGCAAGGCCTGTTGAAGTCGGGCGCTATTGAGTATCT  
TGATGCTGAGGAGGAGGAGACGGTCATGATCTGCATGACCCCCAGGATCTTGATCAGTTCCGTGCCCGCAAGATGGGAAGGATCGAGCCGGACA  
ACTCCGGTTGGGCAATAACCGGATCAAGACGAAACCAAATCCGACAACCTCACATGTACACGCACTGCGAGATCCATCCGAGCATGCTCCTCGGCA  
TCTGCGCAAGCATCATCCCTTTCTGATCATAACCAATCGCCCAGGAACACATACCAGTCCGCCATGGGCAAGCAGGCGATGGG

### $\beta$ -Tubulin 2 (TUB2)

>GGCCTCTGAACTACCCCACTCATCGGGACGACCCTCATTTCCACAGCTCCTGACGGATAGCAACACGACGATGATGCGAAGCTTGATGATGCTGA  
CTGCTTTTTCTACTATAGGTTACCTCCAGACCGGCCAGTGCCTAAGTTGACCGAATTGAACATTACGACCGACCGCCGCGCAGGATAACTGA  
CATGGAGCTCTTAGGTAACCAAATCGGTGCCGCTTTCTGGTACGTCCAAGCAAAGCAAACACTTTGGCTGATGACAATCGAGACTGACTTCTTT  
TCAGGCAGACCATCTCTGGCGAGCACGGCCTCGACAGCAATGGCGTGTATGTGGCATGACAGTTCCCAACCGATAAATCCCCGCTCACCGCTTCG  
ATAGGTACAACGGCACCTCCGAGCTCCAGCTCGAGCGTATGAACGTGTACTTCAACGAGGTCAGTCGGGTCAAATAATTTTACACGACCGAGTGAT  
GGCGTGCTCATAGTATTATACAGGCTTCCGGCAACAAGTATGTTCTCGCGCTGTCTCGTGCAGTTGGAGCCCGGACCATGGATGCCGTCCGTG  
CCGGCCCCCTCGGCCAGCTTCCG

*Ovatospora brasiliensis* (Bat. & Pontual) X. Wei Wang & Samson, *Studies in Mycology* 84: 207  
(2016)

## Synonymy:

- ≡*Chaetomium brasiliense* Bat. & Pontual, Boletim da Secretaria de Agricultura Indústria e Comércio do Estado de Pernambuco 15: 70 (1948)
- =*Chaetomium alba-arenulum* L.M. Ames, A monograph of the Chaetomiaceae: 10 (1963)
- =*Chaetomium congoense* L.M. Ames, A monograph of the Chaetomiaceae: 18 (1963)
- =*Chaetomium fuscum* Basu (?)
- =*Chaetomium alba-avenulum* L.M. Ames (1963)

## Classification

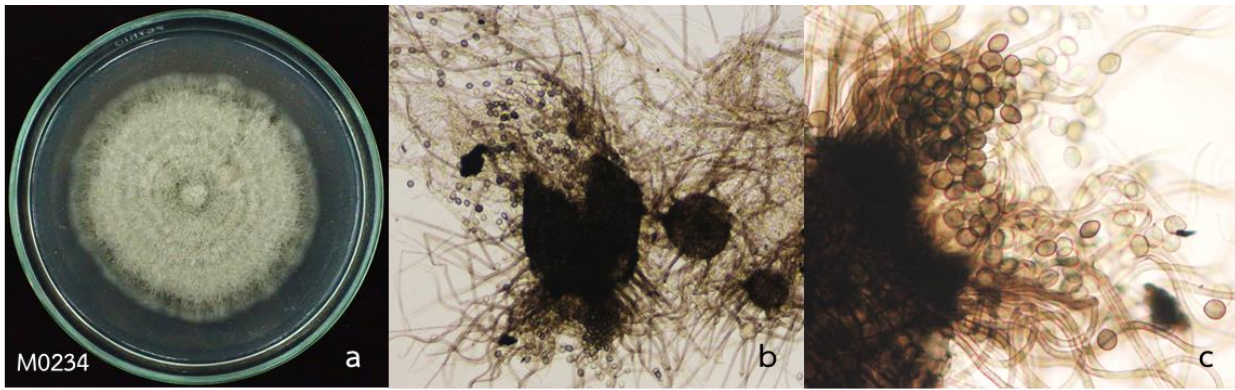
Kingdom	Fungi
Phylum	Ascomycota
Subphylum	Pezizomycotina
Class	Sordariomycetes
Subclass	Sordariomycetidae
Order	Sordariales
Family	Chaetomiaceae
Genus	<i>Ovatospora</i>
Species	<i>brasiliensis</i>

**ลักษณะของเชื้อ** โคลนินของเชื้อรามีเทาอ่อนถึงเทาเข้ม ascomata ลักษณะกลม หรือกลมแบนเล็กน้อย ความสูง 85-135 µm เส้นผ่าศูนย์กลาง 75-110 µm เริ่มแรก ascomata ไม่มีสี แต่สะท้อนต่อแสงได้ สปอร์อยู่เป็นกลุ่มบน ascomata ascomatal มีสีน้ำตาล เป็นแบบ septate (Figure 4) asci แบบ cylindrical ascospores มีสีน้ำตาลเขียว รูปร่างคล้ายไข่ ลักษณะ bilaterally flattened ขนาด (6.5 –)7 – 7.5(– 8) × (5.5– ) 6–6.5(–7) × (4.5–)5–5.5(–6) µm มี apical germ pore 1 รูอยู่ด้านบนสปอร์ (Wang *et al.*, 2016)

**Accession No.:** M0224

**หมายเหตุ** - *Ovatospora brasiliensis* เป็น type species ของเชื้อราสกุล *Ovatospora* แต่เดิมเชื้อราชนิดนี้ เคยจำแนกเป็น *Ch. brasiliensis*

- การเขียนชื่อวิทยาศาสตร์ในแต่ละระดับของการจัดจำแนกด้านอนุกรมวิธาน (taxonomic ranks) เป็นไปตามข้อแนะนำที่พึงปฏิบัติตาม the International Code of Nomenclature for algae, fungi, and plants (Thine *et al.*, 2020)



**Figure 4:** *Ovatospora brasiliensis* (syn. *Chaetomium brasiliensis*)

- a. colonies of *O. brasiliensis* on PDA;
- b. ascomata pale olivaceous grey to mouse grey (10x)
- c. ascospores olivaceous brown when mature, ovate (40x)

## ดีเอ็นเอบาร์โค้ด

### Consensus sequences

#### the Internal Transcribed Spacer (ITS)

```
>AAAGAGTTGCAAACTCCCTAAACCATTGTGAACCTACCTTCAACCGTTGCTTCGGCGGGTTGGCACCGGGTCTCCCGGGCCCCGGCCCCCTC
GCGGGGGCGGCCCGGAGGTACCTAACTCTTGAACATTGTATGGCCTCTCTGAGTCTTCTGTAAGTAAGTCAAACTTTCAACAACGGATCT
CTTGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCG
CCCCCAGTATTCTGGCGGCATGCCTGTTGAGCGTCAATTTCAACCATCAAGCCCCGGGCTTGTGTTGGGGACCTGCGGCTGCCGAGGCCCTGA
AATGCAGTGGCGGGCTCGCTGTACACCGAGCGTAGTAGCATTATCTCGCTCTGGGCGTGTGCGTGTCCCGGCCGTA AACGACCTTACACCCAA
GGTTGACCTCGGATCAGGTAGGAAGACCCGCTGAAC
```

#### the translation elongation factor 1-alpha (EF1- $\alpha$ )

```
>GGCCGACTGCGCCATTCTCATCATTGCCGCTGGTACTGGTGAGTTCGAGGCTGGTATCTCCAAGGATGGCCAGACCCGTGAGCAGCTCTGCTCG
CCTACACCTCGGTGTGAAGCAGCTCATCGTCGCCATCAACAAGATGGACACCACCAAGTGGTCCGAGGACCGCTACAACGAGATCATCAAGGAGA
CCTCCAATTCATCAAGAAGGTGCGCTACAACCCCAAGGCTGTTGCCTTCGTCGCCATCTCGGGTTTCCATGGCGACAACATGCTTGAGCCCACTA
CCAACGCTCCCTGGTACAAGGGCTGGTCCCGGAGAGCGGCTCCAACAAGTTCTCCGCAAGACCCCTCCTTGAGGCCATCGACTCGATCGAGCCCC
CCAAGCGTCCACCGACAAGCCCCCTCCGCTTCCCTCCAGGACGTGTACAAGATTGGCGGTATCGGCACTGTCCCCGTGCGCCGTATCGAGACTG
GTGTCCTCAAGCCCGCATGTTGTACCTTCGCTCCCTCCAACGTCACCACTGAAGTCAAGTCCGTCGAGATGCACCACGAG
```

#### the Large Subunit (LSU, 28S)

```
>ATATCAATAAGCGGAGGAAAAGAAACCAACAGGGATTGCCCTAGTAACGGCGAGTGAAGCGGCAACAGCTCAAATTTGAAATCTGGCCTCGGCC
GAGTTGTAATTTGTAGAGGATGCTTTAGCGCGGCTCCTTCTGAGTGCCTTGAACGGGACGCCACAGAGGGTGAAGAGCCCCGTATAGTTGGAAGC
CTAGCCTGTGTAAGCTCCTTCGACGAGTCGAGTAGTTTGGGAATGCTGCTCAAATGGGAGGTAATTTCTTCTAAAGTAAATACCGCCAGAG
ACCGATAGCGCACAAGTAGAGTGATCGAAAGATGAAAAGCACTTTGAAAAGAGGGTTAAATAGCACGTGAAATTTGTTGAAAGGGAAGCGCTTGTGA
CCAGACTTGGCGCGGCTGATCATCCGGAGTTCTTCCGGTGCACCTGCCCCGGCTCAGGCCAGCATCGGTTCTCGCGGGGGGATAAAGGCCCTCG
GGAACGTAGCTCCTCCGGGAGTGTATAGCCCGGGCGTAATGCCCTCGCGGGGACCGAGGTTCCGCGCATCTGC
```

## partial RNA polymerase II second largest subunit (rpb2)

```
>CGTCTCGCTTGTCCAGAACCTTCGCCGGAAGAACGTCATTTCTTCGAGGTTTCGCTGGTCCGCGATATCCGCGATCGCGAGTTCAAGATTTTCTC  
GGACGCTGGGCGCGTGATGAGGCCGCTCTACACCGTGGAGCAGGAAGAGAATGGCGAGAACGACGTCGAGAAGGGCCAGCTCATCCTACCAAGA  
AGCACATCGAGAACCTGGAGCGGGACAAGGAGCTCGGCAAATACCACCCGATTACTGGGGTTGGCCAGGCCTCCTGAGATCGGGTGCCATTGAG  
TACCTCGATGCCGAGGAGGAAGAGACGGCCATGATCTGCATGACCCAGAGGATCTCGACATGTACCGGCTTGCCAACTAGGCTTCTCCGTCTCG  
GACAACTCTGGAGTGGGCAACAACCGGATCAGGACCAAGATGAATCCGACAACCTCACATGTACACACTGTGAGATTACCCAGCATGTTGCTC  
GGTATCTGTGCGAGCATTATTCTTTCCCGACCAACCA
```

## β-Tubulin 2 (TUB2)

```
>CGCGTCGGGGAAGCTACTTTTTTTCTCGGTTCCCTGGATCTACCCACACTCTCGGGATGTGGCCGTTCCACACCCGACCTTCCTGACCGACA  
GTCGAAGGGCGACGGCACCGCTCGACGACGCGAAGAGGCATGATGCTGACTTTACTTTCTCTCTACAGGTTACCTCCAGACCGGCCAATGCGTA  
AGTGGACGAACATCGCCACGGGCGAACGATGGCGTGGTGTGATGGGGTGGACTGACATTGAGCTTCCAGGTAACCAAATGGTGCCGCCTTTTGGT  
ATGTTTGAATCCGAAATCAAGATCCGTTTGTATCCAAGGTCATCGAGACTGACTCTCCATTACAGGCAGACCATCTCCGGCGAGCACGGCCTCGA  
TAGCAACGGCGTGTATGTGACTGTCGCGATCCCCGACTCGGTTATTCCTCGCTCACCACCGCCACAGGTACAATGGAACCTCTGAGCTCCAGCTC  
GAGCGCATGAACGTCTACTTCAACGAGGTGAGTGGGATTGAATACATACCGACGAGATTTTGTGGGAGGGTGTACTGACCGCCACTCCGCTCC  
AGGCTTCCGGCAACAAGTATGTCCTCGCGCCGTCCTGGTCGACTTGGAGCCCGGCACCATGGACGCTGTCCGTGCCGGCCCTTCGGCCAGC
```

## 9. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

การศึกษาครั้งนี้ได้ข้อมูลลักษณะทางสัณฐานวิทยาและดีเอ็นเอบาร์โค้ดของเชื้อรา *Arcopilus cupreus* (syn. *Chaetomium cupreum*) และ *Chaetomium globosum* และยังได้ไอโซลทของเชื้อรา *Ovatospora brasiliensis* (syn. *Chaetomium brasiliensis*) เพิ่มเติม โดยดีเอ็นเอบาร์โค้ดจำนวน 5 ตำแหน่ง ได้แก่ the Internal Transcribed Spacer (ITS), the translation elongation factor 1-alpha (EF1- $\alpha$ ), the Large Subunit (LSU, 28S), Partial RNA polymerase II second largest subunit (rpb2) และ  $\beta$ -Tubulin 2 (TUB2) เพื่อเป็นฐานข้อมูลในการตรวจสอบชนิดของเชื้อรา ตรวจสอบความถูกต้องของชนิดเชื้อรา *Chaetomium* ที่มีการขอขึ้นทะเบียนสารชีวภัณฑ์กับกรมวิชาการเกษตร ซึ่งจะก่อให้เกิดประโยชน์สูงสุดต่อผู้ใช้สารชีวภัณฑ์เชื้อรา *Chaetomium* โดยเฉพาะอย่างยิ่งต่อเกษตรกร อีกทั้งข้อมูลลักษณะทางด้านพันธุกรรม (DNA) ที่ได้จากการศึกษาเป็นประโยชน์ทางการศึกษาในหน่วยงานราชการ เช่น กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ สถาบันการศึกษา และหน่วยงานเอกชน โดยสามารถใช้เป็นข้อมูลพื้นฐาน เพื่อศึกษาความหลากหลายและวิวัฒนาการของเชื้อรา *Chaetomium* ในประเทศไทย รวมถึงสามารถใช้เป็นข้อมูลและองค์ความรู้เพื่อใช้ในการต่อยอดงานวิจัยวิจัย เช่น การออกแบบไพรเมอร์จำเพาะเพื่อการตรวจสอบชนิดที่แม่นยำและรวดเร็ว

## 10. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

10.1 ได้ดีเอ็นเอบาร์โค้ดมาตรฐานของเชื้อรา *Arcopilus cupreus* (syn. *Chaetomium cupreum*) และ *Chaetomium globosum* เพื่อใช้เปรียบเทียบและตรวจสอบความถูกต้องของชนิดเชื้อราในสารชีวภัณฑ์ที่นำมาขึ้นทะเบียนสารชีวภัณฑ์กับกรมวิชาการเกษตร โดยจะช่วยลดความเสี่ยงในการใช้ชนิดของสารชีวภัณฑ์ที่ไม่

ถูกต้องหรือไม่เป็นไปตามวัตถุประสงค์ ซึ่งจะส่งผลกระทบต่อผลประสิทธิภาพและความยั่งยืนของการควบคุมเชื้อสาเหตุโรครากพืช

10.2 สามารถเผยแพร่ผลงานวิจัยในรายงานประจำปีของสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร รวมถึงงานประชุมวิชาการระดับชาติ หรือนานาชาติ

## 11. คำขอบคุณ

ขอขอบคุณสมาชิก กลุ่มงานวิทยาไมโค กลุ่มวิจัยโรครากพืช ที่ให้ความร่วมมือและความช่วยเหลือในการเก็บตัวอย่าง การดำเนินการทดลอง และการเก็บข้อมูล รวมถึงกำลังใจที่มีให้กันเสมอมา

## 12. เอกสารอ้างอิง

- Asgari, B. and R. Zare. 2011. The genus *Chaetomium* in Iran, a phylogenetic study including six new species. *Mycologia* 103: 863-882.
- Carbone, I. and L.M. Kohn. 1999. A method for designing primer sets for speciation studies in filamentous ascomycetes. *Mycologia* 91: 553-556.
- Di-Pietro, A., R. Kung, M. Gutrella and F.J. Schwinn. 1991. Parameters influencing the efficacy of *Chaetomium globosum* in controlling *Pythium ultimum* damping-off of sugar beet. *Journal of Plant Disease and Protection* 98: 565-573.
- Doungsa-ard, C., A.R. McTaggart, A.D.W. Geering, T.U. Dalisay, J. Ray and R.G. Shivas. 2015. *Uromycladium falcatarium* sp. nov., the cause of gall rust on *Paraserianthes falcataria* in south-east Asia. *Australasian Plant Pathology* 44:25-30.
- Doveri, F. 2013. An additional update on the genus *Chaetomium* with descriptions of two coprophilous species, new to Italy. *Mycosphere* 4: 820-846.
- Druzhinina, I.S., C.P. Kubicek, M. Komon-Zelazowska, T.B. Mulaw and J. Bissett. 2010. The *Trichoderma harzianum* demon: complex speciation history resulting in coexistence of hypothetical biological species, recent agamospecies and numerous relict lineages. *BMC evolutionary biology* 10: 94-94.
- Gené, J. and J. Guarro. 1996. A new *Chaetomium* from Thailand. *Mycological Research* 100: 1005-1009.
- Glass, N.L. and G.C. Donaldson. 1995. Development of primer sets designed for use with the PCR to amplify conserved gene from filamentous ascomycetes. *Applied and Environmental Microbiology* 61: 1323-1330.
- Greif, M.D., A.M. Stchigel and S.M. Huhndorf. 2009. A re-evaluation of genus *Chaetomium* based on molecular and morphological characters. *Mycologia* 101: 554-564.

- de Hoog, G.S. and A.H.G. Gerrits van den Ende. 1998. Molecular diagnostics of clinical strains of filamentous basidiomycetes. *Mycosciences* 41: 183-189.
- Kearse, M., R. Moir, A. Wilson, S. Stones-Havas, M. Cheung, S. Sturrock, S. Buxton, A. Cooper, S. Markowitz, C. Duran, T. Thierer, B. Ashton, P. Mentjies and A. Drummond. 2012. Geneious Basic: an integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data. *Bioinformatics* 28(12): 1647-1649.
- Kindermann, J., Y. El-Ayouti, G.J. Samuels and C.P. Kubicek. 1998. Phylogeny of the genus *Trichoderma* based on sequence analysis of the Internal Transcribed Spacer region 1 of the rDNA cluster. *Fungal Genetics and Biology* 24: 298-309.
- Kumar, S., G. Stecher, M. Li, C. Knyaz and K. Tamura. 2018. MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution* 35:1547-1549.
- Lee, S. and R.T. Hanlin. 1999. Phylogenetic relationships of *Chaetomium* and similar genera based on ribosomal DNA sequences. *Mycologia* 91: 434-442.
- Liu, K.L., A. Porras-Alfaro, C.R. Kuske, S.A. Eichorst and G. Xie. 2012. Accurate, rapid taxonomic classification of fungal large-subunit rRNA genes. *Applied and Environmental Microbiology* 78: 1523-1533.
- Liu, Y.J., S. Whelen and B.D. Hall. 2000. Phylogenetic relationships among ascomycetes: evidence from an RNA polymerase II subunit. *Molecular Biology and Evolution* 16:1799-1808.
- Mbarga, J.B., G.M. Ten Hoopen, J. Kuate, A. Adiobo, M.E.L. Ngonkeu, Z. Ambang, A. Akoa, P.R. Tondje and B.A.D. Begoude. 2012. *Trichoderma asperellum*: A potential biocontrol agent for *Pythium myriotylum*, causal agent of cocoyam (*Xanthosoma sagittifolium*) root rot disease in Cameroon. *Crop Protection* 36: 18-22.
- Mycobank. 2020. *Chaetomiaceae*. (online data). source: <https://www.mycobank.org/page/Simple%20names%20search> (18 February 2564).
- Nylander, J.A., J.C. Wilgenbusch, D.L. Warren and D.L. Swofford. 2008. AWTY (are we there yet?): a system for graphical exploration of MCMC convergence in Bayesian phylogenetics. *Bioinformatics* 24: 581-583.
- O'Donnell, K and E. Cigelnik. 1997. Two divergent intragenomic rDNA ITS2 types within a monophyletic lineage of the fungus *Fusarium* are nonorthologous. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 7: 103-116. doi.10.1006/mpev.1996.0376.

- O'Donnell, K., H.C. Kistler, E. Cigelnik and R.C. Ploetz. 1998. Multiple evolutionary origins of the fungus causing Panama disease of banana: concordant evidence from nuclear and mitochondrial gene genealogies. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 95: 2044–2049.
- Petchanart, V. and K. Soyong. 1991. *Chaetomium* in soil under para rubber. Songklanakarin. *Journal of Science and Technology* 13: 129-132.
- Pornsuriya, C., K. Soyong, S. Poeaim, S. Kanokmedhakul, P. Khumkomkhet, F. Lin, H.K. Wang and K.D. Hyde. 2011. *Chaetomium siamense* sp. nov., a soil isolate from Thailand, produces a new chaetoviridin, G. *Mycotaxon* 115: 19-27.
- Pornsuriya, C., F.C. Lin, S. Kanokmedhakul and K. Soyong. 2008. New record of *Chaetomium* species isolated from soil under pineapple plantation in Thailand. *Journal of Agriculture Technology* 4: 91-103.
- Rodríguez, K., A. Stchigel and J. Guarro. 2002. Three new species of *Chaetomium* from soil. *Mycologia* 94: 116-126.
- Ronquist, F. and J.P. Huelsenbeck. 2003. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics* 19: 1572-1574.
- Samuels, G.J., S.L. Dodd, W. Gams, L.A. Castlebury and O. Petrini. 2002. *Trichoderma* species associated with the green mold epidemic of commercially grown *Agaricus bisporus*. *Mycologia* 94: 146-170.
- Samuels, G.J., S.L. Dodd, B. Lu, O. Petrini, H.J. Schroers and I.S. Druzhinina. 2006. The *Trichoderma koningii* aggregate species. *Studies in Mycology* 56: 67-133.
- de los Santos-Villalobos, S. D.A., Guzmán-Ortiz, M.A. Gómez-Lim, J.P. Délano-Frier, S. de-Folter, P. Sánchez-García and J.J. Peña-Cabriales. 2013. Potential use of *Trichoderma asperellum* (Samuels, Liechfeldt et Nirenberg) T8 a as a biological control agent against anthracnose in mango (*Mangifera indica* L.). *Biological Control* 64: 37-44.
- Stamatakis, A. 2014. RAxML version 8: a tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies. *Bioinformatics* 30: 1312-1313.
- Somrithipol, S. 2004. Coprophilus fungi. In: Thai fungal diversity (eds. E.B.G Jones, M. Tanticharoen and K.D. Hyde). *BIOTEC, Thailand*, 119-128.
- Somrithipol, S., N.L. Hywel-Jones and E.B.G. Jones. 2004. Seed fungi. In: Thai fungal diversity (eds. E.B.G Jones, M. Tanticharoen and K.D. Hyde). *BIOTEC, Thailand*, 129-140.
- Soyong, K. 1990. A taxonomic study of *Chaetomium* spp. in Thailand. Abstract, 4th International Mycological Congress, Regensburg, Germany, August 28-September 3, 1990.



- Soytong, K. 1991. Species of *Chaetomium* in Thailand soils. *Thai Phytophathology* 11, 3-4.
- Soytong, K., S. Kanokmedhakul, V. Kukongviriyapa and M. Isobe. 2001. Application of *Chaetomium* species (Ketomium) as a new broad spectrum biological fungicide for plant disease control: A review article. *Fungal Diversity* 7: 1-15.
- Stamatakis, A. 2014. RAxML version 8: a tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies. *Bioinformatics* 30: 1312-1313.
- Talavera, G. and J. Castresana. 2007. Improvement of phylogenies after removing divergent and ambiguously aligned blocks from protein sequence alignments. *Systematic Biology* 56: 564-577.
- Thines, M., T. Aoki, P.W. Crous, K.D. Hyde, R. Lücking, E. Malosso, T. W. May, A.N. Miller, S.A. Redhead, A.M. Yurkov and D.L. Hawksworth. 2020. Setting scientific names at all taxonomic ranks in italics facilitates their quick recognition in scientific papers. *IMA Fungus* 11: 1-5.
- Udagawa, S. 1973. Three new species *Chaetomium* species from Thailand soil. *Report of the Tottori Mycological Institute* 10: 429-435.
- Untereiner, W.A., V. Debois and F.A. Naveau. 2001. Molecular systematics of the ascomycetes genus *Farrowia* (*Chaetomiaceae*). *Canadian Journal of Botany* 79: 321-333.
- Vilgalys, R. and M. Hester. 1990. Rapid genetic identification and mapping of enzymatically amplified ribosomal DNA from several *Cryptococcus* species. *Journal of Bacteriology* 172: 4238-4246.
- von Arx, J.A., J. Guarro and M.J. Figueras. 1986. The Ascomycetes genus *Chaetomium*. *Beih Nova Hedwigia* 84: 1-162.
- Wang, X.W., J. Houbraken, J.Z. Groenewald, M. Meijer, B. Andersen, K.F. Nielsen, P.W. Crous and R.A. Samson. 2016a. Diversity and taxonomy of *Chaetomium* and chaetomium-like fungi from indoor environments. *Studies in Mycology* 84: 145-224.
- Wang, X.W., L. Lombard, J.Z. Groenewald, J. Li, S.I.R. Videira, R.A. Samson, X.Z. Liu and P.W. Crous. 2016b. Phylogenetic reassessment of the *Chaetomium globosum* species complex. *Persoonia* 36: 83-133.
- Wang, X.W., X.L. Wang, F.J. Liu, X.M. Zhao, J. Li and L. Cai. 2014. Phylogenetic assessment of *Chaetomium indicum* and allied species, with the introduction of three new species and epitypification of *C. funicola* and *C. indicum*. *Mycological Progress* 13: 719-732.

- Wang, X.W. and R.Y. Zheng. 2005a. *Chaetomium acropullum* sp. nov. (*Chaetomiaceae*, *Ascomycota*), a new psychrotolerant mesophilic species from China. *Nova Hedwigia* 80: 413-417.
- Wang, X.W. and R.Y. Zheng. 2005b. *Chaetomium ampulliellum* sp. nov. (*Chaetomiaceae*, *Ascomycota*) and similar species from China. *Nova Hedwigia* 81: 247-255.
- White, T.J., T. Bruns, S. Lee and J. Taylor. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In "PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications" (M. Innis, D. Gelfand, J. Shinsky and T. White, eds.), Academic Press. 315-322 pp.
- Yeh, C.C. and J.B. Sinclair. 1980. Effect of *Chaetomium cuprerum* on seed germination and antagonism to other seedborne fungi of soybean. *Plant Disease* 64: 468-470.

กรมวิชาการเกษตร