

การทดสอบและเปรียบเทียบประสิทธิภาพของเชื้อราไตรโคเดอร์มาสายพันธุ์กลาย และสายพันธุ์คัดเลือกใหม่ในการควบคุมโรคไหม้ของข้าว

Evaluation and Comparison of the Efficacy of Mutant and Newly Selected *Trichoderma* Strains in Controlling Rice Blast Disease

นุจรินทร์ จังขันธ โกเมส เด ฟาเรียส^{1*} ดวงกมล บุญช่วย² วันพร เข้มมุกต์³

จิราภรณ์ กวงใหม่¹ กนกพร มะโนเรือง¹ อัญชลี ตาคำ⁴ และ พยอรม โคเบลลี³

Nootjarin Jungkhun Gomes de Farias^{1*}, Duangkamon Boonchuay², Wanporn Khemmuk³,
Jiraporn Kuangmai¹, Kanokporn Manoruang¹, Anchalee Takham⁴ and Payorm Cobelli³

¹ ศูนย์วิจัยข้าวเชียงราย อ.พาน จ.เชียงราย 57120

¹ Chiang Rai Rice Research Center, Phan, Chiang Rai, 57120, Thailand

² ศูนย์วิจัยข้าวชัยนาท อ.เมืองชัยนาท จ.ชัยนาท 17000

² Chainat Rice Research Center Khao, Mueang Chainat, Chainat 17000, Thailand

³ กองวิจัยและพัฒนาข้าว กรมการข้าว เขตจตุจักร กรุงเทพฯ 10900

³ Division of Rice Research and Development, Rice Department, Chatuchak, Bangkok 10900, Thailand

⁴ ศูนย์วิจัยข้าวเชียงใหม่ อ.สันป่าตอง จ.เชียงใหม่ 50120

⁴ Chiang Mai Rice Research Center, San Pa Tong, Chiang Mai 50120, Thailand

*Corresponding author: Email: Nootjarin.nan@gmail.com

(Received: 20 November 2025; Revised: 27 January 2026 ; Accepted: 28 January 2026)

Abstract: Rice blast (*Pyricularia oryzae*) is a major disease affecting rice yield and quality in Thailand. The use of *Trichoderma* spp. is a potential biological disease management option that also promotes sustainable rice production. This research aimed to evaluate the efficacy of highly effective mutant and newly selected strains of *Trichoderma* spp. for sustainable rice blast disease management. Previously characterized gamma and UV-irradiated mutants and newly selected strains were tested *in vitro* for their ability to inhibit *P. oryzae* isolates. The mutant strains TEPCNT002_Gamma_003, TCNT_003 Gamma_005, and TEPCNT002_Gamma_001 continued to exhibit good inhibitory activity, particularly the TEPCNT002_Gamma_003 mutant. Besides, three newly selected isolates, 66TRCRPA2-1, 66TRCMMC1-1, and 66TRCMMC2-4, also showed good inhibitory activity. The strain TEPCNT002_Gamma_003, identified by nucleotide sequence analysis of the internal transcribe spacer (ITS) translation elongation factor 1-alpha (tef 1 α) และ RNA polymerase II subunit B (rpb2) as *Trichoderma asperelloides*, exhibited excellent

Copyright © Journal of Agricultural Research and Communications. All rights reserved.

disease control when tested in greenhouse conditions and was the most effective in controlling blast disease when tested in field conditions. This research indicates that inducing mutations in *Trichoderma* fungi is an effective approach to enhance disease control potential. *T. asperelloides* TEPCNT002_Gamma_003 can be a sustainable alternative to chemical agents for the control of rice blast disease.

Keywords: *Trichoderma*, rice blast disease, biological control, mutations in *Trichoderma* fungi

บทคัดย่อ: โรคไหม้ข้าว (*Piricularia oryzae*) เป็นโรคสำคัญที่ส่งผลต่อผลผลิตและคุณภาพข้าวในประเทศไทย การใช้เชื้อราไตรโคเดอร์มา (*Trichoderma* spp.) จึงเป็นทางเลือกของการจัดการโรคโดยชีววิธีที่มีศักยภาพและส่งเสริมการผลิตข้าวอย่างยั่งยืน การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินและยืนยันประสิทธิภาพของเชื้อไตรโคเดอร์มาสายพันธุ์กลายและคัดเลือกใหม่ที่มีประสิทธิภาพสูงในการจัดการโรคไหม้ข้าวอย่างยั่งยืน โดยนำเชื้อไตรโคเดอร์มาสายพันธุ์กลายที่ได้จากการชักนำด้วยรังสีแกมมาและรังสียูวี และสายพันธุ์คัดเลือกใหม่มาทดสอบความสามารถในการยับยั้งไอโซเลทของเชื้อรา *P. oryzae* ในห้องปฏิบัติการ จากการทดสอบพบว่า สายพันธุ์กลาย TEPCNT002_Gamma_003, TCNT_003 Gamma_005 และ TEPCNT002_Gamma_001 และไอโซเลทคัดเลือกใหม่ 66TRCPA2-1, 66TRMMC1-1 และ 66TRMMC2-4 ยังคงแสดงประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อได้ดี โดยเฉพาะสายพันธุ์กลาย TEPCNT002_Gamma_003 ซึ่งถูกจำแนกชนิดด้วยการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ตำแหน่ง internal transcribe spacer (ITS) translation elongation factor 1-alpha (*tef1α*) และ RNA polymerase II subunit B (*rpb2*) ว่าเป็น *Trichoderma asperelloides* แสดงการควบคุมโรคได้ดีเมื่อทดสอบในสภาพโรงเรือน และมีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคไหม้ได้ดีที่สุดเมื่อทดสอบในสภาพแปลงนาทดลอง การทดสอบนี้ชี้ให้เห็นว่า การชักนำให้เชื้อราไตรโคเดอร์มาเกิดการกลายพันธุ์เป็นแนวทางที่มีประสิทธิภาพในการเพิ่มศักยภาพการควบคุมโรค โดย *T. asperelloides* TEPCNT002_Gamma_003 สายพันธุ์กลายนี้จะเป็นทางเลือกที่ยั่งยืนในการใช้ทดแทนสารเคมีเพื่อควบคุมโรคไหม้ข้าวต่อไป

คำสำคัญ: ไตรโคเดอร์มา โรคไหม้ข้าว การควบคุมโดยชีววิธี การกลายพันธุ์ของเชื้อราไตรโคเดอร์มา

คำนำ

โรคไหม้ข้าว (rice blast disease) เกิดจากเชื้อรา *Piricularia oryzae* เป็นโรคที่ก่อให้เกิดความเสียหายทางเศรษฐกิจอย่างรุนแรงต่อผลผลิตข้าวทั่วโลก รวมถึงในประเทศไทย (Jantasuriyarat and Katengam, 2009) แม้ว่าการควบคุมโรคไหม้ข้าวในปัจจุบันยังคงพึ่งพาการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราเป็นหลัก แต่การใช้สารเคมีอย่างต่อเนื่องได้สร้างปัญหาสำคัญด้านความต้านทานของเชื้อรา การตกค้างในสิ่งแวดล้อม และความเสี่ยงต่อสุขภาพ (Khilaimala, 2015) ด้วยเหตุนี้ จึงมีความจำเป็นในการพัฒนาแนวทางควบคุมโรคที่ปลอดภัย

และเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม โดยเฉพาะอย่างยิ่ง การควบคุมโรคพืชด้วยชีววิธี (biocontrol)

การใช้เชื้อราปฏิปักษ์ไตรโคเดอร์มา (*Trichoderma* spp.) ได้รับความสนใจเพิ่มขึ้นอย่างมากในการเกษตรที่ยั่งยืน เนื่องจากเชื้อราไตรโคเดอร์มามีกลไกการควบคุมที่ซับซ้อนและหลากหลาย เช่น การเป็นปรสิต การสร้างสารปฏิชีวนะ รวมถึงความสามารถในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช และกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันของพืช (induced systemic resistance; ISR) (Shores et al., 2010) งานวิจัยก่อนหน้านี้ได้แสดงศักยภาพของไตรโคเดอร์มาในการลดความรุนแรงของโรคไหม้ข้าวในระยะต่าง ๆ (Singh et al., 2012) เพื่อเพิ่ม

ศักยภาพของเชื้อราปฏิปักษ์ให้สูงขึ้น จึงมีการนำเทคนิคการชักนำการกลายพันธุ์แบบดั้งเดิม (classical mutagenesis) ด้วยรังสีไอออนไนซ์ เช่น รังสีแกมมา มาใช้เพื่อปรับปรุงลักษณะทางฟีโนไทป์และเพิ่มประสิทธิภาพการควบคุมเชื้อโรค (Abbasi *et al.*, 2016) วิธีการนี้ช่วยให้สามารถพัฒนาสายพันธุ์ที่มีคุณสมบัติเด่นขึ้นมาใหม่ได้ โดยยังคงเป็นวิธีการที่หลีกเลี่ยงข้อจำกัดด้านสิ่งมีชีวิตดัดแปลงพันธุกรรม (GMOs) (Tran *et al.*, 2025) งานวิจัยของ Boonchuay *et al.* (2024) พบว่า เชื้อรา *T. asperelloides* ที่ผ่านการชักนำให้กลายพันธุ์ หลายไอโซเลตแสดงประสิทธิภาพการยับยั้ง *P. oryzae* ในห้องปฏิบัติการได้สูง ผลลัพธ์นี้แสดงให้เห็นอย่างชัดเจนถึงการเพิ่มศักยภาพของเชื้อราปฏิปักษ์ผ่านการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ และเป็นก้าวสำคัญในการนำไปประยุกต์ใช้เพื่อพัฒนาเป็นชีวภัณฑ์ที่มีประสิทธิภาพต่อไปในอนาคต

การจำแนกชนิดของเชื้อราไตรโคเดอร์มาด้วยเทคนิคทางอนุชีววิทยาเป็นวิธีที่ให้ความแม่นยำสูง โดยเฉพาะเทคนิคการหาลำดับเบสหลายยีน (multilocus sequence typing; MLST) และการหาลำดับเบสจีโนมทั้งหมด (whole genome sequencing; WGS) โดย MLST เป็นเทคนิคที่ใช้ลำดับเบสของยีนหลายตำแหน่ง (multiple loci) แต่มีข้อจำกัดด้านข้อมูลที่ได้เฉพาะบริเวณที่เลือกศึกษาเท่านั้น (Druzhinina *et al.*, 2005) ในทางกลับกัน WGS เป็นการหาลำดับเบสของจีโนมทั้งหมด ทำให้ได้ข้อมูลที่ละเอียดและครอบคลุมที่สุดสามารถใช้ระบุสายพันธุ์ได้อย่างแม่นยำ และช่วยในการวิเคราะห์ยีนที่เกี่ยวข้องกับกลไกการควบคุมโรคได้อย่างไรก็ตาม WGS ยังคงมีข้อจำกัดในด้านความซับซ้อนของการวิเคราะห์ข้อมูลทางชีวสารสนเทศ (bioinformatics) ซึ่งต้องอาศัยผู้เชี่ยวชาญและทรัพยากรในการประมวลผลสูงกว่า MLST มาก (Ross and Santiago-Tirado, 2024)

ดังนั้น การศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อคัดเลือกและประเมินประสิทธิภาพของไอโซเลตเชื้อราไตรโคเดอร์มาสายพันธุ์คัดเลือกใหม่และสายพันธุ์กลายในการยับยั้งไอโซเลตของ *P. oryzae* จากพื้นที่ต่างๆ พร้อมทั้งจำแนกชนิดของสายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพสูงสุดด้วยเทคนิค WGS ก่อนประเมินผลการควบคุมโรคไหม้ข้าวในสภาพโรงเรือนและแปลงนาทดสอบ เพื่อนำไปสู่การ-

พัฒนาชีวภัณฑ์ประสิทธิภาพสูง สำหรับใช้ในระบบการผลิตข้าวอย่างยั่งยืนและปลอดภัยต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

1. ทดสอบประสิทธิภาพเชื้อราไตรโคเดอร์มาสายพันธุ์กลายและสายพันธุ์คัดเลือกใหม่ต่อการยับยั้งเชื้อรา *P. oryzae* สาเหตุโรคไหม้จากพื้นที่ต่าง ๆ ในห้องปฏิบัติการ

การศึกษาเริ่มต้นด้วยการประเมินประสิทธิภาพการเป็นปฏิปักษ์ของเชื้อราไตรโคเดอร์มา 6 สายพันธุ์กลาย ที่คัดเลือกจากงานวิจัยของ Boonchuay *et al.* (2024) และ 5 สายพันธุ์คัดเลือกใหม่จากงานวิจัยของ Gomes de Farias *et al.* (2023) รวมทั้งหมด 11 สายพันธุ์ โดยทำการทดสอบการยับยั้งกับเชื้อรา *P. oryzae* สาเหตุโรคไหม้ ไอโซเลตจาก 3 แหล่งที่เป็นตัวแทนของภูมิภาคในการพบการระบาดในประเทศไทย ได้แก่ จังหวัดเชียงราย (NB CRI), สุพรรณบุรี (NB SPB), และศรีสะเกษ (NB SSK) การทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อราดังกล่าว ดำเนินการโดย วิธี dual culture (Bastakoti *et al.*, 2017) บนอาหาร potato dextrose agar (PDA) วางแผนการทดลองแบบ completely randomized design (CRD) จำนวน 3 ซ้ำ (Tshilenge-Lukanda *et al.*, 2024) หลังจากนั้นคำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อรา (percent inhibition of radial growth; PIRG) เพื่อประเมินประสิทธิภาพก่อนที่จะคัดเลือกไอโซเลตที่แสดงค่า PIRG สูงสุด รวม 6 ไอโซเลต (สายพันธุ์กลาย 3 อันดับแรก และสายพันธุ์คัดเลือกใหม่ 3 อันดับแรก) เพื่อนำไปทดสอบการควบคุมโรคไหม้ในสภาพโรงเรือนต่อไป

2. การศึกษาลักษณะทางพันธุกรรมของเชื้อราไตรโคเดอร์มาสายพันธุ์กลายด้วยวิธีชีวโมเลกุล

ศึกษาความเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมเชื้อราไตรโคเดอร์มาในสายพันธุ์กลาย TEPCNT002_Gamma_003 และสายพันธุ์ดั้งเดิม TEPCNT002 โดยเริ่มจากการสกัดดีเอ็นเอจากเชื้อบริสุทธิ์ที่เลี้ยงบนอาหาร PDA ด้วยชุด DNeasy UltraClean Microbial Kit (Qiagen) ประเทศเยอรมนี วัดปริมาณดีเอ็นเอด้วยเครื่อง

Qubit Fluorometer ยี่ห้อ Invitrogen (Thermo Fisher Scientific) รุ่น Qubit 4 Fluorometer ประเทศสหรัฐอเมริกา และดำเนินการหาลำดับจีโนมทั้งหมด (WGS) โดยใช้เครื่อง Illumina Miseq ยี่ห้อ Illumina รุ่น NovaSeq X Plus ประเทศสหรัฐอเมริกา ข้อมูลลำดับเบสที่ได้ถูกนำมาวิเคราะห์ทางชีวสารสนเทศโดยคัดกรองคุณภาพด้วยโปรแกรม Fastp (v0.23.1) (Chen *et al.*, 2018) ก่อนทำการประกอบจีโนมใหม่แบบ *de novo* assembly ด้วยโปรแกรม SPAdes v4.2.0 (Bankevich *et al.*, 2012) สำหรับการจำแนกชนิดลำดับเบสในตำแหน่ง internal transcribe spacer (ITS) translation elongation factor 1-alpha (*tef-1α*) และ RNA polymerase II subunit B (*rpb2*) ค้นหาลำดับ contigs ที่ประกอบใหม่ โดยใช้โปรแกรม BLAST+ (v. 2.17.0) (Camacho *et al.*, 2009) เปรียบเทียบกับข้อมูลอ้างอิง *T. asperelloides* ไอโซเลท GJS 04-111T และ GJS 04-187 ก่อนจะนำไปเปรียบเทียบกับฐานข้อมูล NCBI GenBank และวิเคราะห์แผนภูมิวิวัฒนาการตามวิธีการของ de Farias *et al.* (2024) ต่อไป

3. ทดสอบประสิทธิภาพเชื้อราไตรโคเดอร์มาในสภาพโรงเรือน

ปลูกข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 วางแผนการทดลองแบบ randomized complete block design (RCBD) (Khalili *et al.*, 2012) รวม 12 กรรมวิธี ๆ ละ 4 ซ้ำ ๆ ละ 1 กระถาง ๆ ละ 3 ต้น กรรมวิธีในการทดลองประกอบด้วย 6 ไอโซเลทของเชื้อราไตรโคเดอร์มาที่คัดเลือกจากผลการทดสอบในห้องปฏิบัติการ (สายพันธุ์กลาย 3 ไอโซเลท และสายพันธุ์คัดเลือกใหม่ 3 ไอโซเลท) เปรียบเทียบกับเชื้อดั้งเดิม (wild type) (2 ไอโซเลท), เชื้อราไตรโคเดอร์มาจากกรมส่งเสริมการเกษตร (TDOAE002), สารเคมีควบคุม (Tricyclazole 75% WP), และชุดควบคุม (น้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อที่ปลูกเชื้อและไม่ปลูกเชื้อ) โดยไอโซเลทเชื้อราไตรโคเดอร์มาที่ใช้ถูกเตรียมเป็นสปอร์แขวนลอยที่ความเข้มข้น 1×10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร พ่นบนต้นข้าวก่อนปลูกเชื้อ *P. oryzae* 1 วัน เมื่อข้าวอายุ 30 วัน ปลูกเชื้อ *P. oryzae* (ผสมไอโซเลทตัวแทนจาก 3 ภูมิภาค) ด้วยสปอร์แขวนลอยความเข้มข้นประมาณ 5×10^4 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ประเมินความรุนแรงของโรคตาม standard evaluation system (SES) ของ

IRRI (International Rice Research Institute, 2013) และคำนวณดัชนีความรุนแรงของโรคตามวิธีการของ Townsend and Heuberger (1943)

4. ทดสอบประสิทธิภาพเชื้อราไตรโคเดอร์มาในแปลงทดลอง

ปลูกข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ด้วยวิธีหว่านน้ำตามในแปลงย่อยขนาด 4x7 เมตร (28 ตารางเมตร) วางแผนการทดลองแบบ RCBD (Bhusal *et al.*, 2018) จำนวน 6 กรรมวิธี ๆ ละ 4 ซ้ำ กรรมวิธีที่ใช้ประกอบด้วยสายพันธุ์ที่แสดงประสิทธิภาพสูงสุดในโรงเรือน ได้แก่ สายพันธุ์กลาย TEPCNT002_Gamma_003, สายพันธุ์คัดเลือกใหม่ 66TRCPA2-1, เชื้อสายพันธุ์ดั้งเดิม TEPCNT002, เชื้อราไตรโคเดอร์มาจากกรมส่งเสริมการเกษตร (TDOAE002), สารเคมีควบคุม (Tricyclazole 75% WP), และชุดควบคุม (น้ำเปล่า) เชื้อราไตรโคเดอร์มาถูกเตรียมเป็นสปอร์แขวนลอยความเข้มข้น 1×10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร พ่นด้วยปริมาตร 0.7 ลิตรต่อครั้งต่อแปลงย่อย (คำนวณจากอัตราการใช้ 40 ลิตรต่อไร่) จำนวน 4 ครั้ง ได้แก่ ระยะกล้า, ระยะแตกกอ, ตั้งท้อง และระยะออกรวง 5-10 เปอร์เซ็นต์ ประเมินความรุนแรงของโรคตาม SES ของ IRRI (International Rice Research Institute, 2013) และคำนวณดัชนีความรุนแรงของโรคตามวิธีการของ Townsend and Heuberger (1943) ดังนี้ ดัชนีความรุนแรงของโรค (DI %) = $\frac{[\sum ((n \times v)] / N \times V) \times 100}{\text{โดย } n = \text{จำนวนใบในแต่ละระดับคะแนน } v = \text{ระดับคะแนนความรุนแรงของโรค (Numerical Grade) } N = \text{จำนวนใบทั้งหมดที่ประเมิน และ } V = \text{ระดับความรุนแรงของโรคสูงสุด (Highest Category)}}$ ประเมินการเกิดอาการไหม้คอร่วงก่อนเก็บเกี่ยว 1 สัปดาห์ คำนวณและบันทึกผลผลิตที่ความชื้น 14 เปอร์เซ็นต์ จากพื้นที่เก็บเกี่ยว 2x5 เมตร (10 ตารางเมตร)

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. ทดสอบประสิทธิภาพเชื้อราไตรโคเดอร์มาสายพันธุ์กลายและสายพันธุ์คัดเลือกใหม่ต่อการยับยั้งเชื้อรา *P. oryzae* สาเหตุโรครไหม้จากพื้นที่ต่าง ๆ ในห้องปฏิบัติการ

การทดสอบประสิทธิภาพเชื้อราไตรโคเดอร์มาสายพันธุ์กลายในการการยับยั้งเชื้อรา *P. oryzae* จาก 3 ไอโซเลท (NB CRI, NB SPB, และ NB SSK) ในห้องปฏิบัติการ พบว่า ประสิทธิภาพการยับยั้งมีความผันแปรตามไอโซเลทของเชื้อ *P. oryzae* ที่นำมาทดสอบ โดยเชื้อ *P. oryzae* ไอโซเลท NB CRI นั้น TEPCNT002_Gamma_001 สามารถยับยั้งการเจริญได้ดีที่สุด เปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 53.44 เปอร์เซ็นต์ มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับไอโซเลทอื่น และสายพันธุ์ดั้งเดิมทั้ง 2 ไอโซเลท การทดสอบกับไอโซเลท NB SPB พบว่า สายพันธุ์กลาย TEPCNT002_Gamma_001 TEPCNT002_Gamma_002 TEPCNT002_Gamma_003 TCNT003_Gamma_005 และ TCNT003_UV15min_070 แสดงความสามารถในการยับยั้งได้ดีที่สุด แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ แต่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับสายพันธุ์กลาย TCNT003_UV15min_048 และสายพันธุ์ดั้งเดิมทั้ง 2 ไอโซเลท โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอยู่ในช่วง 66.16-67.09 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่การทดสอบกับไอโซเลท NB SSK พบว่า TEPCNT002_Gamma_003 แสดงความสามารถในการยับยั้งได้ดีที่สุด เปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 65.50 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับสายพันธุ์ดั้งเดิมทั้งสองไอโซเลท และสายพันธุ์กลายอื่น ยกเว้นไอโซเลท TEPCNT002_Gamma_001 ที่แสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (Table 1, Figure 1)

ผลการทดสอบนี้ยืนยันว่า การชักนำด้วยรังสีแกมมา (mutagenesis) เป็นแนวทางที่มีประสิทธิภาพในการเพิ่มศักยภาพการเป็นปฏิปักษ์ของ *Trichoderma* spp. ต่อเชื้อรา *P. oryzae* โดยสอดคล้องกับรายงานของ Tran *et al.* (2025) ที่ระบุว่าสายพันธุ์กลายที่ชักนำด้วยรังสีแกมมาสามารถเพิ่มอัตราการยับยั้งเชื้อ *P. oryzae* ในห้องปฏิบัติการได้สูงถึง 92.57 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งชี้ให้เห็นว่าสายพันธุ์กลายที่ชักนำด้วยรังสีแกมมาสามารถเพิ่มอัตราการยับยั้งเชื้อ *P. oryzae* ได้สูง

ในส่วน of สายพันธุ์คัดเลือกใหม่ เชื้อราไตรโคเดอร์มาทุกไอโซเลทมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อรา *P. oryzae* ทั้ง 3 ไอโซเลท โดยไม่มีความแตกต่างทางสถิติ โดยเปอร์เซ็นต์การยับยั้งไอโซเลท NB CRI อยู่ในช่วง 46.08-52.92 ไอโซเลท NB SPB อยู่ในช่วง 62.38-68.65 และ NB SSK อยู่ในช่วง 56.13-65.00 เปอร์เซ็นต์ (Table 2, Figure 2) จากการทดลองนี้ ได้คัดเลือกไอโซเลท 66TRCPA2-1 ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 68.65 เปอร์เซ็นต์ ไปใช้ในการทดลองต่อไป โดยเปอร์เซ็นต์การยับยั้งนี้สูงกว่าอัตราการยับยั้งสูงสุดที่รายงานในงานวิจัย เช่น การยับยั้งได้ 60 เปอร์เซ็นต์ของไอโซเลท Ts7B1 (Tshilenge-Lukanda *et al.*, 2024) หรือ 43.99 เปอร์เซ็นต์ของ *T. harzianum* (Pandit *et al.*, 2024) ประสิทธิภาพที่สูงนี้อาจเป็นผลมาจากกลไกการผลิตสารปฏิชีวนะหรือเอนไซม์ย่อยผนังเซลล์ของไอโซเลทนี้ที่ทำงานได้ดีกว่า (Prismantoro *et al.*, 2024)

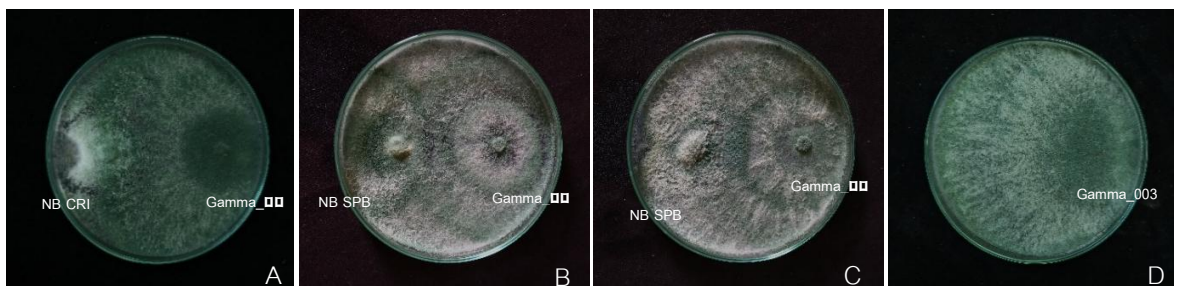


Figure 1. Effect of mutant *Trichoderma* sp. TEPCNT002_Gamma_003 against *P. oryzae* isolates. (A) NB CRI, (B) NB SPB, (C) NB SSK and (D) Control: TEPCNT002_Gamma_003

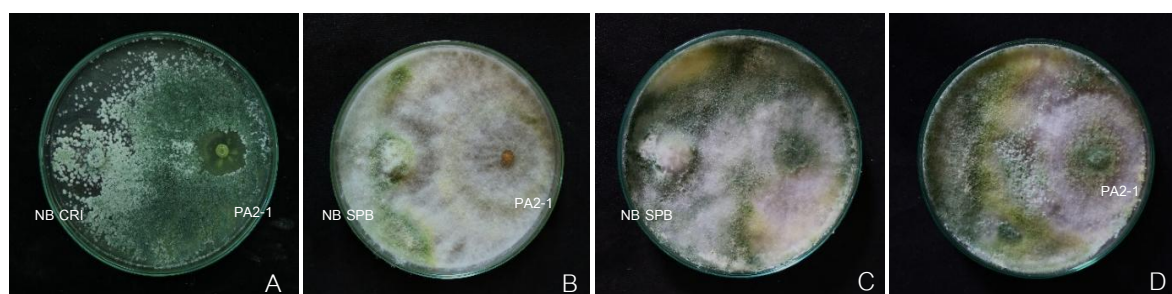


Figure 2. Effect of *Trichoderma* sp. 66TRCRPA2-1 against *P. oryzae* isolates. (A) NB CRI, (B) NB SPB, (C) NB SSK and (D) Control: 66TRCRPA2-1

Table 1. Percentage inhibition of radial growth of antagonistic *Trichoderma* isolates against *P. oryzae* isolate NB CRI, NB SPB, and NB SSK

<i>Trichoderma</i> spp.	Radial growth inhibition (%) against <i>P. oryzae</i>		
	NB CRI	NB SPB	NB SSK
TEPCNT002_Gamma_001	53.44 ± 0.85a ¹	66.61 ± 1.82a	64.30 ± 2.32ab
TEPCNT002_Gamma_002	47.32 ± 0.71b	66.34 ± 1.88a	55.20 ± 0.93d
TEPCNT002_Gamma_003	46.90 ± 3.88b	67.09 ± 1.71a	65.50 ± 2.06a
TCNT003_Gamma_005	45.73 ± 3.27b	66.68 ± 0.93a	60.68 ± 2.18bc
TCNT003_UV15min_048	46.39 ± 0.76b	64.25 ± 1.04b	60.43 ± 3.68bc
TCNT003_UV 15min_070	46.41 ± 4.23b	66.16 ± 2.46a	57.92 ± 1.72cd
Wild type TEPCNT002	44.74 ± 4.46b	63.67 ± 0.79bc	55.22 ± 1.39d
Wild type TCNT003	47.47 ± 1.83b	62.24 ± 0.97d	57.91 ± 2.24cd
CV (%)	5.34	1.32	3.81

¹Means within the same column followed the same letter are not significantly different by the DMRT test at $p \leq 0.05$

Table 2. Antagonistic potential of *Trichoderma* spp. against three isolates of *P. oryzae*

<i>Trichoderma</i> spp.	Radial growth inhibition (%) against <i>P. oryzae</i>		
	NB CRI	NB SPB	NB SSK
66TRCRPA2-1	52.92 ± 2.63a ¹	68.65 ± 2.17a	65.00 ± 1.63a
66TRCMMC1-1	52.42 ± 1.89a	64.82 ± 1.12bc	62.50 ± 2.84a
66TRCMMC2-4	51.31 ± 2.79a	66.84 ± 2.65ab	59.73 ± 1.73a
66TRCMMC4-2	46.08 ± 3.35b	67.60 ± 1.15ab	56.13 ± 2.12b
66TRCMMC5-3	49.83 ± 1.89ab	62.38 ± 2.09c	64.15 ± 3.48ab
CV (%)	4.18	2.79	4.09

¹ Means within the same column followed the same letter are not significantly different by the DMRT test at $p \leq 0.05$

2. ศึกษาลักษณะทางพันธุกรรมของเชื้อราไตรโคเดอร์มาสายพันธุ์กลาย

การศึกษาลักษณะทางพันธุกรรมในตำแหน่ง ITS และยีน *tef-1α* และ *rpb2* ของเชื้อราไตรโคเดอร์มาสายพันธุ์กลาย พบว่า เชื้อไตรโคเดอร์มาสายพันธุ์ดั้งเดิม TPCNT002 และสายพันธุ์กลาย TPCNT002_Gamma_003 จัดอยู่ในกลุ่ม *T. asperelloides* (Figure 3) โดยมีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับสายพันธุ์ต้นแบบ *T. asperelloides* GJS 04-111T และสายพันธุ์ GJS 04-187 ด้วยค่าการสนับสนุนทางสถิติสูงสุด Bayesian inference (PP = 1.0) และ maximum likelihood (ML) bootstrap 99 เปอร์เซ็นต์ สอดคล้องกับรายงานของ Atanasova *et al.* (2013) ที่ระบุว่า ITS, *tef-1α* และ *rpb2* มีบทบาทสำคัญในการจำแนกสายพันธุ์ไตรโคเดอร์มา เนื่องจากลำดับเบสในตำแหน่ง ITS เพียงอย่างเดียวไม่สามารถแยกสายพันธุ์ได้อย่างแม่นยำในกรณีที่มีการเกิดสายพันธุ์แฝง (cryptic speciation) การวิเคราะห์

ข้อมูลลำดับเบสของยีนหลายตำแหน่ง (multilocus barcoding) สามารถแยกสายพันธุ์ TPCNT002 และสายพันธุ์กลาย TPCNT002_Gamma_003 ออกจาก *T. asperellum* (CBS 433.97T และ GJS 04-15) ได้อย่างชัดเจน ด้วยค่าการสนับสนุนสูง (ML bootstrap 73 เปอร์เซ็นต์ และ Bayesian PP = 1.0) แสดงถึงความแม่นยำของข้อมูลลำดับเบสที่ใช้ในการจำแนกสายพันธุ์เชื้อรากลุ่มไตรโคเดอร์มาซึ่งมีความสำคัญเป็นอย่างมาก เนื่องจากเชื้อรา *T. asperellum* และ *T. asperelloides* มีลักษณะทางพันธุกรรมใกล้เคียงกันและมักถูกระบุผิดพลาดหากไม่มีข้อมูลจากหลายตำแหน่งของรหัสพันธุกรรม (Ismail *et al.*, 2024) แม้ว่ารังสีแกมมาชักนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในโมเลกุลของดีเอ็นเอ ซึ่งอาจนำไปสู่การตายของเซลล์หรือการเพิ่มประสิทธิภาพการต้านเชื้อได้ (Rostami *et al.*, 2024) แต่การเปลี่ยนแปลงทางจีโนมที่เกิดขึ้น ส่วนใหญ่อยู่ในรูปแบบของ point mutation (การกลายพันธุ์แบบจุด หรือ single nucleotide

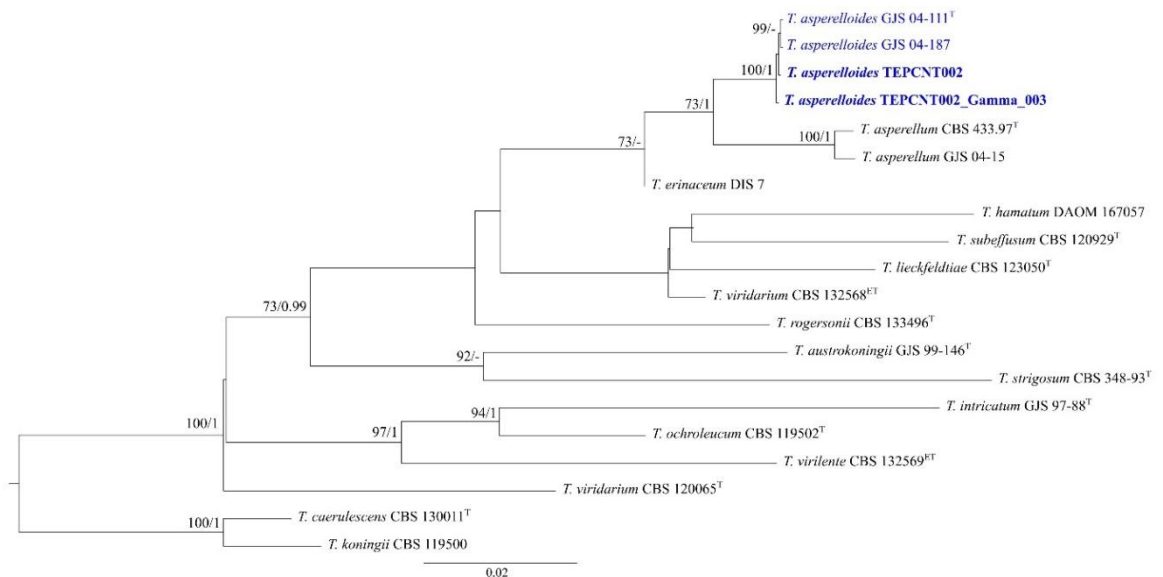


Figure 3. The combined maximum likelihood and Bayesian phylogenetic tree generated from ITS, *tef-1α*, and *rpb2* sequence data for *Trichoderma* sp. The tree is rooted with *T. koningii* (CBS 119500) and *T. caerulescens* (CBS 130011^T). The strains from this study are in bold blue, and T and ET after the strain codes represent type materials. Bayesian posterior probabilities ≥ 0.95 and Maximum Likelihood bootstrap values $\geq 70\%$ are shown at the nodes

polymorphism; SNP) และไม่สามารถคาดการณ์ได้ (Tan *et al.*, 2019) การกลายพันธุ์ที่เกิดขึ้นนั้นมักส่งผลต่อคุณลักษณะทางฟีโนไทป์ เช่น การผลิตสารทุติยภูมิหรือความสามารถในการต้านเชื้อมากกว่าการเปลี่ยนรหัสพันธุกรรมที่ใช้ในการจำแนกชนิด (Mukherjee *et al.*, 2013) ดังนั้น การศึกษาในอนาคตจึงจำเป็นต้องใช้การวิเคราะห์จีโนมทั้งหมด (WGS) เพื่อระบุตำแหน่งที่เกิดการกลายพันธุ์ที่ทำให้เชื้อ TEPCNT002_Gamma_003 มีกิจกรรมการควบคุมทางชีวภาพเพิ่มขึ้น ซึ่งมีความสำคัญอย่างยิ่งต่อการทำความเข้าใจกลไกทางอนุชีววิทยาเบื้องหลังประสิทธิภาพที่ได้รับการพัฒนาของสายพันธุ์นี้

3. ทดสอบประสิทธิภาพเชื้อราไตรโคเดอร์มาในสภาพโรงเรือน

จากการทดสอบในสภาพโรงเรือน พบว่าค่าดัชนีความรุนแรงของโรคในทุกกรรมวิธีที่ใช้เชื้อราไตรโคเดอร์มา มีค่าอยู่ในช่วง 10.55-12.50 ซึ่งไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่ใช้สารเคมีไตรไซคลาโซล (Tricyclazole 75% WP, ดัชนี 11.39) แต่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดควบคุม (ปลูกเชื้อและพ่นน้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อ) (ดัชนี 21.67) (Table 3) ผลการทดสอบนี้ยืนยันว่า เชื้อราไตรโคเดอร์มามีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเทียบเท่ากับสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราในสภาพโรงเรือน (Ferreira and Musumeci, 2021) ประสิทธิภาพที่เทียบเท่ากันนี้ คาดว่าเป็นผลมาจากการ-

พ่นป้องกันก่อนการเกิดโรค และกลไกการต่อต้านเชื้อราที่หลากหลายของเชื้อราไตรโคเดอร์มา เช่น การผลิตเอนไซม์ย่อยผนังเซลล์ และการแข่งขันเพื่อแย่งสารอาหาร (Mukhopadhyay and Kumar, 2020) ซึ่งถือเป็นข้อได้เปรียบที่ช่วยลดความเสี่ยงของการเกิดเชื้อดื้อยาเมื่อเทียบกับสารเคมีที่มีกลไกเดียว ดังนั้น จากผลลัพธ์ที่ไม่แตกต่างทางสถิติในกลุ่มชีววิธีและสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา จึงได้นำผลการทดสอบในห้องปฏิบัติการมาประกอบการพิจารณา เพื่อคัดเลือกสายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพที่สุดสองไอโซเลท ได้แก่ สายพันธุ์คัดเลือกใหม่ 66TRCRPA2-1 และสายพันธุ์กลาย TEPCNT002_Gamma_003 เพื่อนำไปทดสอบในแปลงนาทดลองต่อไป

4. การทดสอบประสิทธิภาพเชื้อราไตรโคเดอร์มาในระดับแปลงทดลอง

จากการประเมินความรุนแรงของโรคไหม้ในแปลงนาทดลอง พบว่า กรรมวิธีพ่นเชื้อราไตรโคเดอร์มาสายพันธุ์กลาย TEPCNT002_Gamma_003 มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคไหม้ได้ดีในทุกระยะการเจริญเติบโต (ระยะกล้า 10.63, แตกกอ 20.61, ตั้งท้อง 36.29 และออกรวง 50.09 เปอร์เซ็นต์) โดยมีความรุนแรงของโรคไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่พ่นสารเคมีไตรไซคลาโซล (Tricyclazole 75% WP) ซึ่งให้ความรุนแรงของโรคต่ำที่สุด (ระยะกล้า 8.69, แตกกอ 19.65, ตั้งท้อง 30.27 และออกรวง 47.10 เปอร์เซ็นต์) แต่แตกต่างอย่างมี-

Table 3. Blast disease severity index from the efficacy test of *Trichoderma* for controlling blast disease in the tillering stage in greenhouse conditions at Chainat Rice Research Center.

Treatment	Severity index	Treatment	Severity index
66TRCRPA1-2	12.50 b ¹	TCNT003 (wild type)	10.55 b
66TRCRMMC1-1	10.83 b	TEPCNT002 (wild type)	11.66 b
66TRCRMMC2-4	11.39 b	TDOAE 002	10.83 b
TEPCNT002_Gamma_001	11.39 b	Tricyclazole 75% WP	11.39 b
TEPCNT002_Gamma_003	11.11 b	Sterile water (inoculation)	21.67 c
TCNT_003_Gamma_005	11.39 b	Sterile water (no inoculation)	0.00 a
CV (%)		16.11	

¹ Means within the same column followed the same letter are not significantly different by the DMRT test at $p \leq 0.05$

นัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีชุดควบคุม (น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ) ซึ่งมีความรุนแรงของโรคสูงที่สุดในทุกระยะ (ระยะกล้า 13.91, แตกกอ 27.05, ตั้งท้อง 61.06 และออกรวง 79.35 เปอร์เซ็นต์) ในส่วนของผลผลิต TEPCNT002_Gamma_003 ให้ผลผลิต 303.25 กิโลกรัมต่อไร่ ซึ่งมีค่าต่ำกว่าสารเคมีที่ให้ผลผลิต 387.00 กิโลกรัมต่อไร่ แต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ อย่างไรก็ตาม ผลผลิตของเชื้อราสายพันธุ์กลายนี้สูงกว่าชุดควบคุม (น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งให้ผลผลิตต่ำที่สุดที่ 166.25 กิโลกรัมต่อไร่ (Table 4) ผลลัพธ์นี้แสดงให้เห็นว่า เชื้อราไตรโคเดอร์มาสายพันธุ์กลาย TEPCNT002_Gamma_003 มีศักยภาพในการควบคุมโรคไหม้ทำให้ได้ผลผลิตในระดับที่ใกล้เคียงกับการใช้สารเคมีไตรโคโลโซล ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Seekham *et al.* (2024) ที่รายงานว่า *T. harzianum* KUFA0405 สามารถลดความรุนแรงของโรคและเพิ่มผลผลิตข้าวได้อย่างมี-

นัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม อย่างไรก็ตาม แม้ว่า การใช้สารเคมีไตรโคโลโซลให้ประสิทธิภาพการควบคุมโรคที่รวดเร็วและส่งผลให้ผลผลิตสูงกว่าเล็กน้อย แต่การใช้เชื้อราไตรโคเดอร์มาสายพันธุ์กลาย TEPCNT002_Gamma_003 แสดงให้เห็นถึงความได้เปรียบในด้านของความยั่งยืนทางการเกษตร เนื่องจากการมีกลไกการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคที่หลากหลาย (Multiple modes of action) ทั้งการผลิตเอนไซม์ย่อยผนังเซลล์และการแข่งขันแย่งชิงสารอาหาร ซึ่งแตกต่างจากการใช้สารเคมีสังเคราะห์ที่มีกลไกการออกฤทธิ์จำเพาะเจาะจงเพียงตำแหน่งเดียว (Single-site mode of action) กลไกที่หลากหลายจากเชื้อราไตรโคเดอร์มานี้ไม่เพียงแต่ช่วยลดระดับความรุนแรงของโรค แต่ยังช่วยลดความเสี่ยงต่อการพัฒนาความต้านทานต่อสารเคมีของเชื้อราสาเหตุโรคในระยะยาวอีกด้วย

Table 4. Evaluation of blast disease severity index, and rice yield in a *Trichoderma* efficacy trial at the Chiang Rai Rice Research Center, during the 2024 wet season.

Treatment	Severity index (%)				Yield (kg/rai)
	Seedling	Tillering	Booting	Panicle	
TEPCNT002_Gamma_003	10.63 ab ¹	20.61 a	36.29 a	50.09 ab	303.25 ab
TEPCNT002	9.30 ab	22.26 ab	50.82 b	60.81 abc	273.50 abc
66TRCRPA2-1	12.29 bc	25.71 b	51.99 b	61.90 bc	264.00 bc
TDOAE 002	10.43 abc	22.52 ab	54.56 b	67.79 bc	240.25 bc
Tricyclazole 75% WP	8.69 a	19.65 a	30.27 a	47.10 a	387.00 a
Sterile water	13.91 c	27.05 b	61.06 b	79.35 d	166.25 c
CV (%)	19.17	13.49	17.27	14.29	26.44

¹ Means within the same column followed the same letter are not significantly different by the DMRT test at $p \leq 0.05$

สรุป

การชักนำการกลายพันธุ์ของเชื้อราไตรโคเดอร์มาด้วยรังสีแกมมาช่วยเพิ่มศักยภาพการเป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อรา *P. oryzae* โดยสายพันธุ์กลาย TEPCNT002_Gamma_003 แสดงความสามารถในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคในห่อปฏิบัติการสูงกว่าสายพันธุ์ดั้งเดิม และมีประสิทธิภาพใกล้เคียงกับสายพันธุ์คัดเลือกใหม่ 66TRCPA2-1 การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ตำแหน่ง ITS และยีน *tef-1α* และ *rpb2* ยืนยันว่า TEPCNT002_Gamma_003 จัดเป็น *T. asperelloides* เช่นเดียวกับสายพันธุ์ดั้งเดิม การประเมินในสภาพโรงเรือนและแปลงนาทดลองแสดงให้เห็นว่าสายพันธุ์กลายและสายพันธุ์คัดเลือกใหม่สามารถลดความรุนแรงของโรคไหม้ข้าวได้ในระดับใกล้เคียงการใช้สารเคมีควบคุมโรค โดยเฉพาะสายพันธุ์ TEPCNT002_Gamma_003 ที่ให้ผลดีที่สุดในระดับแปลงนา ผลการศึกษานี้ชี้ให้เห็นถึงศักยภาพของสายพันธุ์ดังกล่าวในการพัฒนาเป็นชีวภัณฑ์สำหรับการควบคุมโรคไหม้ข้าวในระบบการผลิตข้าวอย่างยั่งยืน และเป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับการศึกษาต่อยอดด้านจีโนมและการพัฒนารูปแบบชีวภัณฑ์ที่มีเสถียรภาพและประสิทธิภาพสูงต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนงบประมาณจากสำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัย และนวัตกรรม (สกสว.) ภายใต้แผนงานวิจัยระบบการผลิตข้าวแบบอาหารปลอดภัยและเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม ระยะที่ 2 โครงการวิจัยการจัดการศัตรูข้าวอย่างยั่งยืนโดยชีววิธี โครงการวิจัยย่อยการคัดเลือกและการเพิ่มประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อรา *P. oryzae* สาเหตุโรคไหม้โดยชีววิธี

เอกสารอ้างอิง

- Abbasi, S., N. Safaie, M. Shams-Bakhsh and S. Shahbazi. 2016. Biocontrol activities of gamma induced mutants of *Trichoderma harzianum* against some soilborne fungal pathogens and their DNA fingerprinting. Iranian Journal of Biotechnology 14(4): 260-269.
- Atanasova, L., I.S. Druzhinina and W.M. Jaklitsch. 2013. Two hundred *Trichoderma* species recognized on the basis of molecular phylogeny. pp. 10-42. In: P. K. Mukherjee, B. A. Horwitz, U. S. Singh, M. Mukherjee, and M. Schmoll (eds.) *Trichoderma: Biology and Applications*. CABI, Croydon.
- Bankevich, A., S. Nurk, D. Antipov, A.A. Gurevich, M. Dvorkin, A.S. Kulikov, V.M. Lesin, S.I. Nikolenko, S. Pham, A.D. Pribelski, A.V. Pyshkin, A.V. Sirotkin, N. Vyahhi, G. Tesler, M.A. Alekseyev and P.A. Pevzner. 2012. SPAdes: a new genome assembly algorithm and its applications to single-cell sequencing. Journal of Computational Biology 19(5): 455-477.
- Bastakoti, S., S. Belbase, S. Manandhar and C. Arjyal. 2017. *Trichoderma* species as biocontrol agent against soil borne fungal pathogens. Nepal Journal of Biotechnology 5(1): 39-45.
- Bhusal, N.R., B. Acharya, A.R. Devkota and J. Shrestha. 2018. Field evaluation of *Trichoderma viride* for the management of rice leaf blast disease in Pyuthan district, Nepal. Journal of the Institute of Agriculture and Animal Science 35(1): 259-266.
- Boonchuay, D., J. Chaengpradit, N.J. Gomes de Farias, A. Takham and P. Kobelli. 2024. Selection of *Trichoderma asperelloides* mutants induced by gamma and ultraviolet radiation for enhanced efficient inhibition of *Pyricularia oryzae*.

- pp. 2565 -2573. *In* Proceedings of the 21st National Conference, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, December 3-4, 2024. Kamphaeng Saen, Nakhon Pathom. (in Thai)
- Camacho, C., G. Coulouris, V. Avagyan, N. Ma, J. Papadopoulos, K. Bealer and T. L. Madden. 2009. BLAST+: architecture and applications. *BMC Bioinformatics* 10: 421. doi: 10.1186/1471-2105-10-421.
- Chen, S., Y. Zhou, Y. Chen and J. Gu. 2018. fastp: an ultra-fast all-in-one FASTQ preprocessor. *Bioinformatics* 34(17): i884 - i890, doi: 10.1093/bioinformatics /bty560.
- de Farias, A.R.G., N. Afshari, V.S.H. Silva, J. Louangphan, O. Karimi and S. Boonmee. 2024. Three novel species and new records of Kirschsteiniotelia (Kirschsteinioteliales) from northern Thailand. *MycKeys* 101: 347-370.
- Druzhinina, I.S., A.G. Kopchinskiy, M. Komoń, J. Bissett, G. Szakacs and C.P. Kubicek. 2005. An oligonucleotide barcode for species identification in *Trichoderma* and *Hypocrea*. *Fungal Genetics and Biology* 42(10): 813-828.
- Ferreira, F.V. and M.A. Musumeci. 2021. *Trichoderma* as biological control agent: scope and prospects to improve efficacy. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 37(5): 90, doi: 10.1007/s11274-021-03058-7.
- Gomes de Farias, N.J., N. Wangmanow, K. Manoruang, A. Takham and P. Kobelli. 2023. Isolation and screening of *Trichoderma* spp. to suppress the rice blast fungal pathogen. pp. 78 -87. *In* Proceeding of the 20th National Conference, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus (Oral presentation). December 7–8, 2023. Kamphaeng Saen, Nakhon Pathom. (in Thai)
- International Rice Research Institute. 2013. SES: Standard Evaluation System for Rice, 5th. International Rice Research Institute, Los Baños, Laguna. 65 p.
- Ismaiel, A., D.K. Lakshman, P.P. Jambhulkar and D. P. Roberts. 2024. *Trichoderma*: Population structure and genetic diversity of species with high potential for biocontrol and biofertilizer applications. *Applied Microbiology* 4(2):875-893.
- Jantasuriyarat, C. and S. Katengam. 2009. Rice blast disease and the current situation of research on blast resistance genes in rice. *Khon Kaen Agriculture Journal* 37: 69-78. (in Thai)
- Khalili, E., M. Sadravi, S. Naeimi and V. Khosravi. 2012. Biological control of rice brown spot with native isolates of three *Trichoderma* species. *Brazilian Journal of Microbiology* 43(1): 297-305.
- Khilaimala, P. 2015. Study on the severity of impacts and monitoring of highly toxic or persistent pesticides in the environment. Department of Agriculture, Bangkok. 105 p. (in Thai)
- Mukherjee, P.K., B.A. Horwitz, A. Herrera-Estrella, M. Schmoll and C. M. Kenerley. 2013. *Trichoderma* research in the genome era. *Annual Review of Phytopathology* 51: 105-129.

- Mukhopadhyay, R. and D. Kumar. 2020. *Trichoderma*: a beneficial antifungal agent and insights into its mechanism of biocontrol potential. Egyptian Journal of Biological Pest Control 30: 133.
- Pandit, D., A.K. Singh, V.K. Razdan, S.K. Singh, V.B. Singh and D. Kumar. 2024. Management of rice blast disease caused by *Pyricularia oryzae* through application of biocontrol agents and fungicides alone and in possible combinations. Indian Phytopathology 77: 283-289.
- Prismantoro, D., S.I. Akbari, N. Permadi, U. Dey, A. Anhar, M. Miranti, M. S. Mispan and F. Doni. 2024. The multifaceted roles of *Trichoderma* in managing rice diseases for enhanced productivity and sustainability. Journal of Agriculture and Food Research 18: 101324, doi: 10.1016/j.jafr.2024.101324
- Ross, R.L. and F.H. Santiago-Tirado. 2024. Advanced genetic techniques in fungal pathogen research. Msphere 9(4): e00643-23, doi: 10.1128/msphere.00643-23.
- Rostami, M., A. Ghorbani and S. Shahbazi. 2024. Gamma radiation-induced enhancement of biocontrol agents for plant disease management. Current Research in Microbial Sciences 7: 100308, doi: 10.1016/j.crmicr.2024.100308.
- Seekham, N., N. Kaewsalong, A. Jantasorn and T. Dethoup. 2024. Field biocontrol efficacy of *Trichoderma* spp. in fresh and dry formulations against rice blast and brown spot diseases and yield effect. European Journal of Plant Pathology 170(1): 1-13.
- Shoresh, M., G.E. Harman and F. Mastouri. 2010. Induced systemic resistance and plant responses to fungal biocontrol agents. Annual review of phytopathology 48: 21-43.
- Singh, P.K., A.K. Singh, H.B. Singh and B.K. Dhakad. 2012. Biological control of rice blast disease with *Trichoderma harzianum* in direct seeded rice under medium low land rainfed conditions. Environment and Ecology 30(3B): 834-837.
- Tan, C., X.Q. Zhang, Y. Wang, D. Wu, M.I. Bellgard, Y. Xu, X. Shu, G. Zhou and C. Li. 2019. Characterization of genome-wide variations induced by gamma-ray radiation in barley using RNA-Seq. BMC Genomics 20(1): 783, doi: 10.1186/s12864-019-6182-3.
- Townsend, G.R. and J.W. Heuberger. 1943. Methods for estimating losses caused by diseases in fungicide experiments. Plant Disease Reporter 27(17): 340-343.
- Tran, B.D., H.T. Tran, D.S. Hoang, H.N. Tran, N.K.L. Dao, X.V. Le, X.A. Tran, H.D. Nguyen, T. T.H. Le and T.H. Do. 2025. Gamma irradiation enhances the *in vitro* biocontrol potential of *Trichoderma* species against major rice pathogens *Rhizoctonia solani* and *Pyricularia oryzae*. Applied Biosciences 4(3): 41.
- Tshilenge-Lukanda, L., A. Ngombo-Nzokwani, J. Mukendi, M. Muengula-Manyi, J. Mudibu and A. Kalonji-Mbuyi. 2024. *In vitro* evaluation of *Trichoderma* strains against *Pyricularia oryzae*, the causal agent of rice blast disease. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences 13(6): 252-259.