บทที่ 6

สรุปผลการทดลอง

การสำรวจและรวบรวมเชื้อรา *Trichoderma* จากตัวอย่างวัสดุเพาะในฟาร์มเห็ด และตัวอย่างดินในแปลงเกษตรกรและ พื้นที่จำนวน 24 อำเภอ จังหวัดเชียงใหม่ สามารถรวบรวมเชื้อรา *Trichoderma* spp. ได้ทั้งหมด 155 ไอโซเลท และแยกได้จากสารชีวภัณฑ์จำนวน 1 ไอโซเลท

การศึกษาการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Trichoderma* spp. จำนวน 156 ไอโซเลท บนอาหาร PDA สามารถแบ่งอัตราการเจริญออกเป็น 3 กลุ่มคือ1. เจริญเร็ว จำนวน 71 ไอโซเลท 2. เจริญปานกลาง จำนวน 78 ไอโซเลท 3. เจริญช้า จำนวน 7 ไอโซเลท และพบว่าทั้ง 3 กลุ่มมีอัตราการเจริญเฉลี่ย ± SD เท่ากับ 32.30 ± 1.62, 27.17± 2.32 และ 19.48 ± 0.56 มิลลิเมตรต่อวันตามลำดับ ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบเชื้อรา *Trichoderma* ที่แยกได้จากวัสดุเพาะในฟาร์มเห็ด จำนวน 35 ไอโซเลท มีลักษณะการเจริญเร็ว จำนวน 18 ไอโซเลท ลักษณะการเจริญปานกลาง จำนวน 16 ไอโซเลท และลักษณะการเจริญช้า จำนวน 1 ไอโซเลท โดยมีอัตราการเจริญเฉลี่ย ± SD เท่ากับ 32.87 ± 1.50, 27.52 ± 1.46 และ 18.40 ± 0 มิลลิเมตรต่อวัน สำหรับเชื้อรา *Trichoderma* ที่แยกจากตัวอย่างดินแปลงเกษตรกรแต่ละอำเภอ จ.เชียงใหม่ จำนวน 120 ไอโซเลท มีลักษณะการเจริญเร็ว จำนวน 52 ไอโซเลท ลักษณะการเจริญปานกลาง จำนวน 62 ไอโซเลท และลักษณะการเจริญช้า จำนวน 6 ไอโซเลท โดยมีอัตราการเจริญเฉลี่ย ± SD เท่ากับ 32.13 ± 1.63, 27.08 ± 2.50 และ 19.67 ± 0.32 มิลลิเมตรต่อวันตามลำดับ และเชื้อรา *Trichoderma* ที่แยกจากสารชีวภัณฑ์จำนวน 1 ไอโซเลท มีลักษณะการเจริญอยู่ในกลุ่มที่เจริญเร็วโดยเจริญได้มากกว่า 30 มิลลิเมตรต่อวัน

การศึกษาปริมาณการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *Trichoderma* spp. จำนวน 156 ไอโซเลท โดยเลี้ยงไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 10 วัน แล้วนับปริมาณการสร้างสปอร์ด้วย Haemacytometer สามารถแบ่งออกเป็น 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 และพบว่าทั้ง 3 กลุ่มมีปริมาณการสร้างสปอร์เฉลี่ย ± 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 และเมื่อเปรียบเทียบเชื้อรา *Trichoderma* ที่แยกได้จากวัสดุเพาะในฟาร์มเห็ดแต่ละฟาร์ม มีการสร้างสปอร์มากกว่า 10×10^{10} สปอร์/มิลลิลิตร จำนวน 5 ไอโซเลท

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

มีการสร้างสปอร์อยู่ระหว่าง 5-10 $\times 10^{10}$ สปอร์ /มิลลิลิตร จำนวน 27 ไอโซเลท และสร้างสปอร์น้อยกว่า 5×10^{10} สปอร์ /มิลลิลิตร จำนวน 3 ไอโซเลท โดยมีปริมาณการสร้างสปอร์เฉลี่ย $\pm$ 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 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 $\times 10^{10}$ สปอร์ /มิลลิลิตร จำนวน 37 ไอโซเลท โดยมีปริมาณการสร้างสปอร์เฉลี่ย $\pm$ 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 /มิลลิลิตรตามลำดับและเชื้อรา *Trichoderma* ที่แยกจากสาร ชีวภัณฑ์ มีการสร้างสปอร์มากกว่า 10×10^{10} สปอร์/มิลลิลิตร

การตรวจหา double-stranded RNA (dsRNA) จากเส้นใยและสปอร์ของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ทั้ง 156 ไอโซเลท โดยวิธีการซึ่งดัดแปลงมาจากวิธีการของ Jordan and Dodds (1985) และ Valverde *et al*. (1990) สามารถตรวจพบ dsRNA จำนวน 2 ไอโซเลท คือ TM10 พบแถบของ dsRNA ขนาดประมาณ 1000 bp และ TM20 พบแถบของ dsRNA ขนาดแตกต่างกัน 2 แถบมีขนาดประมาณ 700 bp และ 1100 bp การศึกษาความเสถียรและขจัด dsRNA โดยทดสอบเลี้ยงเชื้อรา *Trichoderma* spp. ไอโซเลท TM10 และ TM20 ที่ตรวจพบ dsRNA ไว้ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 3 ชั่วโมง สลับกับเลี้ยงไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้ว sub culture เป็นจำนวน 10 รุ่น พบว่าทั้ง TM10 และ TM20 มีอัตราการเจริญและการสร้างสปอร์เพิ่มขึ้น แต่ยังสามารถตรวจพบแถบของ dsRNA อยู่

เมื่อศึกษากิจกรรมการสร้างเอนไซม์ exo-chitinase ของเชื้อรา *Trichoderma* ไอโซเลทที่ไม่พบ dsRNA ได้แก่ T15, T42 และ T75 ไอโซเลทที่พบ dsRNA ได้แก่ TM10 และ TM20 และไอโซเลทที่ได้จากการศึกษาความเสถียรและขจัด dsRNA ได้แก่ TM10h และ TM20h พบว่าเชื้อรา *Trichoderma* spp. ทั้ง 7 ไอโซเลท มีปริมาณการสร้างเอนไซม์ exo-chitinase ที่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญในระหว่างเชื้อรา *Trichoderma* spp. ไอโซเลทที่พบและไม่พบ dsRNA

การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ไอโซเลทที่ไม่พบ dsRNA ได้แก่ T15, T42 และ T75 ไอโซเลทที่พบ dsRNA ได้แก่ TM10 และ TM20 และไอโซเลทที่ศึกษาความเสถียรและขจัด dsRNA ได้แก่ TM10h และ TM20h ในการควบคุมเชื้อรา *S. rolfsii* สาเหตุของโรครากและโคนเน่าของถั่วเหลืองโดยวิธี dual culture พบว่า *Trichoderma* spp. ไอโซเลทที่ไม่พบ dsRNA มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อรา *S. rolfsii* ได้ดีกว่าเชื้อรา *Trichoderma* spp.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ไอโซเลทที่พบ dsRNA และไอโซเลทที่ศึกษาความเสถียรและขจัด dsRNA ซึ่งพบว่าไอโซเลทที่พบ dsRNA ได้แก่ TM10, TM20, TM10h และ TM20h ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *S. rolfsii* ได้โดยพบว่าเชื้อรา *S. rolfsii* มีการเจริญได้รวดเร็วกว่าทำให้สามารถเจริญเข้าปกคลุมเส้นใยของเชื้อรา *Trichoderma* จนกระทั่งเกือบเต็มจานเลี้ยงเชื้อที่ระยะเวลา 5 วัน และพบว่ามีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญระหว่างเชื้อรา *Trichoderma* กลุ่มที่พบและไม่พบ dsRNA

จากการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ในการควบคุมเชื้อรา *S. rolfsii* ในสภาพเรือนทดลอง พบว่าที่ระยะเวลา 21 วัน เชื้อรา *Trichoderma* ไอโซเลท T15 และ T75 มีประสิทธิภาพสูงในการควบคุมเชื้อรา *S. rolfsii* โดยมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเท่ากับ 25 เปอร์เซ็นต์เท่ากัน รองลงมาคือ T42 มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเท่ากับ 48.75 เปอร์เซ็นต์ กลุ่มที่พบ dsRNA คือ TM10 และ TM20 พบว่ามีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคต่ำคือ มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเท่ากับ 72.50 และ 66.25 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างจากเชื้อรา *Trichoderma* กลุ่มที่ไม่พบ dsRNA อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P=0.01) สำหรับไอโซเลท TM10h และ TM20h พบว่ามีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคได้สูงขึ้น คือมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเท่ากับ 62.25 และ 63.75 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P=0.01)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved