

บทที่ 4

ผลการทดลอง

1. การสำรวจและรวบรวมเชื้อรา *Trichoderma* spp. ใน จ.เชียงใหม่

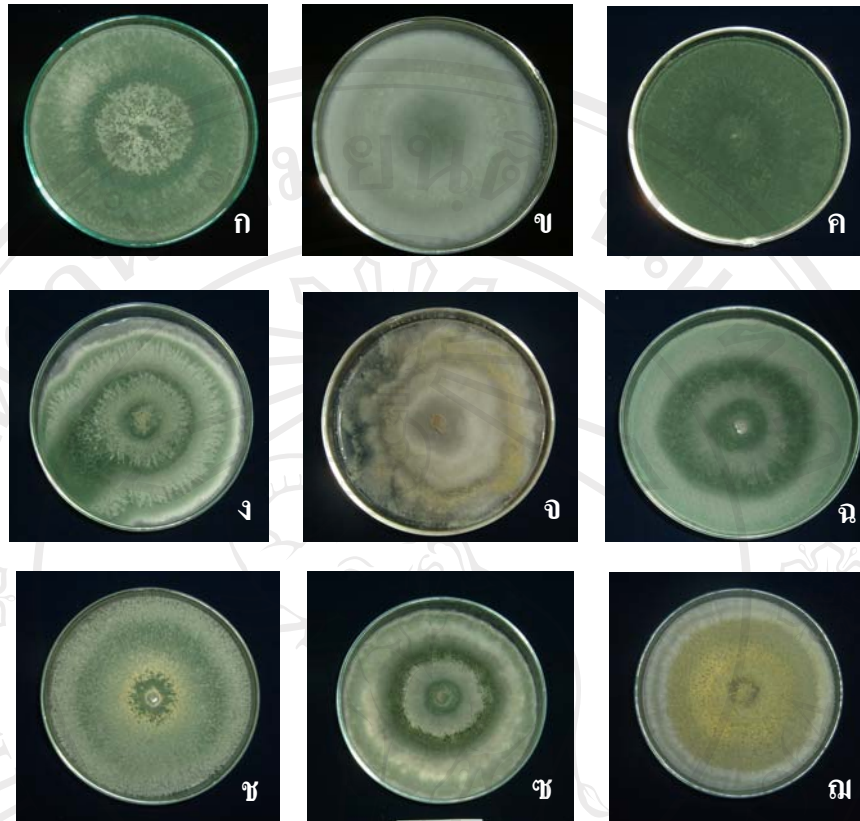
ผลการสำรวจและรวบรวมเชื้อรา *Trichoderma* spp. จากวัสดุเพาะในฟาร์มเห็ดและตัวอย่างดินในแปลงเกษตรกร จำนวน 24 อำเภอ ของจังหวัดเชียงใหม่ รวมทั้งจากสารชีวภัณฑ์ที่ผลิตเป็นการค้า สามารถแยกเชื้อรา *Trichoderma* spp. ได้ทั้งหมด 156 ไอโซเลท แบ่งเป็นเก็บจากวัสดุเพาะในฟาร์มเห็ดจำนวน 35 ไอโซเลท (ตาราง 1) เก็บจากตัวอย่างดินในแปลงเกษตรกรจำนวน 120 ไอโซเลท(ตาราง 2) และจากสารชีวภัณฑ์ (ยูนิเซฟ) จำนวน 1 ไอโซเลท พบว่าเชื้อรา *Trichoderma* spp. ที่แยกได้แต่ละไอโซเลท มีความหลากหลายในลักษณะของโคโลนีที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA โดยเชื้อรา *Trichoderma* spp. ที่แยกจากวัสดุเพาะในฟาร์มเห็ด (ภาพ 2) และเชื้อรา *Trichoderma* spp. ที่แยกได้จากจากตัวอย่างดินในแปลงเกษตรกร (ภาพ 3)

ตาราง 1 แหล่งที่มาของวัสดุเพาะในฟาร์มเห็ดที่เก็บจากฟาร์มเห็ดของเกษตรกร และจำนวนไอโซเลทของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ที่แยกเชื้อบริสุทธิ์ได้

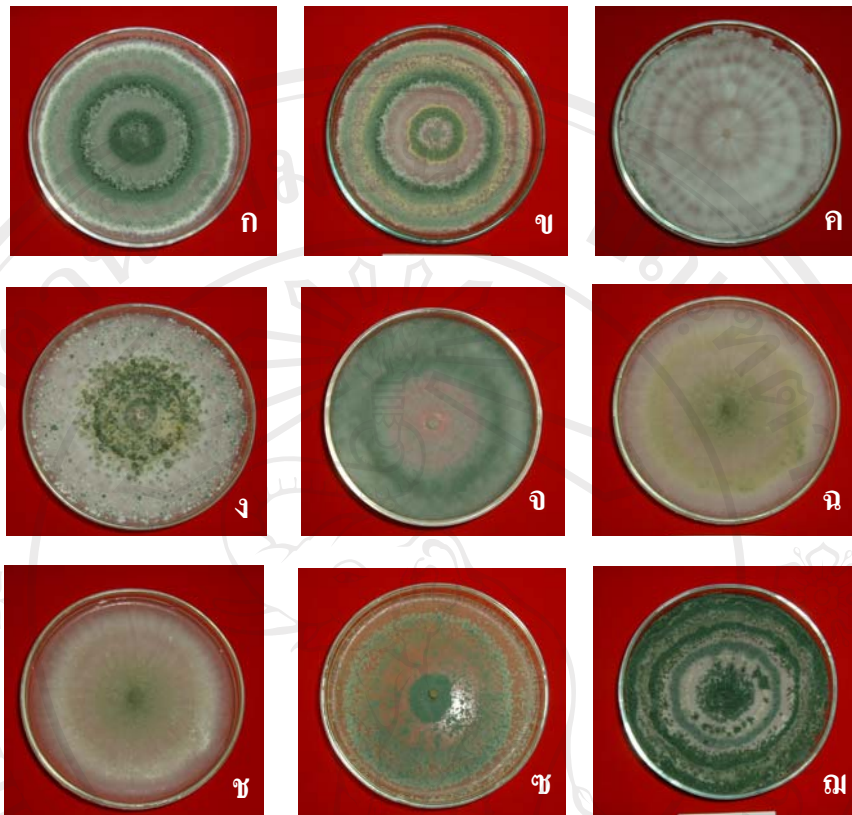
แหล่งที่มา	ไอโซเลท	จำนวนไอโซเลท
1. โรงเพาะเห็ดมหาวิทยาลัยแม่โจ้ อ.สันทราย จ.เชียงใหม่	TM1-TM4	4
2. ต.หนองหาร อ.สันทราย จ.เชียงใหม่	TM5-TM8, TM9, TM32	6
3. ต.แม่แฝกใหม่ อ.สันทราย จ.เชียงใหม่	TM9-TM14, TM24	7
4. บ้านแม่แก้ว ต.หนองหาร อ.สันทราย จ.เชียงใหม่	TM15-TM18, TM22	5
5. บ้านหนองเต่าคำใหม่ ต.ป่าไผ่ อ.สันทราย จ.เชียงใหม่ (ฟาร์ม1)	TM20, TM21, TM30, TM34	4
6. บ้านหนองเต่าคำใหม่ ต.ป่าไผ่ อ.สันทราย จ.เชียงใหม่ (ฟาร์ม2)	TM23, TM25-TM27	4
7. บ้านหนองเต่าคำใหม่ ต.ป่าไผ่ อ.สันทราย จ.เชียงใหม่ (ฟาร์ม3)	TM28, TM29, TM31, TM33	4
8. โครงการพิเศษสวนเกษตรเมืองงาย ในองค์สมเด็จพระนางเจ้าพระบรมราชินีนาถ อ.เชียงดาว จ.เชียงใหม่	TM35	1
รวม		35

ตาราง 2 แหล่งที่มา และจำนวนไอโซเลทของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ที่แยกเชื้อ
บริสุทธิ์ได้ จากตัวอย่างดินแปลงเกษตรกรแต่ละอำเภอ ใน จ.เชียงใหม่
และจากสารชีวภัณฑ์

แหล่งที่มา	ไอโซเลท	จำนวนไอโซเลท
1. อ.สันทราย	T1-T4, T40, T51-T53	8
2. อ.เชียงดาว	T107-T108	2
3. อ.สันกำแพง	T5-T8	4
4. อ.ดอยสะเก็ด	T9, T10, T16-T18	5
5. อ.หางดง	T11-T14, T24-T30	11
6. อ.สารภี	T19-T23	5
7. อ.แม่แตง	T31-T39	9
8. อ.แมริม	T41, T47-T50	5
9. อ.จอมทอง	T42-T46, T54-T55, T62	8
10. อ.ฮอด	T56-T59	4
11. อ.สันป่าดง	T60-T61	2
12. อ.แม่อาว	T63-T70, T77	9
13. อ.ฝาง	T71-T76	6
14. อ.กึ่งอำเภอคอยหล่อ	T78-T82	5
15. อ.ไชยปราการ	T83-T85	3
16. อ.สะเมิง	T86-T88	3
17. อ.แม่แจ่ม	T89-T92	4
18. อ.คอยเต่า	T93-T95	3
19. อ.เวียงแหง	T96-T102	7
20. อ.อมก๋อย	T103-T106	4
21. อ.เมือง	T109-T112	4
22. อ.แม่วาง	T113-T115	3
23. อ.กึ่งอำเภอแม่ออน	T116-T117	2
24. อ.พร้าว	T118-T121	4
25. สารชีวภัณฑ์	T15	1
รวม		121



ภาพ 2 ตัวอย่างของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ที่แยกเชื้อบริสุทธิ์ได้จากวัสดุเพาะในฟาร์มเห็ด
 จ.เชียงใหม่ บนอาหาร PDA นาน 7 วัน
 ก. ไอโซเลท TM1, ข. ไอโซเลท TM2, ค. ไอโซเลท TM3,
 ง. ไอโซเลท TM8, จ. ไอโซเลท TM10, ฉ. ไอโซเลท TM12,
 ช. ไอโซเลท TM14, ซ. ไอโซเลท TM17 และ ฅ. ไอโซเลท TM20



ภาพ 3 ตัวอย่างของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ที่แยกเชื้อบริสุทธิ์ได้จากตัวอย่างดิน
ในแปลงเกษตรกร จำนวน 24 อำเภอ จังหวัดเชียงใหม่ บนอาหาร PDA
นาน 7 วัน

ก. ไอโซเลท T51, ข. ไอโซเลท T52, ค. ไอโซเลท T55,

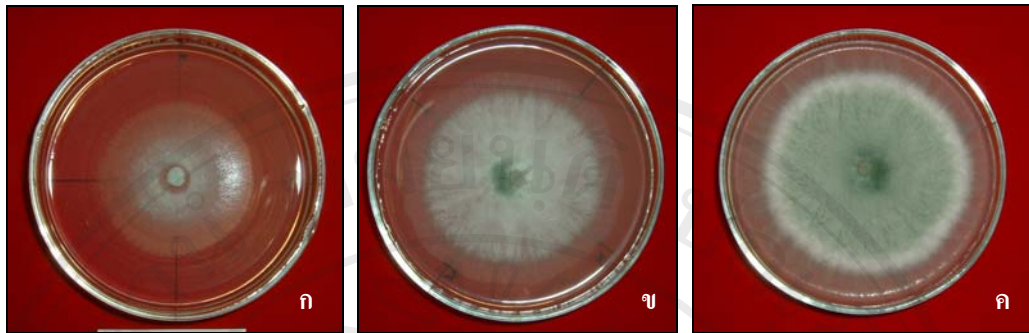
ง. ไอโซเลท T56, จ. ไอโซเลท T57, ฉ. ไอโซเลท T59,

ช. ไอโซเลท T61, ซ. ไอโซเลท T67 และ ฉ. ไอโซเลท T85

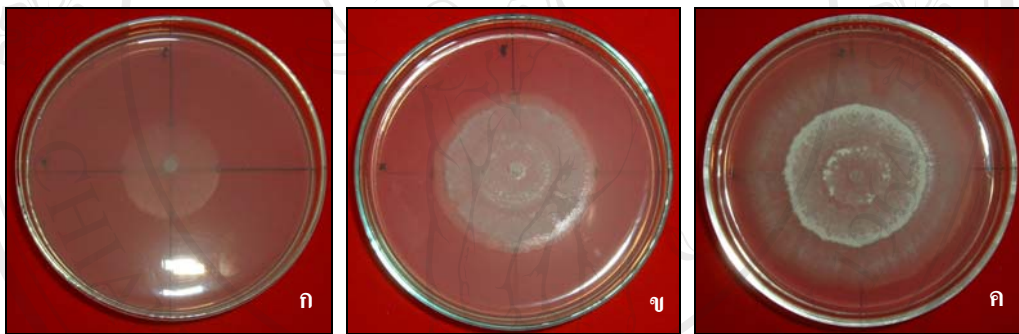
2. ศึกษาการเจริญและปริมาณการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *Trichoderma* spp.

2.1 การเจริญของเชื้อรา *Trichoderma* spp.

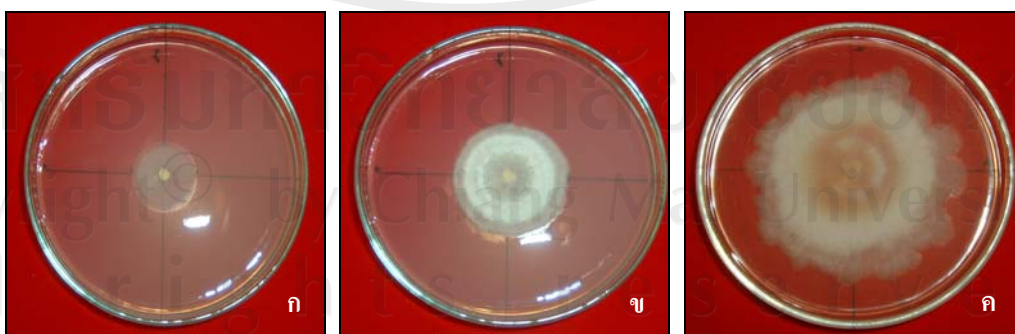
ผลการศึกษาการเจริญของเชื้อรา *Trichoderma* spp. จำนวน 156 ไอโซเลท ที่เลี้ยงบนอาหาร PDA พบว่ามีอัตราการเจริญอยู่ระหว่าง 18.40 มิลลิเมตรต่อวัน ถึง 35.80 มิลลิเมตรต่อวัน และสามารถแบ่งอัตราการเจริญของเส้นใยออกเป็น 3 กลุ่มคือ 1. เจริญเร็ว (มีอัตราการเจริญมากกว่า 30 มิลลิเมตรต่อวัน) จำนวน 71 ไอโซเลท (ภาพ 4) 2. เจริญปานกลาง (มีอัตราการเจริญอยู่ระหว่าง 20 - 30 มิลลิเมตรต่อวัน) จำนวน 78 ไอโซเลท (ภาพ 5) 3. เจริญช้า (มีอัตราการเจริญน้อยกว่า 20 มิลลิเมตรต่อวัน) จำนวน 7 ไอโซเลท (ภาพ 6) และทั้ง 3 กลุ่มมีอัตราการเจริญเฉลี่ย \pm SD เท่ากับ 32.30 ± 1.62 , 27.17 ± 2.32 และ 19.48 ± 0.56 มิลลิเมตรต่อวันตามลำดับ (ตาราง 3) และเมื่อเปรียบเทียบเชื้อรา *Trichoderma* ที่แยกได้จากวัสดุเพาะในฟาร์มเห็ดแต่ละฟาร์ม จำนวน 35 ไอโซเลท มีลักษณะการเจริญเร็ว จำนวน 18 ไอโซเลท ลักษณะการเจริญปานกลาง จำนวน 16 ไอโซเลท และลักษณะการเจริญช้า จำนวน 1 ไอโซเลท (ตาราง 4) โดยมีอัตราการเจริญเฉลี่ย \pm SD เท่ากับ 32.87 ± 1.50 , 27.52 ± 1.46 และ 18.40 ± 0 มิลลิเมตรต่อวันตามลำดับ (ตาราง 5) สำหรับเชื้อรา *Trichoderma* ที่แยกจากตัวอย่างดินแปลงเกษตรกรรมแต่ละอำเภอ จ. เชียงใหม่ จำนวน 120 ไอโซเลท มีลักษณะการเจริญเร็ว จำนวน 52 ไอโซเลท ลักษณะการเจริญปานกลาง จำนวน 62 ไอโซเลท และลักษณะการเจริญช้า จำนวน 6 ไอโซเลท (ตาราง 6) โดยมีอัตราการเจริญเฉลี่ย \pm SD เท่ากับ 32.13 ± 1.63 , 27.08 ± 2.50 และ 19.67 ± 0.32 มิลลิเมตรต่อวันตามลำดับ (ตาราง 7) และเชื้อรา *Trichoderma* ที่แยกจากสารชีวภัณฑ์ จำนวน 1 ไอโซเลท มีลักษณะการเจริญอยู่ในกลุ่มที่เจริญได้เร็ว



ภาพ 4 ลักษณะการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Trichoderma* sp. ไอโซเลท T15 (เจริญเร็ว) ที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง(ก), 48 ชั่วโมง(ข) และ 72 ชั่วโมง(ค)



ภาพ 5 ลักษณะการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Trichoderma* sp. ไอโซเลท T77 (เจริญปานกลาง) ที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง(ก), 48 ชั่วโมง(ข) และ 72 ชั่วโมง(ค)



ภาพ 6 ลักษณะการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Trichoderma* sp. ไอโซเลท TM10 (เจริญช้า) ที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง (ก), 48 ชั่วโมง (ข) และ 72 ชั่วโมง (ค)

ตาราง 3 อัตราการเจริญเฉลี่ยของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ทั้ง 3 กลุ่มที่แยกได้จากวัสดุเพาะ
ในฟาร์มเห็ด ตัวอย่างดินในแปลงเกษตรกร และจากสารชีวภัณฑ์

การเจริญของเชื้อรา <i>Trichoderma</i> spp.	จำนวนไอโซเลท	n ¹	อัตราการเจริญ(มม.ต่อวัน)
เจริญเร็ว	71	71	32.30 ± 1.62
เจริญปานกลาง	78	78	27.17 ± 2.32
เจริญช้า	7	7	19.48 ± 0.56

¹แต่ละไอโซเลท คือค่าเฉลี่ยของอัตราการเจริญของเชื้อจำนวน 3 ซ้ำ

ตาราง 4 แหล่งที่มา และจำนวนไอโซเลทของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ที่เก็บจากวัสดุเพาะใน
ฟาร์มเห็ด โดยแบ่งตามลักษณะการเจริญ

แหล่งที่มา	จำนวน ไอโซเลท	การเจริญ		
		เร็ว	ปานกลาง	ช้า
1. โรงเพาะเห็ดมหาวิทยาลัยแม่โจ้ อ.สันทราย จ.เชียงใหม่	4	3	1	-
2. ต.หนองหาร อ.สันทราย จ.เชียงใหม่	6	3	3	-
3. ต.แม่แฝกใหม่ อ.สันทราย จ.เชียงใหม่	7	3	3	1
4. บ้านแม่แก้ว ต.หนองหาร อ.สันทราย จ.เชียงใหม่	5	2	3	-
5. บ้านหนองเต่าคำใหม่ ต.ป่าไผ่ อ.สันทราย จ.เชียงใหม่(ฟาร์ม1)	4	1	3	-
6. บ้านหนองเต่าคำใหม่ ต.ป่าไผ่ อ.สันทราย จ.เชียงใหม่(ฟาร์ม2)	4	4	-	-
7. บ้านหนองเต่าคำใหม่ ต.ป่าไผ่ อ.สันทราย จ.เชียงใหม่(ฟาร์ม3)	4	2	2	-
8. อ.เชียงดาว	1	-	1	-
รวม	35	18	16	1

ตาราง 5 อัตราการเจริญเฉลี่ยของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ทั้ง 3 กลุ่ม ที่แยกได้จากวัสดุเพาะ
ในฟาร์มเห็ด

การเจริญของเชื้อรา <i>Trichoderma</i> spp.	จำนวนไอโซเลต	n ¹	อัตราการเจริญ(มม.ต่อวัน)
เจริญเร็ว	18	18	32.87 ± 1.50
เจริญปานกลาง	16	16	27.52 ± 1.46
เจริญช้า	1	1	18.40 ± 0

¹แต่ละไอโซเลต คือค่าเฉลี่ยของอัตราการเจริญของเชื้อจำนวน 3 ซ้ำ

ตาราง 6 แหล่งที่มา และจำนวนไอโซเลทของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ที่เก็บจากตัวอย่างดิน
 ในแปลงเกษตรกรแต่ละอำเภอ จ.เชียงใหม่ และจากสารชีวภัณฑ์ โดยแบ่งตาม
 ลักษณะการเจริญ

แหล่งที่มา	จำนวนไอโซเลท	การเจริญ		
		เร็ว	ปานกลาง	ช้า
1. อ.สันทราย	8	7	1	-
2. อ.เชียงดาว	2	-	2	-
3. อ.สันกำแพง	4	4	-	-
4. อ.คอกสะแก	5	1	4	-
5. อ.หางดง	11	5	6	-
6. อ.สารภี	5	1	4	-
7. อ.แม่แตง	9	4	5	-
8. อ.แม่ริม	5	-	5	-
9. อ.จอมทอง	8	2	5	1
10. อ.ฮอด	4	3	-	1
11. อ.สันป่าตอง	2	1	-	1
12. อ.แม่อาว	9	5	1	3
13. อ.ฝาง	6	2	4	-
14. อ.กึ่งอำเภอคอกหล่อ	5	4	1	-
15. อ.ไชยปราการ	3	1	2	-
16. อ.สะเมิง	3	1	2	-
17. อ.แม่แจ่ม	4	-	4	-
18. อ.คอกเต่า	3	-	3	-
19. อ.เวียงแหง	7	-	7	-
20. อ.อมก๋อย	4	-	4	-
21. อ.เมือง	4	4	-	-
22. อ.แม่วาง	3	3	-	-
23. อ.กึ่งอำเภอแม่อน	2	1	1	-
24. อ.พร้าว	4	3	1	-
25. สารชีวภัณฑ์	1	1	-	-
รวม	121	53	62	6

ตาราง 7 อัตราการเจริญเฉลี่ยของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ทั้ง 3 กลุ่ม ที่แยกได้จากตัวอย่างดิน
แปลงเกษตรกร จำนวน 24 อำเภอ จังหวัดเชียงใหม่

การเจริญของเชื้อรา <i>Trichoderma</i> spp.	จำนวนไอโซเลท	n ¹	อัตราการเจริญ(มม.ต่อวัน)
เจริญเร็ว	52	52	32.13 ± 1.63
เจริญปานกลาง	62	62	27.08 ± 2.50
เจริญช้า	6	6	19.67 ± 0.32

¹แต่ละไอโซเลท คือค่าเฉลี่ยของอัตราการเจริญของเชื้อจำนวน 3 ซ้ำ

2.2 การสร้างสปอร์ของเชื้อรา *Trichoderma* spp.

ผลการศึกษ ปริมาณการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *Trichoderma* spp. จำนวน 156 ไอโซเลท ที่เลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เป็นระยะเวลา 10 วัน เชื้อรา *Trichoderma* spp. แต่ละไอโซเลท มีปริมาณการสร้างสปอร์ที่แตกต่างกัน และสามารถแบ่งได้เป็น 3 กลุ่มคือ 1.สร้างสปอร์มากกว่า 10×10^{10} สปอร์/มิลลิลิตร จำนวน 35 ไอโซเลท 2. สร้างสปอร์อยู่ระหว่าง $5-10 \times 10^{10}$ สปอร์/มิลลิลิตร จำนวน 81 ไอโซเลท 3. สร้างสปอร์น้อยกว่า 5×10^{10} สปอร์/มิลลิลิตร จำนวน 40 ไอโซเลท และมีปริมาณการสร้างสปอร์เฉลี่ย ± SD เท่ากับ $13.04 \pm 2.52 \times 10^{10}$, $7.37 \pm 1.28 \times 10^{10}$ และ $3.22 \pm 1.22 \times 10^{10}$ สปอร์/มิลลิลิตรตามลำดับ (ตาราง 8) และเมื่อเปรียบเทียบเชื้อรา *Trichoderma* ที่แยกได้จากวัสดุเพาะในฟาร์มเห็ดแต่ละฟาร์ม มีการสร้างสปอร์มากกว่า 10×10^{10} สปอร์/มิลลิลิตร จำนวน 5 ไอโซเลท มีการสร้างสปอร์อยู่ระหว่าง $5-10 \times 10^{10}$ สปอร์/มิลลิลิตร จำนวน 27 ไอโซเลท และสร้างสปอร์น้อยกว่า 5×10^{10} สปอร์/มิลลิลิตร จำนวน 3 ไอโซเลท (ตาราง 9) โดยมีปริมาณการสร้างสปอร์เฉลี่ย ± SD เท่ากับ $11.03 \pm 0.46 \times 10^{10}$, $7.58 \pm 1.26 \times 10^{10}$ และ $3.24 \pm 1.49 \times 10^{10}$ สปอร์/มิลลิลิตรตามลำดับ (ตาราง 10) สำหรับเชื้อรา *Trichoderma* ที่แยกจากตัวอย่างดินแปลงเกษตรกรแต่ละอำเภอ จ.เชียงใหม่ มีการสร้างสปอร์มากกว่า 10×10^{10} สปอร์/มิลลิลิตร จำนวน 29 ไอโซเลท มีการสร้างสปอร์อยู่ระหว่าง $5-10 \times 10^{10}$ สปอร์/มิลลิลิตร จำนวน 54 ไอโซเลท และสร้างสปอร์น้อยกว่า 5×10^{10} สปอร์/มิลลิลิตร จำนวน 37 ไอโซเลท (ตาราง 11) โดยมีปริมาณการสร้าง

สปอร์เฉลี่ย \pm SD เท่ากับ $13.44 \pm 2.59 \times 10^{10}$, $7.27 \pm 1.29 \times 10^{10}$ และ $3.22 \pm 1.22 \times 10^{10}$ สปอร์ / มิลลิลิตรตามลำดับ (ตาราง 12) และเชื้อรา *Trichoderma* ที่แยกจากสารชีวภัณฑ์ มีการสร้างสปอร์มากกว่า 10×10^{10} สปอร์/มิลลิลิตร

ตาราง 8 ปริมาณการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ทั้ง 3 กลุ่มที่แยกได้จากวัสดุเพาะในฟาร์มเห็ด ตัวอย่างดินในแปลงเกษตรกร และจากสารชีวภัณฑ์ ที่ระยะเวลา 10 วัน

การสร้างสปอร์ของ <i>Trichoderma</i> spp.	จำนวนไอโซเลท	n ¹	ปริมาณการสร้างสปอร์ (สปอร์/มิลลิลิตร)
สร้างสปอร์ $>10 \times 10^{10}$	35	35	$13.04 \pm 2.52 \times 10^{10}$
สร้างสปอร์ $5-10 \times 10^{10}$	81	81	$7.37 \pm 1.28 \times 10^{10}$
สร้างสปอร์ $< 5 \times 10^{10}$	40	40	$3.22 \pm 1.22 \times 10^{10}$

¹แต่ละไอโซเลท คือค่าเฉลี่ยของอัตราการเจริญของเชื้อจำนวน 4 ซ้ำ

ตาราง 9 แหล่งที่มา และจำนวนไอโซเลทของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ที่เก็บจากวัสดุเพาะในฟาร์มเห็ด โดยแบ่งตามลักษณะการสร้างสปอร์

แหล่งที่มา	จำนวนไอโซเลท	ปริมาณการสร้างสปอร์		
		$>10 \times 10^{10}$	$5-10 \times 10^{10}$	$<5 \times 10^{10}$
1. โรงเพาะเห็ดมหาวิทยาลัยแม่โจ้ อ.สันทราย จ.เชียงใหม่	4	-	4	-
2. ด.หนองหาร อ.สันทราย จ.เชียงใหม่	6	-	6	-
3. ด.แม่แฝกใหม่ อ.สันทราย จ.เชียงใหม่	7	-	6	1
4. บ้านแม่แก้ว ด.หนองหาร อ.สันทราย จ.เชียงใหม่	5	2	3	-
5. บ้านหนองเต่าคำใหม่ ต.ป่าไผ่ อ.สันทราย จ.เชียงใหม่(ฟาร์ม1)	4	-	2	2
6. บ้านหนองเต่าคำใหม่ ต.ป่าไผ่ อ.สันทราย จ.เชียงใหม่(ฟาร์ม2)	4	1	3	-
7. บ้านหนองเต่าคำใหม่ ต.ป่าไผ่ อ.สันทราย จ.เชียงใหม่(ฟาร์ม3)	4	2	2	-
8. อ.เชียงดาว	1	-	1	-
รวม	35	5	27	3

ตาราง 10 ปริมาณการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ทั้ง 3 กลุ่ม ที่แยกได้จากวัสดุ
เพาะในฟาร์มเห็ด ที่ระยะเวลา 10 วัน

การสร้างสปอร์ของ <i>Trichoderma</i> spp.	จำนวนไอโซเลท	n ¹	ปริมาณการสร้างสปอร์ (สปอร์/มิลลิลิตร)
สร้างสปอร์ >10 × 10 ¹⁰	5	5	11.03 ± 0.46 × 10 ¹⁰
สร้างสปอร์ 5-10 × 10 ¹⁰	27	27	7.58 ± 1.26 × 10 ¹⁰
สร้างสปอร์ <5 × 10 ¹⁰	3	3	3.24 ± 1.49 × 10 ¹⁰

¹แต่ละไอโซเลท คือค่าเฉลี่ยของอัตราการเจริญของเชื้อจำนวน 4 ซ้ำ

ตาราง 11 แหล่งที่มา และจำนวนไอโซเลทของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ที่เก็บจากตัวอย่างดินในแปลงเกษตรกร ใน จ.เชียงใหม่ และจากสารชีวภัณฑ์ โดยแบ่งตามลักษณะการสร้างสปอร์

แหล่งที่มา	จำนวนไอโซเลท	ปริมาณการสร้างสปอร์		
		$> 10 \times 10^{10}$	$5-10 \times 10^{10}$	$< 5 \times 10^{10}$
1. อ.สันทราย	8	6	2	-
2. อ.เชียงดาว	2	-	2	-
3. อ.สันกำแพง	4	2	2	-
4. อ.คอกสะแก	5	2	3	-
5. อ.หางดง	11	1	6	4
6. อ.สารภี	5	-	3	2
7. อ.แม่แตง	9	1	5	3
8. อ.แม่ริม	5	2	2	1
9. อ.จอมทอง	8	1	4	3
10. อ.ฮอด	4	-	1	3
11. อ.สันป่าดอง	2	-	1	1
12. อ.แม่อาว	9	1	8	-
13. อ.ฝาง	6	1	4	1
14. อ.กิ่งอำเภอคอกยหล่อ	5	3	1	1
15. อ.ไชยปราการ	3	-	1	2
16. อ.สะเมิง	3	2	1	-
17. อ.แม่แจ่ม	4	-	1	3
18. อ.คอกเต่า	3	-	-	3
19. อ.เวียงแหง	7	5	-	2
20. อ.อมก๋อย	4	2	1	1
21. อ.เมือง	4	-	3	1
22. อ.แม่วาง	3	-	3	-
23. อ.กิ่งอำเภอแม่ออน	2	-	-	2
24. อ.พร้าว	4	-	-	4
25. สารชีวภัณฑ์	1	1	-	-
รวม	121	30	53	38

ตาราง 12 ปริมาณการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ทั้ง 3 กลุ่ม ที่แยกได้จากตัวอย่างดินในแปลงเกษตรกร จำนวน 24 อำเภอ จ. เชียงใหม่ ที่ระยะเวลา 10 วัน

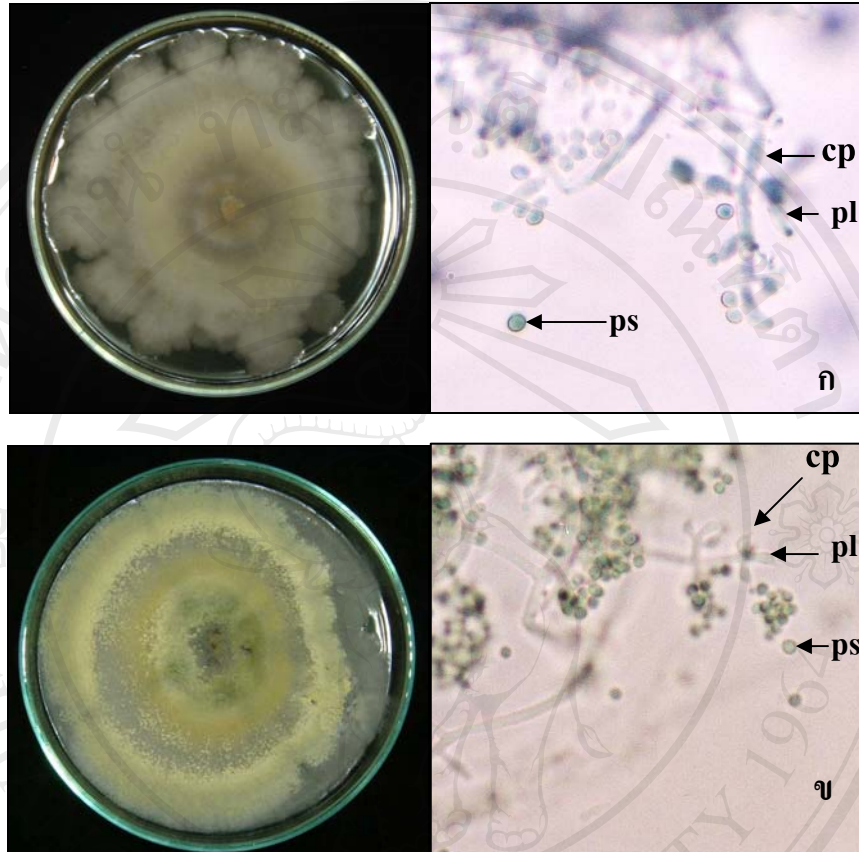
การสร้างสปอร์ของ <i>Trichoderma</i> spp.	จำนวนไอโซเลท	n	ปริมาณการสร้างสปอร์ (สปอร์/มิลลิลิตร)
สร้างสปอร์ $>10 \times 10^{10}$	29	29	$13.44 \pm 2.59 \times 10^{10}$
สร้างสปอร์ $5-10 \times 10^{10}$	54	54	$7.27 \pm 1.29 \times 10^{10}$
สร้างสปอร์ $<5 \times 10^{10}$	37	37	$3.22 \pm 1.22 \times 10^{10}$

¹แต่ละไอโซเลท คือค่าเฉลี่ยของอัตราการเจริญของเชื้อจำนวน 4 ซ้ำ

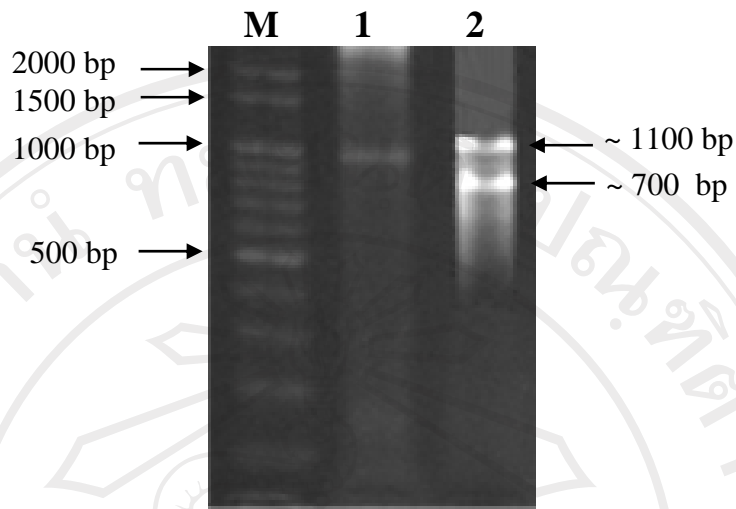
3. การสกัด double-stranded RNA และ ตรวจสอบผลโดยเจลอิเล็กโตรโฟรีซิส

ผลการตรวจหา double-stranded RNA จากเส้นใยและสปอร์ของเชื้อรา *Trichoderma* spp. จำนวนทั้งหมด 156 ไอโซเลท โดยวิธีการซึ่งดัดแปลงมาจากวิธีการของ Jordan and Dodds (1985) และ Valverde *et al.* (1990) พบ dsRNA จากเชื้อรา *Trichoderma* spp. จำนวน 2 ไอโซเลทคือ TM10 (ภาพ 7ก) และ TM20 (ภาพ 7ข) เชื้อรา *Trichoderma* ไอโซเลท TM10 แยกได้จากวัสดุเพาะในฟาร์มเห็ด ต.แม่แฝกใหม่ อ.สันทราย จ.เชียงใหม่ พบแถบของ dsRNA มีขนาดประมาณ 1000 bp ส่วนไอโซเลท TM20 แยกได้จากวัสดุเพาะในฟาร์มเห็ด ต.ป่าไผ่ อ.สันทราย จ.เชียงใหม่, ฟาร์ม 1 พบแถบของ dsRNA แตกต่างกัน 2 แถบมีขนาดประมาณ 700 bp และ 1100 bp (ภาพ 8)

จากการใช้เอนไซม์ RNase และ DNase ในการย่อย dsRNA ที่ตรวจพบจากเชื้อรา *Trichoderma* ทั้งสองไอโซเลทดังกล่าวข้างต้น พบว่ายังสามารถพบแถบของ dsRNA จากเชื้อรา *Trichoderma* ไอโซเลท TM10 มีขนาดประมาณ 1000 bp (ภาพ 9) และจากไอโซเลท TM20 มีขนาดประมาณ 700 bp และ 1100 bp ในสภาพที่มีความเข้มข้นของเกลือสูง (ภาพ 10)



ภาพ 7 ลักษณะโคโลนีของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ไอโซเลท TM10 (ก) และ ไอโซเลท TM20 (ข) บนอาหาร PDA อายุ 5 วัน และลักษณะทางสัณฐานวิทยา ได้แก่ conidiophore (cp), phialide (pl) และ phialospore (ps) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ 400 เท่า



ภาพ 8 Gel electrophoresis บน 1.5% agarose gel ของ double-stranded RNA จากการสกัดตัวอย่างเส้นใยเชื้อรา *Trichoderma* spp.

แถว M = ดีเอ็นเอมาตรฐาน 100 bp DNA Marker

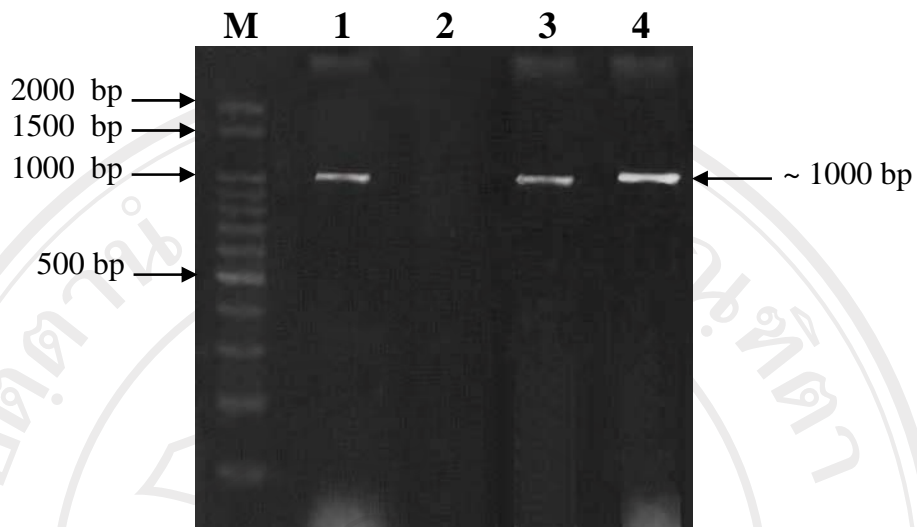
แถวที่ 1 = เชื้อรา *Trichoderma* ไอโซเลท TM10 แยกได้จากวัสดุเพาะ
ในฟาร์มเห็ด ต.แม่แฝกใหม่ อ.สันทราย จ.เชียงใหม่

แถวที่ 2 = เชื้อรา *Trichoderma* ไอโซเลท TM20 แยกได้จากวัสดุเพาะ
ในฟาร์มเห็ด ต.ป่าไผ่ อ.สันทราย จ.เชียงใหม่

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Copyright© by Chiang Mai University

All rights reserved



ภาพ 9 Gel electrophoresis บน 1.5% agarose gel ของ double-stranded RNA จากการย่อยด้วยเอนไซม์ RNase และ DNase จากการสกัดตัวอย่างเส้นใยเชื้อรา *Trichoderma* ไอโซเลท TM10 ที่แยกได้จากวัสดุเพาะในฟาร์มเห็ด ต.แม่แฝกใหม่ อ.สันทราย จ.เชียงใหม่

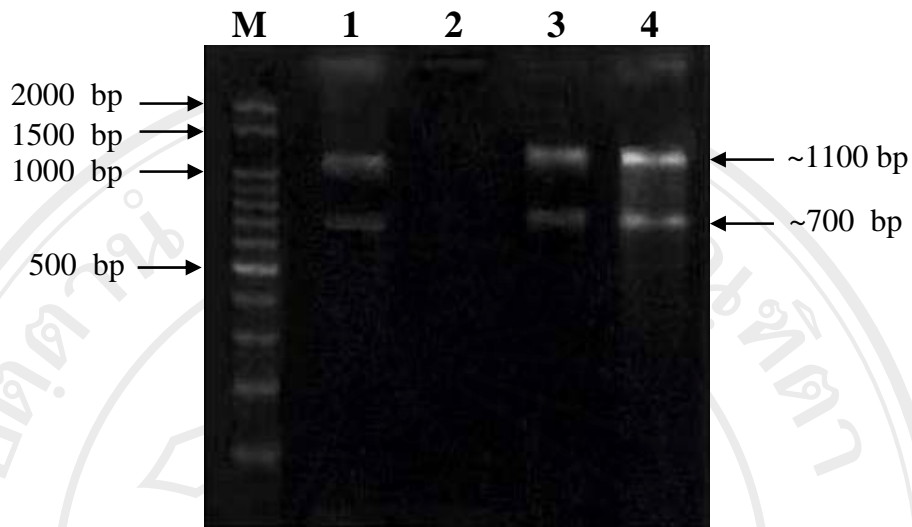
แถว M = ดีเอ็นเอมาตรฐาน 100 bp DNA Marker

แถวที่ 1 = dsRNA ที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ RNase มีความเข้มข้นเกลือสูง (2 XSSC)

แถวที่ 2 = dsRNA ที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ RNase มีความเข้มข้นเกลือต่ำ (0.1 XSSC)

แถวที่ 3 = dsRNA ที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ DNase

แถวที่ 4 = dsRNA ที่ได้จากการสกัด (ชดควบคุม)



ภาพ 10 Gel electrophoresis บน 1.5% agarose gel ของ double-stranded RNA จากการย่อยด้วยเอนไซม์ RNase และ DNase จากการสกัดตัวอย่างเส้นใยเชื้อรา *Trichoderma* ไอโซเลท TM20 ที่แยกได้จากวัสดุเพาะในฟาร์มเห็ด ต.ป่าไผ่ อ.สันทราย จ.เชียงใหม่

แถว M = ดีเอ็นเอมาตรฐาน 100 bp DNA Marker

แถวที่ 1 = dsRNA ที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ RNase มีความเข้มข้นเกลือสูง (2 XSSC)

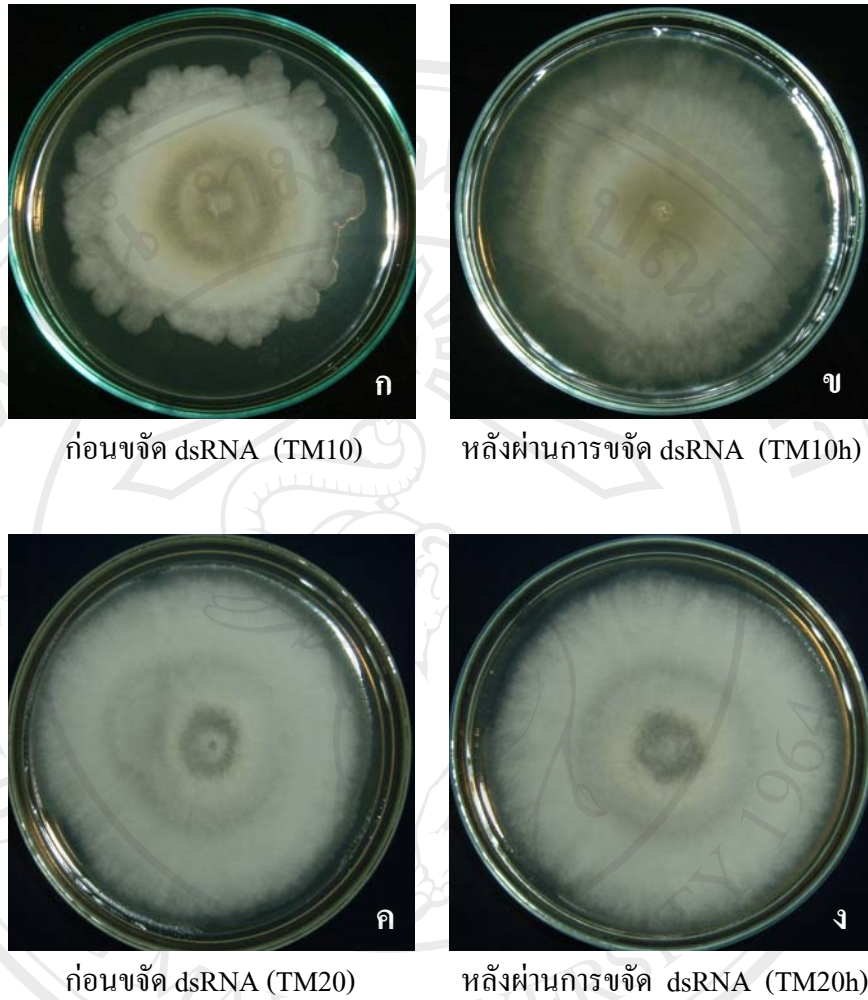
แถวที่ 2 = dsRNA ที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ RNase มีความเข้มข้นเกลือต่ำ (0.1 XSSC)

แถวที่ 3 = dsRNA ที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ DNase

แถวที่ 4 = dsRNA ที่ได้จากการสกัด (ชุดควบคุม)

4. การศึกษาความเสถียรและการขจัด dsRNA

จากการทดสอบเลี้ยงเชื้อรา *Trichoderma* spp. ที่อุณหภูมิ 37, 40 และ 45 องศาเซลเซียส พบว่าที่อุณหภูมิ 40 และ 45 องศาเซลเซียส เชื้อรา *Trichoderma* ไม่สามารถเจริญและมีชีวิตรอดอยู่ได้ ส่วนที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส พบว่าไอโซเลท TM10 (ภาพ 11ก) และ TM20 (ภาพ 11ค) เมื่อเลี้ยงไว้ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นระยะเวลา 3 ชั่วโมง สลับกับเลี้ยงที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง แล้วจึง subculture เป็นจำนวน 10 รุ่น จะได้เป็นไอโซเลท TM10h (ภาพ 11ข) และ TM20h (ภาพ 11ง) ตามลำดับ เมื่อนำเชื้อรา *Trichoderma* ทั้ง 4 ไอโซเลทมาศึกษาการเจริญ พบว่าเชื้อรา *Trichoderma* spp. ไอโซเลท TM10h และ TM 20h มีอัตราการเจริญได้เร็วกว่า ไอโซเลท TM10 และ TM20 โดยมีอัตราการเจริญของ TM10, TM10h, TM20 และ TM20h เท่ากับ 18.40, 23.93, 24.60 และ 27.50 มิลลิเมตรต่อวัน (ภาพ 12) เมื่อศึกษาการสร้างสปอร์พบว่าการสร้างสปอร์เพิ่มมากขึ้นเท่ากับ 1.82×10^{10} , 2.60×10^{10} , 3.11×10^{10} และ 3.63×10^{10} สปอร์/มิลลิลิตร (ภาพ 13) เมื่อนำมาตรวจหา dsRNA ยังคงพบแถบของ dsRNA มีขนาดเท่ากับ 1000 bp จาก TM10h และ 700 bp และ 1100 bp จาก TM20h เหมือนเดิม (ภาพ 14)



ภาพ 11 ลักษณะโคโลนีของ เชื้อรา *Trichoderma* spp. เมื่อเลี้ยงบนอาหาร

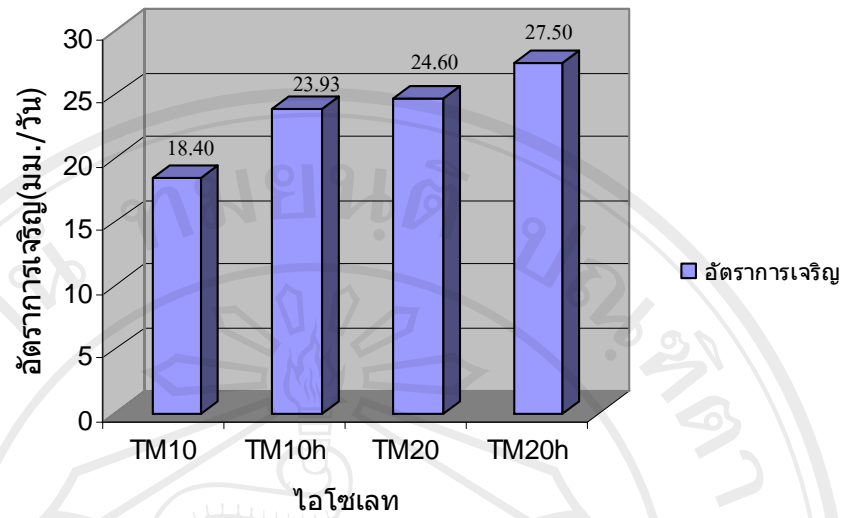
PDA อายุ 3 วัน ที่อุณหภูมิห้อง

ก. ไอโซเลท TM10

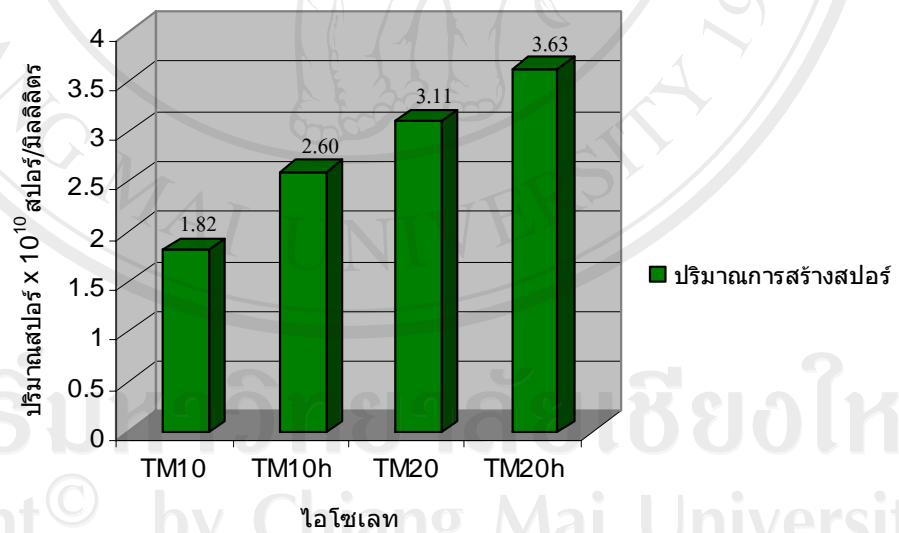
ข. ไอโซเลท TM10h

ค. ไอโซเลท TM20

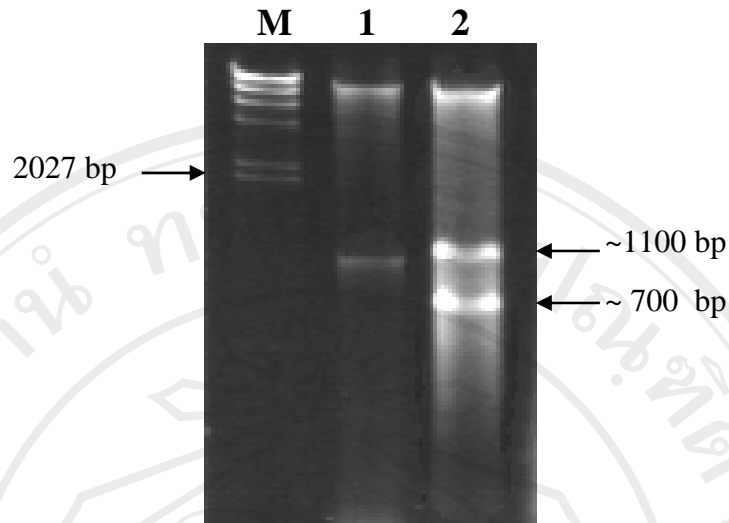
ง. ไอโซเลท TM20h



ภาพ 12 แผนภูมิแสดงอัตราการเจริญ (มิลลิเมตรต่อวัน) ของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ไอโซเลท TM10, TM10h, TM20 และ TM20h



ภาพ 13 แผนภูมิแสดงปริมาณการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ไอโซเลท TM10, TM10h, TM20 และ TM20h



ภาพ 14 Gel electrophoresis บน 1.5% agarose gel ของ double-stranded RNA จากการสกัดตัวอย่างเส้นใยเชื้อรา *Trichoderma* ไอโซเลท TM10h และ TM20h ที่ผ่านการเลี้ยงที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส สลับกับเลี้ยงที่อุณหภูมิห้อง แล้ว subculture เป็นจำนวน 10 รุ่น

แถว M = ดีเอ็นเอมาตรฐาน Lamda *Hind* III DNA ladder

แถวที่ 1 = เชื้อรา *Trichoderma* ไอโซเลท TM10h

แถวที่ 2 = เชื้อรา *Trichoderma* ไอโซเลท TM20h

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Copyright© by Chiang Mai University

All rights reserved

5. ศึกษากิจกรรมของเอนไซม์

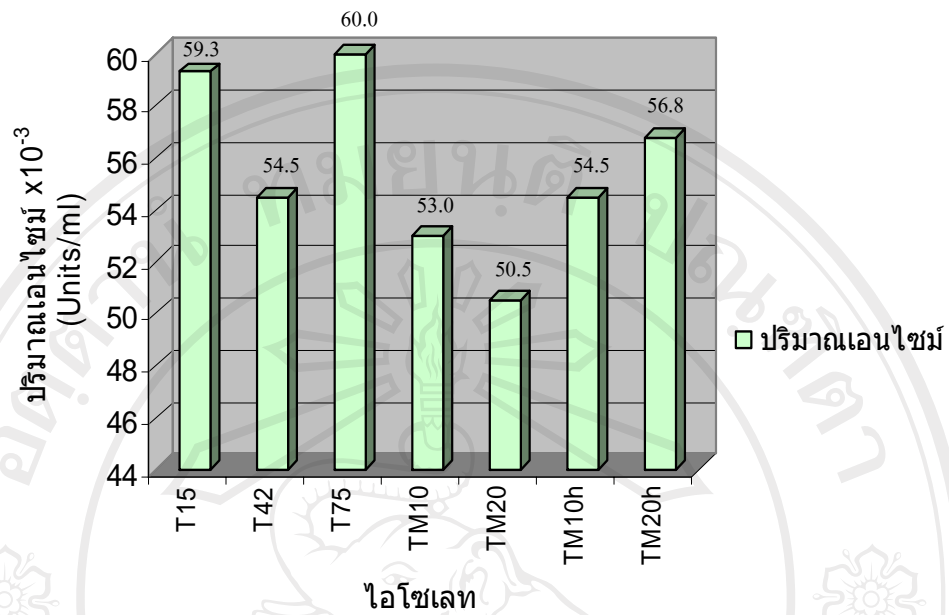
จากการนำเชื้อรา *Trichoderma* spp. ในไอโซเลทที่ไม่พบ dsRNA ได้แก่ T15, T42 และ T75 และไอโซเลทที่พบ dsRNA ได้แก่ TM10 และ TM20 และไอโซเลทที่ศึกษาความเสถียรและขจัด dsRNA ได้แก่ TM10h และ TM20h มาตรวจสอบกิจกรรมของเอนไซม์ที่ระยะเวลา 4 วัน พบว่า *Trichoderma* ไอโซเลท T15, T42 และ T75 มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ exo-chitinase ได้ 59.3×10^{-3} , 54.5×10^{-3} และ 60.0×10^{-3} หน่วยต่อมิลลิลิตรตามลำดับ ขณะที่ *Trichoderma* ไอโซเลท TM10, TM10h, TM20 และ TM20h มีปริมาณเอนไซม์ exo-chitinase เท่ากับ 53.0×10^{-3} , 54.5×10^{-3} , 50.5×10^{-3} และ 56.8×10^{-3} หน่วยต่อมิลลิลิตรตามลำดับ พบว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติในเชื้อรา *Trichoderma* ไอโซเลทที่พบ dsRNA และ ไม่พบ dsRNA (ตาราง 13) (ภาพ 15)

ตาราง 13 เปรียบเทียบปริมาณการสร้างเอนไซม์ของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ไอโซเลทที่พบ dsRNA และไม่พบ dsRNA

เชื้อราปฏิบัติ	ค่าเฉลี่ย (Units/ml) ¹
T15 (-dsRNA)	59.30×10^{-3} a ²
T42 (-dsRNA)	54.50×10^{-3} bc
T75 (-dsRNA)	60.00×10^{-3} a
TM10 (+dsRNA)	53.00×10^{-3} bc
TM20 (+dsRNA)	50.50×10^{-3} c
TM10h (+dsRNA)	54.50×10^{-3} bc
TM20h (+dsRNA)	56.80×10^{-3} ab
LSD (P=0.01)	2.18
CV (%)	5.57

¹ ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ

² ตัวอักษรต่างกันใน column เดียวกันแสดงว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ช่วงความเชื่อมั่น 99% ตามการจัดกลุ่มโดยวิธี Least Significant Different



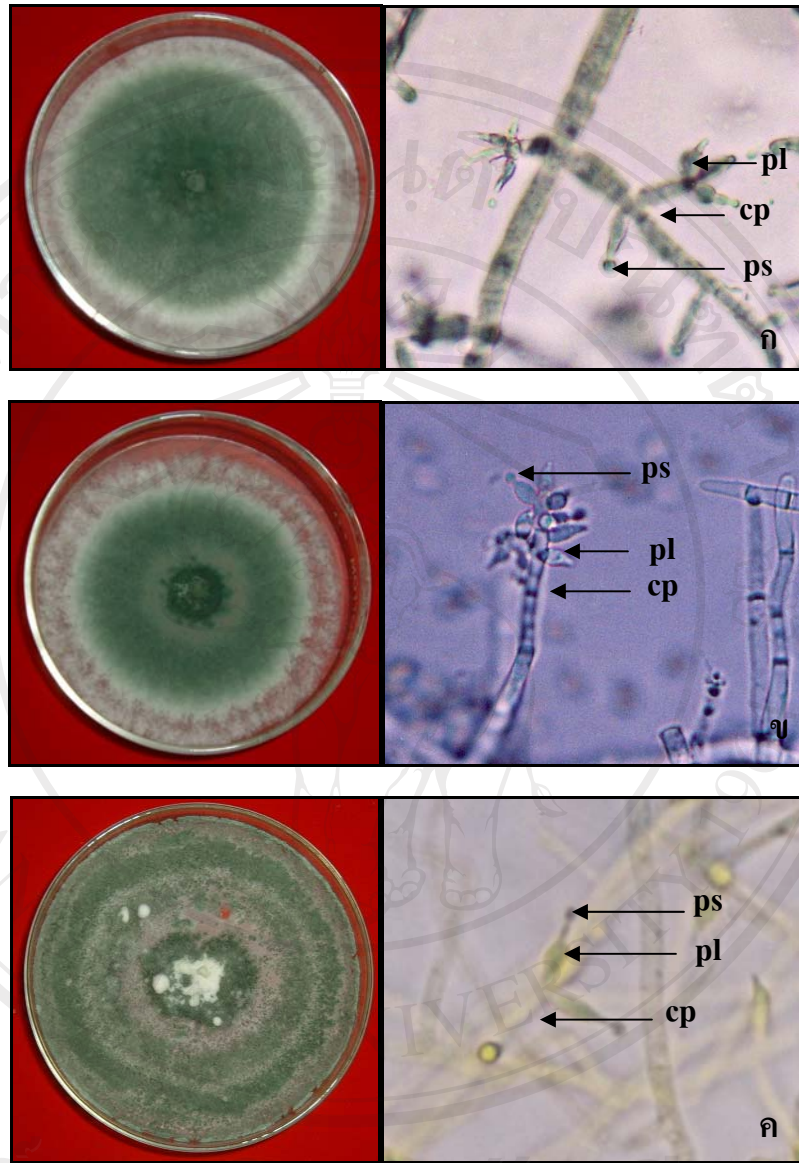
ภาพ 15 แผนภูมิแสดงปริมาณการสร้างเอนไซม์ *exo-chitinase* มีหน่วยเป็น $\times 10^3$ Units/ml ของเชื้อรา *Trichoderma* แต่ละไอโซเลทที่พบและไม่พบ dsRNA

6. การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา

Sclerotium rolfsii บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA โดยวิธี dual culture

จากการทดสอบความสามารถของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ไอโซเลทที่ไม่พบ dsRNA ได้แก่ T15, T42 และ T75 (ภาพ 16) เปรียบเทียบกับไอโซเลทที่พบ dsRNA ได้แก่ TM10 และ TM20 และไอโซเลทที่ศึกษาความเสถียรและขจัด dsRNA (TM10h และ TM20h) รวมจำนวนทั้งหมด 7 ไอโซเลท ในการควบคุมเชื้อรา *S. rolfsii* สาเหตุของโรครากและโคนเน่าของถั่วเหลือง(ภาพ 17)โดยวิธี dual culture บนอาหาร PDA พบว่า *Trichoderma* ไอโซเลท T15 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อรา *S. rolfsii* ได้ดีที่สุดคือ มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 71.67 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ ไอโซเลท T75 และ T42 มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุเท่ากับ 60.79 และ 54.93 เปอร์เซ็นต์ สำหรับเชื้อรา *Trichoderma* spp. ไอโซเลท TM10 และ TM20 ที่ตรวจพบ dsRNA มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุเท่ากับ 25.42 และ 24.62 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ยังพบว่า *Trichoderma* ไอโซเลท TM10h และ TM20h มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งได้มากขึ้นคือมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุเท่ากับ 28.52 และ 26.74 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อเปรียบเทียบทางสถิติระหว่างเชื้อราไอโซเลทที่พบและไม่พบ dsRNA พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ $P = 0.01$ (ตาราง 14)

จากการตรวจสอบลักษณะการเป็นปฏิปักษ์ของเชื้อรา *Trichoderma* spp. บนอาหาร PDA ที่มีเชื้อราสาเหตุเจริญอยู่ร่วมกัน พบว่าเชื้อรา *Trichoderma* ไอโซเลท T15 และ T42 เจริญเติบโตเร็วมีการแข่งขันสูง แย่งพื้นที่และแย่งอาหารจากเชื้อราสาเหตุ โดยโคโลนีของ *Trichoderma* เจริญรุกเข้าสู่โคโลนีของเชื้อราสาเหตุ สร้างเส้นใยและสปอร์ ปกคลุมและรุกเข้าไปเรื่อยๆ และพบว่าบริเวณที่เจริญชนกันจะเปลี่ยนเป็นสีเหลืองอ่อนๆ (ภาพ 18 ข และ 18 ค) สำหรับเชื้อรา *Trichoderma* ไอโซเลท T75 สามารถยับยั้ง เชื้อรา *S. rolfsii* ได้โดยการสร้าง clear zone (ภาพ 18 ง) ไอโซเลท TM10, TM20, TM10h และ TM20h ที่พบ dsRNA มีการเจริญเติบโตได้ช้ามากมีการแข่งขันต่ำ และพบว่าเชื้อราสาเหตุโรคมมีการเจริญได้รวดเร็วกว่าทำให้เกิดการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคมเจริญคลุมเชื้อรา *Trichoderma* จนกระทั่งเกือบเต็มจานเลี้ยงเชื้อ (ภาพ 18 จ, 18 ฉ, 16 ช และ 18 ซ) เมื่อเลี้ยงบนอาหาร PDA เป็นระยะเวลา 5 วัน

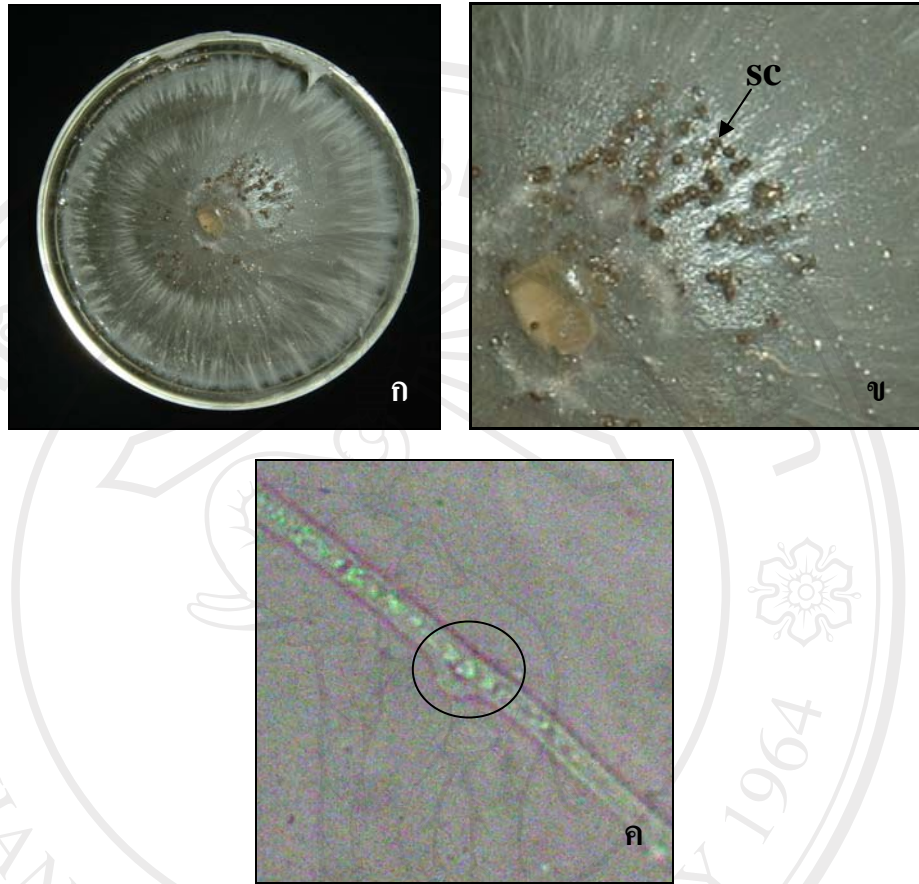


ภาพ 16 ลักษณะโคโลนีของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ไอโซเลท T15 (ก),

T42 (ข) และ T75 (ค) บนอาหาร PDA อายุ 5 วัน และลักษณะทาง

สัณฐานวิทยาได้แก่ conidiophore (cp), phialide (pl) และ phialospore (ps)

ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ 400 เท่า



ภาพ 17 ลักษณะโคโลนีของเชื้อรา *S. rolfsii* สาเหตุโรครากและโคนเน่าของ
ถั่วเหลือง บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA อายุ 7 วัน

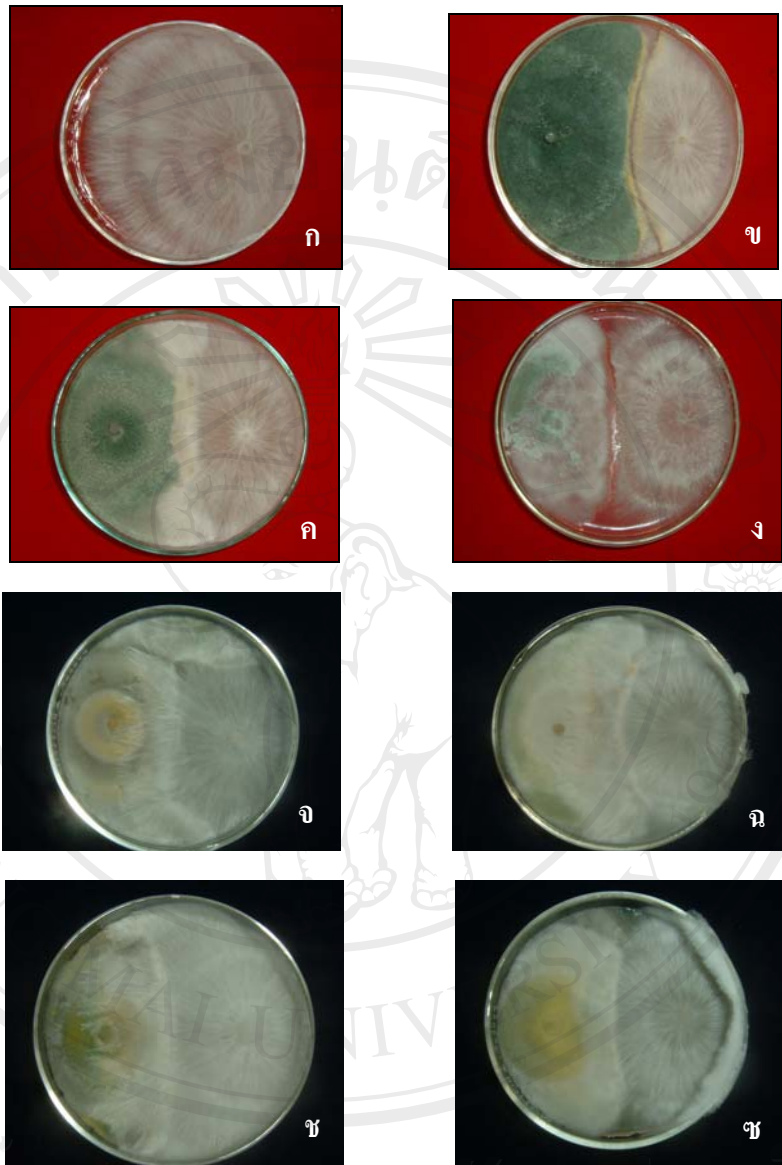
- ก. ลักษณะโคโลนีของเชื้อรา *S. rolfsii*
- ข. ลักษณะเม็ด sclerotium (sc) ของเชื้อรา *S. rolfsii*
- ค. ลักษณะ clamp connection

ตาราง 14 เปรียบเทียบประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ไอโซเลทที่พบ dsRNA และไม่พบ dsRNA ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *S. rolfsii* สาเหตุโรครากและโคนเน่าของ ถั่วเหลือง บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ภายในห้องปฏิบัติการ

เชื้อราปฏิปักษ์	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา <i>Trichoderma</i> spp. ¹
T15 (-dsRNA)	71.67 a ²
T42 (-dsRNA)	54.93 b
T75 (-dsRNA)	60.79 b
TM10 (+dsRNA)	25.42 c
TM10h (+dsRNA)	28.52 c
TM20 (+dsRNA)	24.62 c
TM20h (+dsRNA)	26.74 c
Control	0.00 d
LSD(P=0.01)	5.02
CV (%)	19.41

¹ ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ

² ตัวอักษรต่างกันใน column เดียวกันแสดงว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ช่วงความเชื่อมั่น 99% ตามการจัดกลุ่มโดยวิธี Least Significant Different



ภาพ 18 ประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma* (T) ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *S. rolfsii* (S) สาเหตุโรครากและโคนเน่าของถั่วเหลืองบนอาหาร PDA อายุ 5 วัน ชุดควบคุม (ก), T15 + S (ข), T42 + S (ค), T75 + S (ง), TM10+ S (จ), TM10h+ S (ฉ), TM20+ S (ช) และ TM20h+ S (ซ)

7. การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราไตรโคเดอร์มาในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา

S. *rolfsii* ภายในสภาพเรือนทดลอง

ได้คัดเลือกเชื้อรา *Trichoderma* ไอโซเลทที่ไม่พบ dsRNA ได้แก่ T15, T42 และ T75 และเชื้อรา *Trichoderma* ไอโซเลทที่พบ dsRNA ได้แก่ TM10 และ TM20 รวมทั้งไอโซเลทที่ทำการศึกษาความเสถียรและขจัด dsRNA ได้แก่ TM10h และ TM20h มาทำการทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อรา *S. rolfisii* ในสภาพเรือนทดลอง

ผลการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma* ระหว่างไอโซเลทที่ไม่พบ dsRNA และ พบ dsRNA กับเชื้อรา *S. rolfisii* สาเหตุโรครากและโคนเน่าของถั่วเหลือง โดยทำการประเมินการเกิดโรคที่ระยะเวลา 7, 14, 21 และ 28 วัน พบว่าที่ระยะเวลา 7 และ 14 วัน หลังจากปลูก ต้นกล้าถั่วเหลืองมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเพิ่มขึ้น จนกระทั่งที่ระยะเวลา 21 ถึง 28 วัน ต้นกล้าถั่วเหลืองมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเริ่มคงที่โดย พบว่าที่ระยะเวลา 21 วันเชื้อรา *Trichoderma* ไอโซเลทที่ไม่พบ dsRNA คือ T15 และ T75 มีประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อรา *S. rolfisii* ดีที่สุดโดยมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเท่ากับ 25 เปอร์เซ็นต์เท่ากัน รองลงมาคือ T42 มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเท่ากับ 48.75 เปอร์เซ็นต์ และเชื้อรา *Trichoderma* ไอโซเลทที่พบ dsRNA ได้แก่ TM10, TM10h, TM20 และ TM20h มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคสูงเท่ากับ 72.50, 62.25, 66.25 และ 63.75 เปอร์เซ็นต์ (ตาราง 15)(ภาพ 19) พบว่ามีความแตกต่างระหว่างเชื้อรา *Trichoderma* ไอโซเลทที่พบและไม่พบ dsRNA อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยในวิธีการทดลองที่ปลูกเชื้อรา *S. rolfisii* ผสมกับเชื้อรา *Trichoderma* ไอโซเลทที่พบ dsRNA ต้นถั่วเหลืองจะแสดงอาการเมส็ดเน่าก่อนงอก อาการเน่าบริเวณรากและโคนต้น หรือแสดงอาการเหี่ยวบริเวณใบ ซึ่งจะแสดงอาการในช่วงที่ต้นถั่วเหลืองมีอายุ 7 - 21 วัน (ภาพ 20)

ตาราง 15 เปรียบเทียบประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ไอโซเลทที่พบ dsRNA และไม่พบ dsRNA ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *S. rolfsii* สาเหตุโรครากและโคนเน่าของถั่วเหลือง ในสภาพเรือนทดลอง

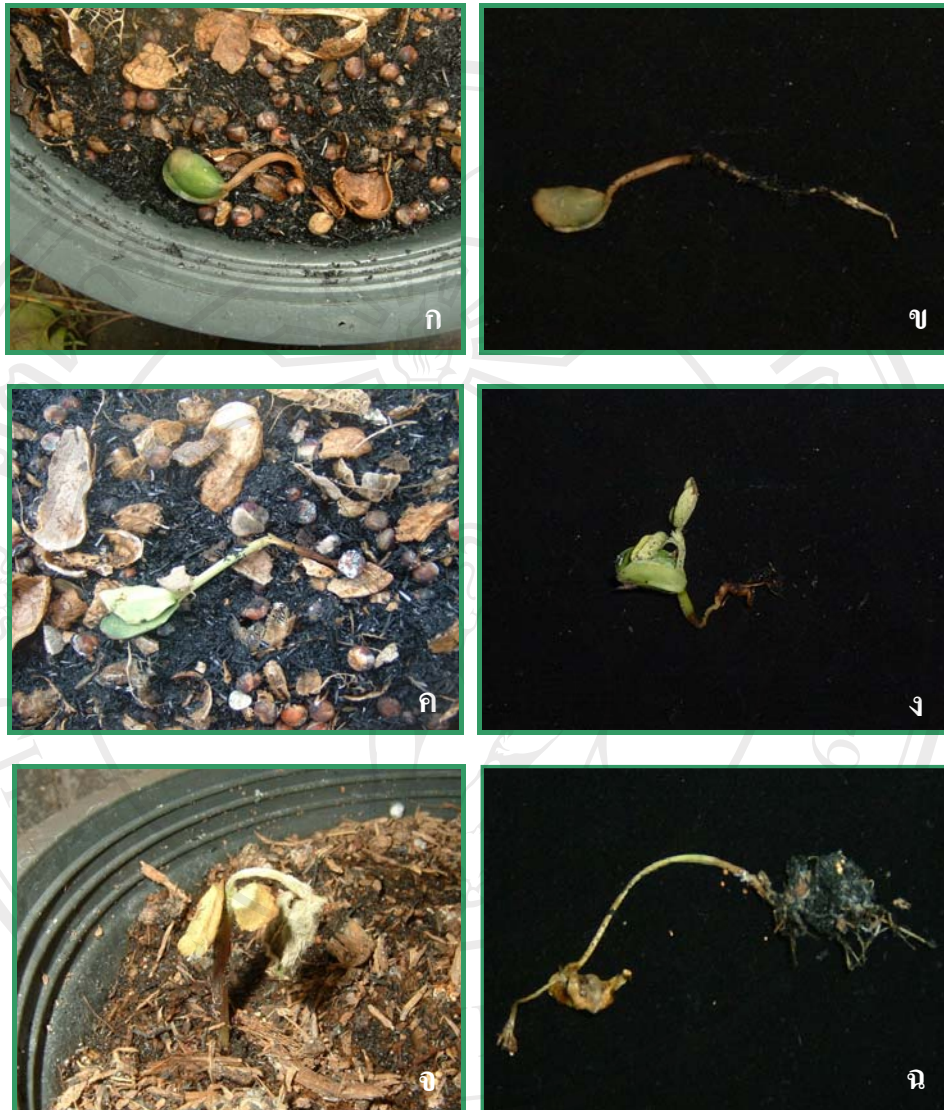
วิธีการทดลอง	เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคของถั่วเหลือง ¹ อายุ 21 วัน
T15 + S	25.00 b ²
T42 + S	48.75 c
T75 + S	25.00 b
TM10 + S	72.50 d
TM10h + S	62.25 cd
TM20 + S	66.25 d
TM20h + S	63.75 d
<i>S. rolfsii</i>	100.00 e
Control	0.00 a
LSD(P=0.01)	6.74
CV(%)	18.51

¹ ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ

² ตัวอักษรต่างกันใน column เดียวกันแสดงว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ช่วงความเชื่อมั่น 99% ตามการจัดกลุ่มโดยวิธี Least significant different



ภาพ 19 ลักษณะต้นถั่วเหลืองแต่ละวิธีการทดลองในสภาพเรือนทดลองที่ผสมเชื้อรา *Trichoderma* spp. (T) กับเชื้อราสาเหตุโรค *S. rolfsii* (S) ในดินปลูก อายุ 21 วัน ชุดควบคุม (ก), T15 + S (ข), T42 + S (ค), T75 + S (ง), TM10 + S (จ), TM10h + S (ฉ), TM20 + S (ช), TM20h + S (ซ) และปลูกเชื้อรา *S. rolfsii* เพียงอย่างเดียว (ฅ)



ภาพ 20 ลักษณะต้นถั่วเหลืองที่แสดงอาการของโรครากและโคนเน่าที่เกิดจากเชื้อรา *S. rolfsii* ในกระถางทดลองที่ผสมเชื้อรา *Trichoderma* ไอโซเลทที่พบ dsRNA
 ก, ข = อาการรากและโคนเน่าหลังออกของถั่วเหลืองเมื่ออายุ 5 วัน
 ค, ง = อาการโคนเน่าบริเวณลำต้นของถั่วเหลืองเมื่ออายุ 14 วัน
 ฉ, ฉ = อาการเหี่ยวของต้นถั่วเหลืองเมื่ออายุ 21 วัน