การสำรวจและคัดเลือกเชื้อราในดินเพื่อทดสอบศักยภาพในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม (*Meloidogyne incognita*) ได้แยกเชื้อราจากตัวอย่างดินและกลุ่มไข่ไส้เดือนฝอยรากปมจากแหล่งปลูกที่มีปัญหาโรครากปมในพื้นที่ต่างๆของภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนล่าง สามารถแยกเชื้อราจากดินทั้งแปลงพบโรคและไม่พบโรคได้จำนวน 1,207 ไอโซเลต และจากกลุ่มไข่ได้จำนวน 628 ไอโซเลต เมื่อนำเชื้อราทั้งหมดจำนวน 1,835 ไอโซเลตไปทดสอบการเข้าทำลายกลุ่มไข่ (egg mass) ของไส้เดือนฝอยรากปมในห้องปฏิบัติการ สามารถคัดเลือกเชื้อราที่เส้นใยเจริญเติบโตบนกลุ่มไข่ได้ดีได้จำนวน 60 ไอโซเลต ไปทดสอบการเป็นปรสิตต่อไข่ (eggs) ของไส้เดือนฝอยรากปมในห้องปฏิบัติการ และทดสอบการควบคุมการเกิดปมที่รากถั่วเขียวในสภาพโรงเรือน สามารถคัดเลือกได้เชื้อราที่มีประสิทธิภาพได้จำนวน 11 ไอโซเลต ได้แก่ เชื้อ *Lecanicillium tenuipes* ไอโซเลต SYT46-11 และ SNM01-06, *Pochonia chlamydosporia* ไอโซเลต EUB26-02, EUB26-08, EUB26-02 และ EYT35-09, *Talaromyces flavus* ไอโซเลต SSK49-07, *Penicillium marneffe*, ไอโซเลต SUB33-13, *Trichoderma* sp. ไอโซเลต ESR56-06, *Paecilomyces* sp. ไอโซเลต SSR53-09 และ EUB48-06 เมื่อนำเชื้อราทั้ง 11 ไอโซเลตรวมทั้งเชื้อรา *Paecilomyces lilacinus* จากศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ ไปทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมโรครากปมพริกพันธุ์หัวเรือที่ปลูกในกระถางในสภาพเรือนทดลอง โดยเปรียบเทียบความเข้มข้นสปอร์เชื้อรา 4 ระดับ ได้แก่ $1x10^7$, $3x10^7$, $5x10^7$ และ $7x10^7$ สปอร์ต่อกระถาง พบว่าเชื้อรา *L. tenuipes* ไอโซเลต SNM01-06 และ *Po. chlamydosporia* ไอโซเลต EUB26-08 และ EYT35-09 สามารถลดความรุนแรงของการเกิดปมที่ราก จำนวนตัวอ่อน (J2) ไส้เดือนฝอยในดิน และ จำนวนไข่ไส้เดือนฝอยที่รากได้ดีที่สุด และเมื่อนำเชื้อราทั้ง 3 ไอโซเลตนี้รวมทั้งเชื้อ *Paecilomyces lilacinus* จากศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ และสารเคมี carbofuran ไปทดสอบประสิทธิภาพการควบคุมโรครากปมพริกพันธุ์หัวเรือในสภาพแปลงปลูกขนาดเล็ก โดยปลูกสปอร์เชื้อราอัตรา $7x10^7$

สปอร์ร่วมกับไข่ไส้เดือนฝอยจำนวน 200,000 ไข่ต่อตารางเมตร ประเมินผลการเจริญเติบโตของพริก และจำนวนประชากรไส้เดือนฝอยรากปมหลังปลูกเชื้อ 60 วัน และวัดผลผลิตเมื่อครบ 120 วัน สำหรับผลผลิต ผลการศึกษาพบว่าการเจริญเติบโต (ความสูง น้ำหนักต้นสด จำนวนผล และน้ำหนักผล) ของพริกในแปลงที่ใส่เชื้อราไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) กับแปลงพริกที่ไม่ใส่เชื้อรา และเมื่อประเมินประสิทธิภาพในการยับยั้งไส้เดือนฝอยรากปมในดิน พบว่าเชื้อราทั้ง 3 ไอโซเลตสามารถลดปริมาณของไส้เดือนฝอยรากปม (ตัวอ่อนไส้เดือนฝอยในดิน และไข่ที่ราก) และ ลดความรุนแรงของการเกิดปมรากได้ดีและได้ผลใกล้เคียงกับการใช้สารเคมี carbofuran

ในการตรวจสอบกิจกรรมเอนไซม์ย่อยสลายเชิงปริมาณจำนวน 3 เอนไซม์ ของเชื้อรา 11 ไอโซเลตที่มีศักยภาพในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม พบว่ากิจกรรมของ chitinase และ protease ของเชื้อราทุกไอโซเลตมีปริมาณในระดับที่แตกต่างกัน ส่วนกิจกรรมของเอนไซม์ glucoamylase นั้น ไม่พบในเชื้อ *L. tenuipes* ไอโซเลต SNM01-06 และเชื้อ *Po. chlamydosporia* ไอโซเลต EUB26-08 และ EUB26-02 โดยที่เชื้อราบางไอโซเลตที่มีเปอร์เซ็นต์การทำลายไข่สูง มีแนวโน้มพบปริมาณของ เอนไซม์ chitinase และ protease สูงด้วยเช่นกัน

การบ่งชี้ชนิดของเชื้อราที่มีศักยภาพในการควบคุมไส้เดือนฝอยจำนวน 10 ไอโซเลต โดยการใช้การวิเคราะห์ข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ในส่วน ITS1-5.8S-ITS2 ของ rDNA โดยใช้ primer ITS1 และ ITS4 พบว่าทุกไอโซเลตได้ผลิตภัณฑ์ PCR ที่มีขนาดประมาณ 500-600 คู่เบส เมื่อนำไปเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์จากฐานข้อมูล GenBank แสดงให้เห็นว่าข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อราปรสิตจำนวน 10ไอโซเลตดังกล่าวมีความเหมือนกับลำดับนิวคลีโอของเชื้อรา *Engyodontium aranearum* (*L. tenuipes*), *Verticillium catenulatum* (*Po. chlamydosporia* var. *catenulata*), *Po. chlamydosporia* var. *catenulate*, *Diheterospora chlamydospora* (*Po. chlamydosporia* var. *catenulata*), *Tararomyces flavus*, *Penicillium marneffei* , *Paecilomyces* sp. และ *Trichoderma strigosum* โดยมีค่าความเหมือนอยู่ระหว่างร้อยละ 94 ถึง 99 ซึ่งมีความสอดคล้องกับการจำแนกโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา

การศึกษานี้ชี้ให้เห็นถึงศักยภาพของเชื้อรา *Po. chlamydosporia* var. *catenulata* และ *L. tenuipes* ในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมในพริกโดยชีววิธี

The collection and selection of soil fungi for evaluation of potential control of root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*) were carried out by isolation from soil samples and egg masses from root gall of nematode-infested areas of 6 provinces in the lower northeast Thailand. A total of 1,835 isolates of soil fungi were composed of 1,207 isolates from soil samples (of both infected and un-infected plants) and 628 isolates from nematode egg mass attached to galled root. Based on colonization of nematode egg mass in culture media, 60 fungal isolates were selected for test on parasitism of nematode eggs in laboratory, and test for root galling reduction on mungbean in screen-house. Eleven isolates, which showed high efficiency in controlling *M. incognita*, were choosen: *Lecanicillium tenuipes* isolate SYT46-11 and SNM01-06, *Pochonia chlamydosporia* isolate EUB26-02, EUB26-08, EUB26-01 and EYT35-09, *Talaromyces flavus* isolate SSK49-07, *Penicillium marneffe*, isolate SUB33-13, *Trichoderma* sp. isolate ESR56-06, *Paecilomyces* sp. isolate SSR53-09, and EUB48-06. For biological control potential evaluation on chilli (*Capsicum annuum* var. Huarue), these 11 isolates of soil fungi and *Paecilomyces lilacinus* from the National Center for Genetic Engineering and Biotechnology (BIOTEC) were tested in pot under screen-house conditions. The four concentrations of fungal spores ($1x10^7$, $3x10^7$, $5x10^7$ and $7x10^7$ spores per pot) were also compared. The three candidates which showed high reduction of root galling, number of J2 in soil and number of eggs from roots were *L. tenuipes* isolate SNM01-06, *Po. chlamydosporia* isolate EUB26-08, and EYT35-09. Consequently, the three isolates, *Pa. lilacinus* from BIOTEC, and cabofuran nematicide were tested in microplots for their efficiency in controlling root knot disease in chili var. Huarue. In this experiment, the $7x10^7$ fungal spores and 200,000 nematode eggs were infested per square

meter of microplot. The growth of chilli and population of *M. incognita* were assessed after 60 days and chilli yields were measured after120 days. The results showed that the growth of chilli (height, fresh shoot weight), yield (number and weight of fruit per plant) between plots inoculated and non-inoculated with fungi were not significantly different ($P>0.05$). All three isolates reduced the population of nematode in soil (J2, eggs). The three isolates also produced good result in reducing root galling as carbofuran did.

All 11 isolates of soil fungi were analyzed quantitatively for three degrading enzyme (protease, chitinase and glucoamylase) activities. Chitinase and protease enzymes could be detected in all isolates at different levels, wherease glucoamylase was not detectable from *L. tenuipes* isolate SNM01-06, *Po. chlamydosporia* isolate EUB26-08 and EUB26-02. It was also observed that the higher egg infection of fungi corresponded to higher chitinase and protease activities.

The identification of 10 soil fungi isolates, based on the analysis of ITS1-5.8S-ITS2 rDNA sequence data, was performed using primer ITS1 and ITS4. The PCR amplification of these regions yielded a unique fragment of approximately 500-600 bps for all isolates. All sequences were compared to public sequences using GenBank database and it showed that the DNA sequences of the tested soil fungi were similar to *Engyodontium aranearum* (*L. tenuipes*), *Verticillium catenulatum* (*Po. chlamydosporia* var. *catenulata*), *Po. chlamydosporia* var. *catenulate*, *Diheterospora chlamydospora* (*Po. chlamydosporia* var. *catenulata*), *Tararomyces flavus*, *Penicillium marneffei*, *Paecilomyces* sp. และ *Trichoderma strigosum* ranged between 94-99% similarity by morphologic classification.

This study indicates the potential of *Po. chlamydosporia* var. *catenulata* and *L. tenuipes* for biological control of root-knot nematode in chilli.