

บทที่ 4

ผลการทดลอง

1. การแยกเชื้อ

จากการแยกเชื้อราจากตัวอย่างต่างๆ พบว่า มีเชื้อราที่สามารถเจริญได้บนอาหารที่มีไคตินเป็นแหล่งคาร์บอน จำนวน 106 ไอโซเลท ดังตาราง 6

ตาราง 6 เชื้อราที่แยกได้จากแหล่งต่างๆ

ไอโซเลท	แหล่งที่มา
CK ₁	ดินบริเวณที่มี Bolete ขึ้นที่ห้วยคอกม้า
CK ₂	เชื้อราที่ปนเปื้อนบนอาหารเลี้ยงเชื้อ
CK ₃ -CK ₁₉	ดินบริเวณคอกสุเทพ จังหวัดเชียงใหม่
CK ₂₀ -CK ₂₂	เชื้อราที่เจริญบนเห็ด
CK ₂₃ -CK ₂₅	ดินโป่งจากแม่ฮ่องสอน โดย ผศ.ดร.นริทธิ์ สีตะสุวรรณ
CK ₂₉ -CK ₅₆	เปลือกกุ้งฝิ่งดินใต้ต้นมะยม บริเวณตึกชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
CT ₁	เศษไม้ชิ้นรา
CT ₂	เชื้อที่ปนเปื้อนบนอาหารเลี้ยงเชื้อ
CT ₃ -CT ₁₇ , CT ₂₀ -CT ₂₁	ดินและเปลือกกุ้งที่นำไปฝังดินไว้ใต้ต้นมะยม บริเวณตึกชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
CT ₁₈ -CT ₁₉	กุ้งชิ้นราจาก ผศ.อภิญญา พลิกอมล
CT ₂₂ -CT ₂₄	กะปิ
CT ₂₅	แมลงชิ้นรา

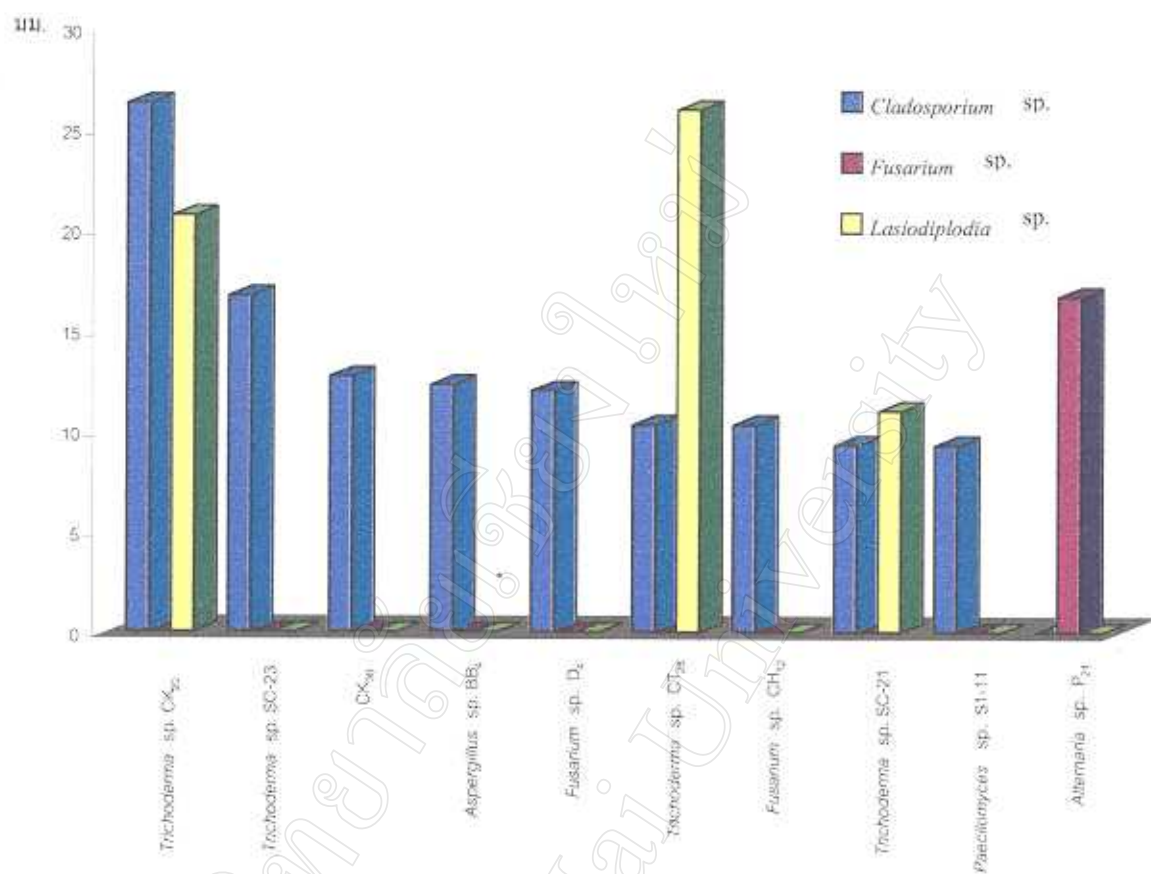
ตาราง 6 (ต่อ)

ไอโซเลท	แหล่งที่มา
CT ₂₆	ดินบริเวณ ตำบลหนองป่าครั่ง อำเภอเมือง จังหวัดเชียงใหม่
CT ₂₇ -CT ₂₈	ราที่ขึ้นบนเห็ดเหิน
CT ₂₉	ราที่ขึ้นบน <i>Xylaria</i> sp.
CT ₃₀ -CT ₃₄	เชื้อที่ปนเปื้อนบนอาหารเลี้ยงเชื้อ
CT ₃₅	ราที่ขึ้นบน <i>Xylaria</i> sp.
CT ₃₆ -CT ₃₇	เห็ดเหิน
CT ₃₈ -CT ₄₆	ดินบริเวณตำบลหนองป่าครั่ง อำเภอเมือง จังหวัดเชียงใหม่
CT ₄₇	เชื้อราที่ปนเปื้อนบนอาหารเลี้ยงเชื้อ จากคุณนิคม พุทธิมา
CT ₄₈ -CT ₅₀	ดินบริเวณตำบลหนองป่าครั่ง อำเภอเมือง จังหวัดเชียงใหม่

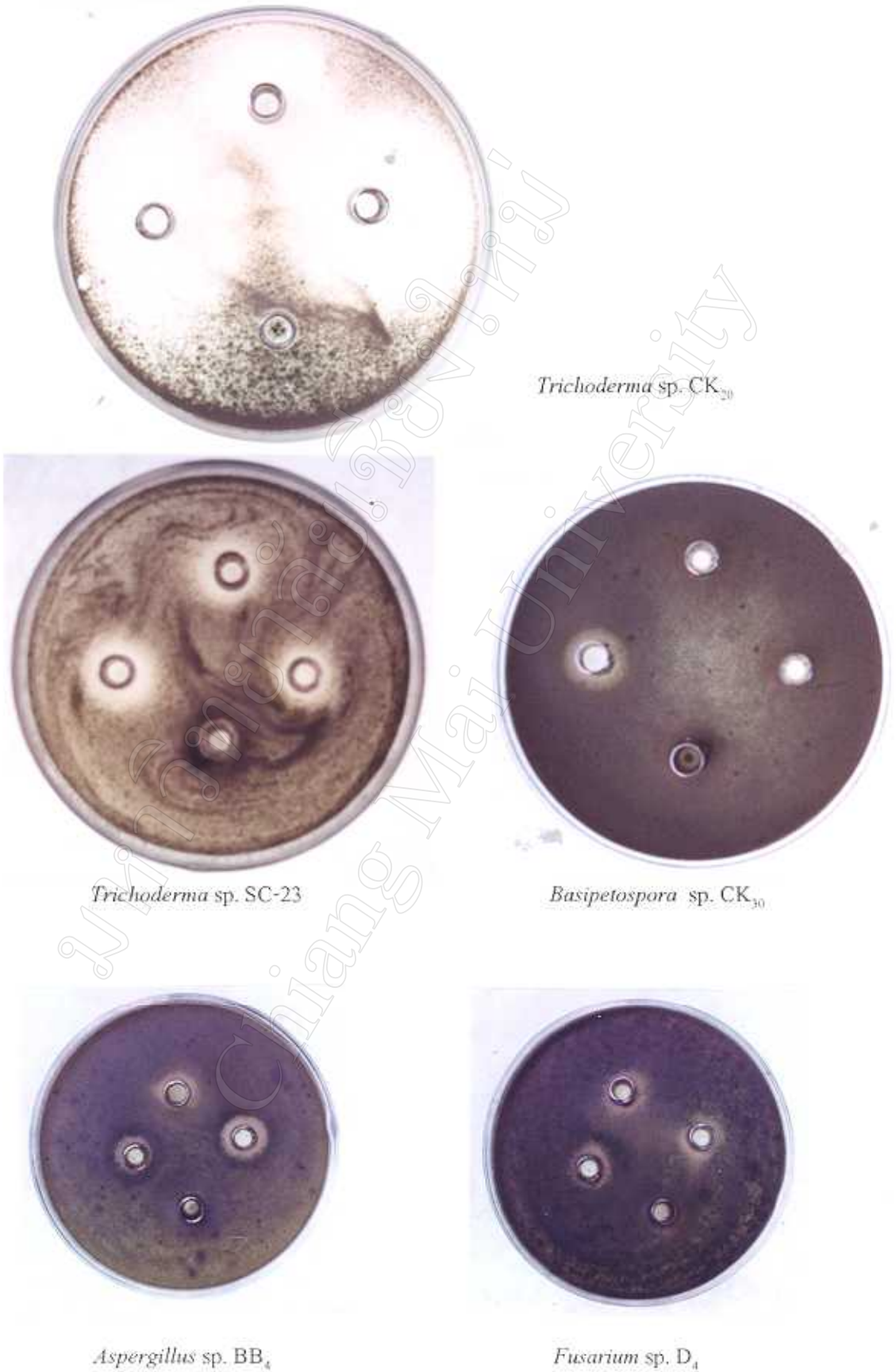
2. การทดสอบผลยับยั้งการเจริญเชื้อราทดสอบโดยน้ำกรองเลี้ยงเชื้อรา โดย cylinder plate method พบว่าจากเชื้อราทั้งหมด 165 ไอโซเลต น้ำกรองเลี้ยงเชื้อราจาก 9 ไอโซเลต ได้แก่ *Trichoderma* sp. CK₂₀, *Trichoderma* sp. SC-23, CK₃₀, *Aspergillus* sp. BB₄, *Fusarium* sp. D₄, *Trichoderma* sp. CT₂₆, *Fusarium* sp. CH₁₂, *Trichoderma* sp. SC-21 และ *Paecilomyces* sp. S1-11 สามารถยับยั้งการเจริญของ *Cladosporium* sp. (ภาพ 6) น้ำกรองเลี้ยงเชื้อราจาก 1 ไอโซเลต ได้แก่ *Alternaria* sp. P₂₁ สามารถยับยั้งการเจริญของ *Fusarium* sp. (ภาพ 7) น้ำกรองเลี้ยงเชื้อราจาก 3 ไอโซเลต ได้แก่ *Trichoderma* sp. CT₂₆, *Trichoderma* sp. CK₂₀ และ *Trichoderma* sp. SC-21 สามารถยับยั้งการเจริญของ *Lasiodiplodia* sp. (ภาพ 8) ดังตาราง 7 และภาพ 5

ตาราง 7 ผลยับยั้งการเจริญ *Cladosporium* sp., *Fusarium* sp. และ *Lasiodiplodia* sp. โดย น้ำกรองเลี้ยงเชื้อรา 10 ไอโซเลต คูณผลเมื่ออายุ 3 วัน

ไอโซเลต	pH	เส้นผ่าศูนย์กลางของวงไต (มม.)		
		<i>Cladosporium</i> sp.	<i>Fusarium</i> sp.	<i>Lasiodiplodia</i> sp.
<i>Trichoderma</i> sp. CK ₂₀	8.13	26.3	-	20.7
<i>Trichoderma</i> sp. SC-23	7.03	16.7	-	-
CK ₃₀	7.89	12.7	-	-
<i>Aspergillus</i> sp. BB ₄	4.12	12.3	-	-
<i>Fusarium</i> sp. D ₄	7.95	12.0	-	-
<i>Trichoderma</i> sp. CT ₂₆	7.42	10.3	-	26.0
<i>Fusarium</i> sp. CH ₁₂	7.51	10.3	-	-
<i>Trichoderma</i> sp. SC-21	4.36	9.3	-	11.0
<i>Paecilomyces</i> sp. S1-11	6.98	9.3	-	-
<i>Alternaria</i> sp. P ₂₁	7.18	-	16.7	-



ภาพ 5. ผลของการเจริญ *Cladosporium* sp., *Fusarium* sp. และ *Lasiodiplodia* sp. โดยน้ำกรองเลี้ยงเชื้อรา โดย Cylinder plate method



ภาพ 6 ผลยับยั้งการเจริญ *Cladosporium* sp. โดยน้ำกรองเลี้ยงเชื้อจาก *Trichoderma* CK₂₀, *Trichoderma* sp. SC-23, *Basipetospora* sp. CK₃₀, *Aspergillus* sp. BB₄ และ *Fusarium* sp. D₄ โดย cylinder plate method ดูผลเมื่ออายุ 3 วัน



ภาพ 7 ผลยับยั้งการเจริญ *Fusarium* sp. โดยน้ำกรองเลี้ยงเชื้อจาก *Alternaria* sp. P₂₁ โดย cylinder plate method คู่มือเมื่ออายุ 5 วัน



Trichoderma sp. CT₂₆



Trichoderma sp. CK₂₀



Trichoderma sp. SC-21

ภาพ 8 ผลยับยั้งการเจริญ *Lasiodiplodia* sp. โดยน้ำกรองเลี้ยงเชื้อจาก *Trichoderma* sp. CT₂₆, *Trichoderma* sp. CK₂₀ และ *Trichoderma* sp. SC-21 โดย cylinder plate method คูณผลเมื่ออายุ 5 วัน

3. การทดสอบการเป็นเชื้อปฏิปักษ์ของเชื้อราที่ผลิตโคติเนสต่เชื้อราทดสอบ

นำเชื้อราที่เจริญบนอาหาร chitin agar จำนวน 165 ไอโซเลท มาทดสอบความสามารถในการเป็นเชื้อปฏิปักษ์ต่อเชื้อทดสอบ พบว่า

เชื้อรา จำนวน 39 ไอโซเลทยับยั้งการเจริญของ *Cladosporium* sp. ได้

เชื้อรา จำนวน 10 ไอโซเลทยับยั้งการเจริญของ *Fusarium* sp. ได้

และเชื้อรา จำนวน 45 ไอโซเลทยับยั้งการเจริญของ *Lasiodiplodia* sp. ได้

ตาราง 8 ผลการทดสอบการเป็นเชื้อปฏิปักษ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้ กับ *Cladosporium* sp.

ไอโซเลท	เส้นผ่าศูนย์กลางบริเวณที่เชื้อทดสอบ ไม่สามารถเจริญได้ (มม.)	
<i>Trichoderma</i> sp. CH ₄₃	41.7	
<i>Trichoderma</i> sp. CT ₂₆	39.3	
<i>Trichoderma</i> sp. CK ₃	38.0	
<i>Trichoderma</i> sp. SC-21	37.7	
<i>Trichoderma</i> sp. A ₅	36.3	
<i>Trichoderma</i> sp. SC-23	32.7	
<i>Aspergillus</i> sp. 83	32.0	
CT ₁₄	32.0	
<i>Trichoderma</i> sp. SC-22	29.7	
<i>Trichoderma</i> sp. CK ₂₀	27.0	
<i>Gliocladium</i> sp. M ₂	27.0	
<i>Fusarium</i> sp. CK ₂₉	22.7	
<i>Aspergillus</i> sp. C ₁	22.3	
<i>Trichoderma</i> sp. CK ₈	22.3	
CK ₄	20.7	
CT ₂₀	17.7	
<i>Penicillium</i> sp. SX-53	17.6	
<i>Fusarium</i> sp. CH ₁₂	17.3	
<i>Fusarium</i> sp. CK ₂₁	16.3	
<i>Fusarium</i> sp. CK ₃₇	16.3	

ตาราง 8 (ต่อ)

ไอโซเลท	เส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณที่เชื้อทดสอบ ไม่สามารถเจริญได้ (มม.)
<i>Aspergillus</i> sp. F ₃	14.3
CT ₄₈	14.3
<i>Trichoderma</i> sp. D ₅	13.7
3	13.7
<i>Gliocladium</i> sp. CT ₅	12.3
CT ₄	11.3
CH ₁₅	10.7
<i>Geotrichum</i> sp. B ₁₁	10.3
<i>Penicillium</i> sp. CT ₁₀	10.3
CH ₁₁	9.0
<i>Penicillium</i> sp. CT ₆	8.7
<i>Penicillium</i> sp. P ₂₈	8.7
<i>S. fimicola</i>	8.7
M ₁	8.7
<i>Chaetomium</i> sp. M ₃	8.3
<i>Aspergillus</i> sp. A ₇	7.7
<i>Trichoderma</i> sp. CT ₃₅	7.3
<i>Aspergillus</i> sp. C _{T9}	6.7

ตาราง 9 ผลการทดสอบการเป็นเชื้อปฏิปักษ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้กับ *Fusarium* sp.

ไอโซเลท	เส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณที่เชื้อทดสอบ
	ไม่สามารถเจริญได้ (มม.)
<i>Trichoderma</i> sp. D ₅	17.0
<i>Trichoderma</i> sp. A ₅	16.7
<i>Trichoderma</i> sp. SC-21	16.7
<i>T. hamatum</i>	14.3
<i>Trichoderma</i> sp. SC-23	13.7
<i>T. harzianum</i>	13.7
<i>Trichoderma</i> sp. SC-22	13.3
<i>Chaetomium</i> sp. M ₃	12.3
<i>Fusarium</i> sp. CK ₅₀	9
<i>Penicillium</i> sp. P ₂₈	7.3

ตาราง 10 ผลการทดสอบการเป็นเชื้อปฏิปักษ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้ กับ *Lasiodiplodia* sp.

ไอโซเลท	เส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณที่เชื้อทดสอบ ไม่สามารถเจริญได้ (มม.)
<i>Trichoderma</i> sp. CK ₃	56.7
<i>Gliocladium</i> sp. CT ₁₁	43.3
<i>Aspergillus</i> sp. CT ₄₁	40.0
<i>Trichoderma</i> sp. SC-22	39.0
<i>Trichoderma</i> sp. CT ₂₆	37.7
<i>Gliocladium</i> sp. CT ₄₀	37.3
CT ₁₄	37.3
<i>Penicillium</i> sp. CT ₂₄	37.3
CK ₆	35.7
<i>Fusarium</i> sp. D ₄	35.0
<i>Trichoderma</i> sp. A ₅	35.0
<i>Trichoderma</i> sp. CK ₂₀	34.3
<i>Trichoderma</i> sp. UT ₂	34.8
<i>Trichoderma</i> sp. SC-21	34.0
M ₁	34.0
<i>T. hamatum</i>	33.7
<i>Trichoderma</i> sp. CH ₁	33.3
<i>Trichoderma</i> sp. CT ₃₁	31.0
CT ₂₉	31.0
<i>Penicillium</i> sp. CK ₅	30.3
<i>Trichoderma</i> sp. CH ₄₃	28.0
<i>T. harzianum</i>	27.7
A ₃	26.3
<i>Penicillium</i> sp. CT ₁₀	22.7
3	21.3

ตาราง 10 (ต่อ)

ไอโซเลท	เส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณที่เชื้อทดสอบ ไม่สามารถเจริญได้ (มม.)
<i>Fusarium</i> sp. CT ₄₇	20.0
CT ₂₃	20.0
<i>Chaetomium</i> sp. M ₃	19.3
BB ₃	17.3
<i>Aspergillus</i> sp. CT ₉	17.0
CT ₄₄	15.0
<i>Penicillium</i> sp. CT ₂₇	12.3
<i>Fusarium</i> sp. CK ₅₀	11.3
<i>Basipetospora</i> sp. CK ₃₀	10.7
<i>Geotrichum</i> sp. CT ₄₆	10.3
<i>Penicillium</i> sp. SX-53	10.3
<i>Penicillium</i> sp. CT ₆	10.0
<i>Basipetospora</i> sp. CK ₄₄	10.0
<i>Fusarium</i> sp. P ₄	9.7
<i>Geotrichum</i> sp. B ₁₁	9.6
<i>Fusarium</i> sp. CK ₂₁	9.6
<i>Aspergillus</i> sp. CK ₂₈	9.3
<i>Aspergillus</i> sp. CT ₂₈	9.3
CT ₇	8.3



ภาพ 9 การเป็นเชื้อปฏิปักษ์ของ *Trichoderma* sp. SC-22 , CT₁₄, *Trichoderma* sp. CK₈ และ CK₄ ต่อ *Cladosporium* sp.



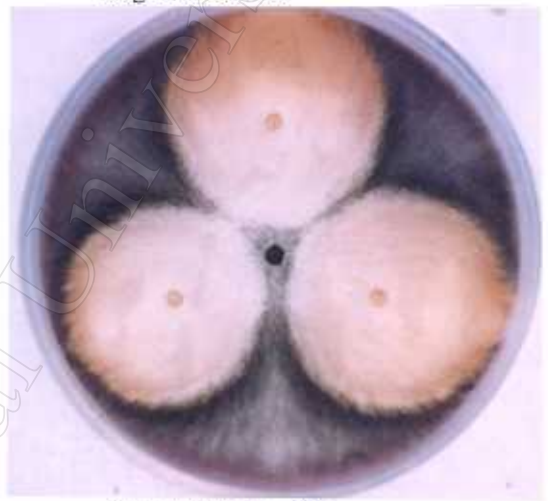
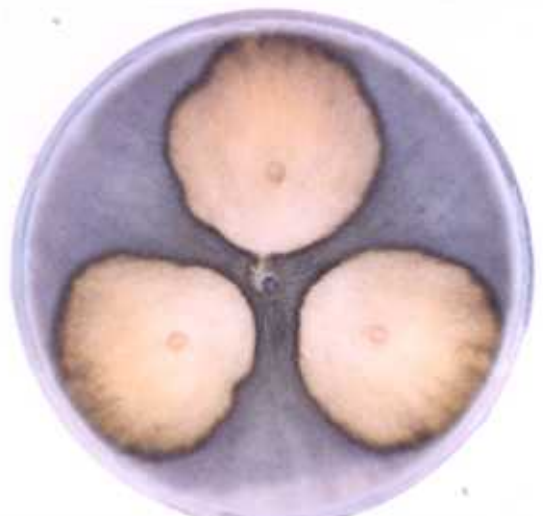
Negative control

*T. hamatum**T. harzianum**Penicillium* sp. P₂₈

ภาพ 10 การเป็นเชื้อปฏิปักษ์ของ *T. hamatum*, *T. harzianum* และ *Penicillium* sp. P₂₈
ต่อ *Fusarium* sp.



Negative control

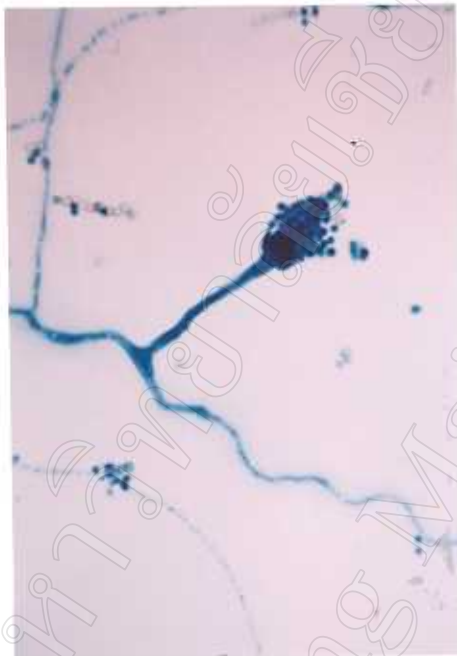
*Trichoderma* sp. CH₄₃*Aspergillus* sp. CT₄₁*Trichoderma* sp. CH₁CK₆

ภาพ 11 การเป็นปฏิปักษ์ของ *Trichoderma* sp. CH₄₃, *Aspergillus* sp. CT₄₁, *Trichoderma* sp. CH₁ และ CK₆ ต่อ *Lasiodiplodia* sp.

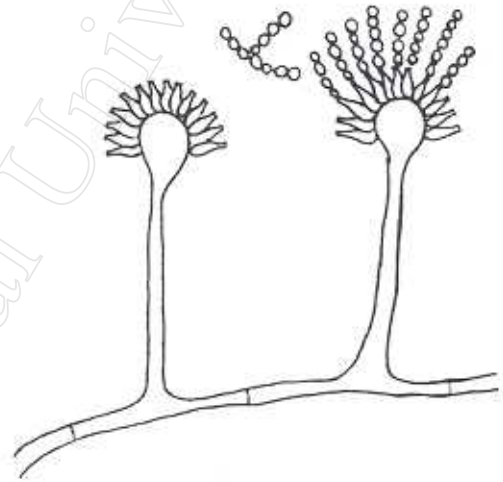
4. การบ่งบอกชนิดของเชื้อราทั้ง 10 ไอโซเลต

1. ไอโซเลต BB₄ (จาก stock culture)

โคโคนีสสีขาว สร้างสปอร์เป็นผงสีขาวมะกอก เก็บยวได้ทั้งที่อุณหภูมิ 20, 25, 30, 37 และ 45 องศาเซลเซียส เส้นใยมีผนังกันตามขวาง โคนิดิโอฟอร์และโคนิเดียสีขาวใส โคนิดิโอฟอร์ตั้งตรง ไม่แตกแขนง vesicle พองออกเป็นรูปกระบอก ไม่มี metulae มีขนาด 7.5-5.0x7.5-20.0 ไมโครเมตร โคนิเดียกลมขนาดประมาณ 2.5 ไมโครเมตร (ภาพ 12)



10 μ m



10 μ m

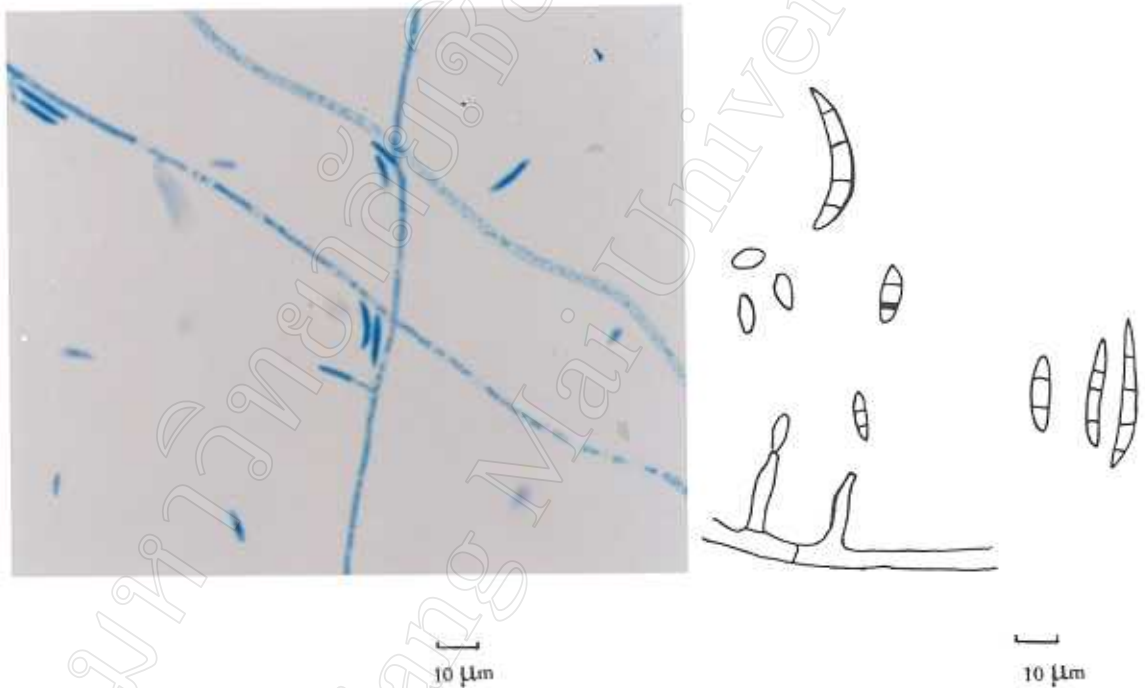
ภาพ 12 ลักษณะของเชื้อราไอโซเลต BB₄

เมื่อจัดลำดับขั้นทางอนุกรมวิธานของเชื้อราไอโซเลต BB₄ ตาม Barnett and Hunter (1972) และ Ainsworth *et al.* (1973) สามารถจัดลำดับได้ดังนี้

Division	<i>Eumycota</i>
Subdivision	<i>Deuteromycotina</i>
Class	<i>Hyphomycetes</i>
Order	<i>Moniliales</i>
Family	<i>Moniliaceae</i>
Genus	<i>Aspergillus</i>

2. ไอโซเลต CH₁₂ (จาก stock culture)

โคโลนีสีม่วงอ่อน เส้นใยฟู เจริญได้ที่อุณหภูมิ 20, 25 และ 30 องศาเซลเซียส เส้นใยบางมากและมีผนังกันตามขวาง สร้างสปอร์ทั้ง macroconidia และ microconidia สปอร์ขนาดใหญ่มีหลายเซลล์ขนาด 15.0-42.5 x 2.5-3.25 ไมโครเมตร สปอร์ขนาดเล็กมี ขนาด 1.25-2.5 x 5.0-10.0 ไมโครเมตร (ภาพ 13)



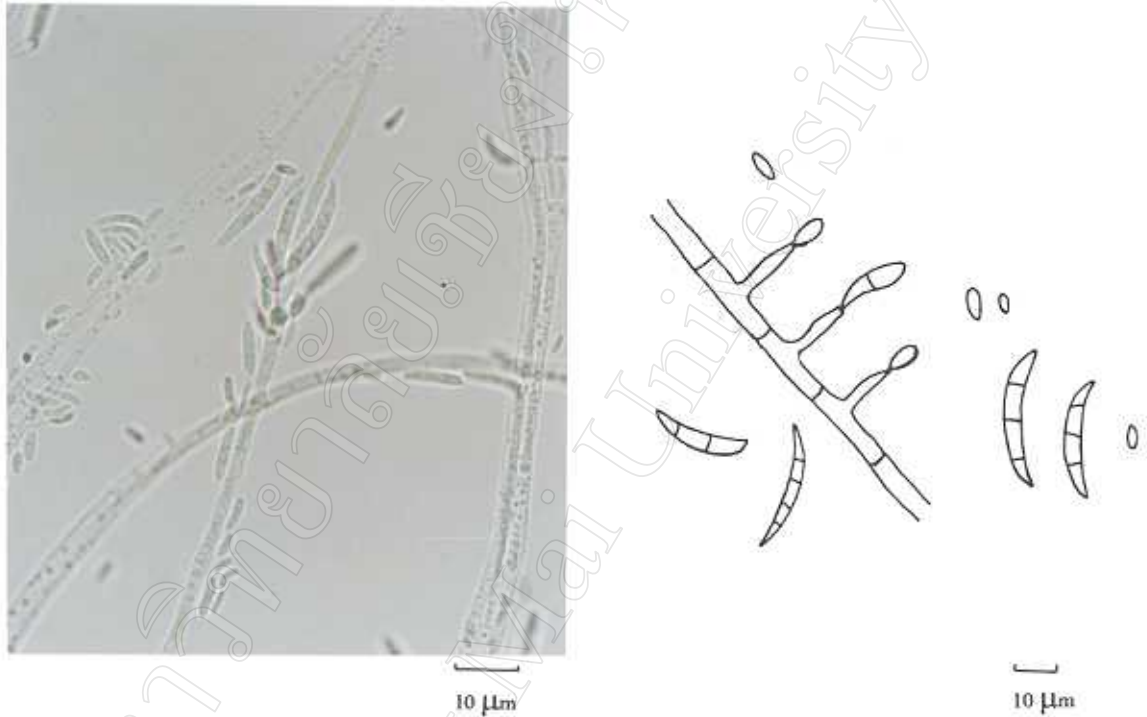
ภาพ 13 ลักษณะของเชื้อราไอโซเลต CH₁₂

เมื่อจัดลำดับชั้นทางอนุกรมวิธานของเชื้อราไอโซเลต CH₁₂ ตาม Barnett and Hunter (1972) และ Ainsworth *et al.* (1973) สามารถจัดลำดับได้ดังนี้

Division	<i>Eumycota</i>
Subdivision	<i>Deuteromycotina</i>
Class	<i>Hyphomycetes</i>
Order	<i>Moniliales</i>
Family	<i>Moniliaceae</i>
Genus	<i>Fusarium</i>

3. ไอโซเลต D₄ (จาก stock culture)

โคโคเนียสีครีม มีการสร้างเม็ด sclerotia ลักษณะกลมสีครีม เจริญได้ที่อุณหภูมิ 20, 25 และ 30 องศาเซลเซียส เส้นใยมีผนังกันตามขวาง สปอร์สีใสลักษณะคล้ายเคียว มี 2 แบบทั้ง macroconidia และ microconidia สปอร์ขนาดใหญ่มีหลายเซลล์ขนาด 2.5-3.25 x 12.5-30.0 ไมโครเมตร สปอร์ขนาดเล็กมีขนาด 1.25-2.5x2-7.0 ไมโครเมตร (ภาพ 14)



ภาพ 14 ลักษณะของเชื้อราไอโซเลต D₄

สามารถจัดลำดับขั้นทางอนุกรมวิธานของเชื้อราไอโซเลต D₄ ได้เช่นเดียวกับ ไอโซเลต CH₁₂ (หน้า 46)

4. ไอโซเลท CT₂₆ (แยกจากดินบริเวณ ค.หนองป่าครั่ง อ.เมือง จ.เชียงใหม่)

เส้นใยสีขาว สร้างสปอร์สีเขียว เจริญได้ที่อุณหภูมิ 20, 25 และ 30 องศาเซลเซียส เส้นใยมีคั่นตามขวาง สร้างสปอร์ค่อนข้างกลม รีเล็กน้อยเกิดเป็นกลุ่มเล็กๆ บน phialide ที่แตกแขนง ออกทางด้านข้างและส่วนปลายของโคนิไดโอฟอร์ phialide มีขนาด 2.5x10.0 ไมโครเมตร สปอร์ขนาด 2.5-5.0x2.5-5.0 ไมโครเมตร (ภาพ 15.)



ภาพ 15 ลักษณะของเชื้อราไอโซเลท CT₂₆

เมื่อจัดลำดับขั้นทางอนุกรมวิธานของเชื้อราไอโซเลท CT₂₆ ตาม Barnett and Hunter (1972) และ Ainsworth *et al.* (1973) สามารถจัดลำดับได้ดังนี้

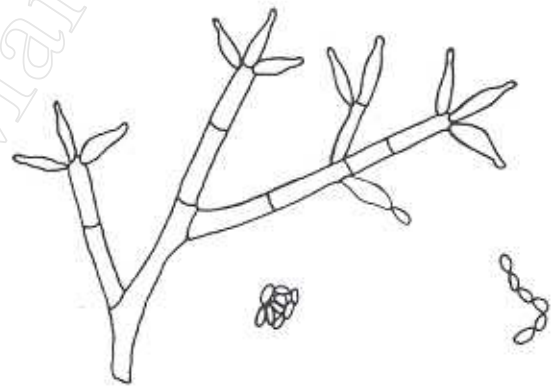
Division	<i>Eumycota</i>
Subdivision	<i>Deuteromycotina</i>
Class	<i>Hyphomycetes</i>
Order	<i>Moniliales</i>
Family	<i>Moniliaceae</i>
Genus	<i>Trichoderma</i>

5. ไอโซเลท CK₂₀ (แยกจากเห็ด)

เส้นใยสีขาว สร้างสปอร์สีเขียว เจริญได้ที่อุณหภูมิ 20, 25 และ 30 องศาเซลเซียส เส้นใยมีผนังกันตามขวาง สร้างสปอร์ค่อนข้างรี ขนาด 2.5-3.75x2.5x4.5 ไมโครเมตร โดยอาจเกิดเดี่ยวๆ หรือเป็นกลุ่มเล็กๆ สร้างบน phialide ขนาด 1.75-2.5x5.0-12.5 ไมโครเมตร (ภาพ 16)



10 μm



10 μm

ภาพ 16 ลักษณะของเชื้อราไอโซเลท CK₂₀.

สามารถจัดลำดับขั้นทางอนุกรมวิธานได้เช่นเดียวกับไอโซเลท CT₂₆ (หน้า 48)

การศึกษาการเจริญบนอาหารบางชนิดและผลของอุณหภูมิต่อการเจริญของ *Trichoderma* sp. CK₂₀

จากการศึกษาลักษณะการเจริญของ *Trichoderma* sp. CK₂₀ บนอาหาร 4 ชนิด ได้แก่ chitin agar, chitin overlay plate, PDA และ Czapek's agar โดยบ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง ($20-35 \pm 2^\circ \text{C}$) เป็นเวลา 5 วัน พบว่าเชื้อสามารถเจริญบนอาหาร chitin agar, chitin overlay plate และ PDA ได้จนเต็มจานอาหาร และเชื้อมีการสร้างกรดออกมาด้วย โดยสังเกตจากการเปลี่ยนสีของอาหาร chitin overlay plate ที่มี bromthymol blue เป็น indicator ซึ่งเปลี่ยนสีจากสีน้ำเงินเข้มเป็นสีเขียวอ่อน ส่วนการเจริญบน Czapek's agar จะช้ากว่าอาหารทั้ง 3 ชนิด ซึ่งมีเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อเท่ากับ 4.8 เซนติเมตร (ภาพ 17)



Chitin agar



chitin overlay plate



PDA



Czapek's agar

ภาพ 17 ลักษณะการเจริญของ *Trichoderma* sp. CK₂₀ บนอาหาร chitin agar, chitin overlay plate, PDA และ Czapek's agar โดยบ่มที่อุณหภูมิห้อง ($20-35 \pm 2^\circ \text{C}$) เป็นเวลา 5 วัน

จากการศึกษาผลของอุณหภูมิต่อการเจริญของ *Trichoderma* sp. CK₂₀ บนอาหาร PDA โดย บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 20, 25, 30, 37 และ 45 องศาเซลเซียส ตามลำดับ พบว่า *Trichoderma* sp. CK₂₀ เจริญได้ที่อุณหภูมิ 20, 25 และ 30 องศาเซลเซียส แต่ไม่สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิ 37 และ 45 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญคือ ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส (ตาราง 11)

ตาราง 11 ผลของอุณหภูมิต่อการเจริญของ *Trichoderma* sp. CK₂₀ บนอาหาร PDA และบ่มเชื้อ ที่อุณหภูมิ 20, 25, 30, 37 และ 45 องศาเซลเซียส

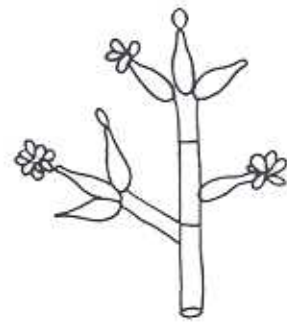
วันที่	เส้นผ่าศูนย์กลางของโคโลนีของ <i>Trichoderma</i> sp. CK ₂₀ (มม.)				
	20 °C	25 °C	30 °C	37 °C	45 °C
1	24.0	14.0	32.0	-	-
2	50.0	43.0	70.0	-	-
3	90.0	90.0	90.0	-	-

ไอโซเลท SC-21 (แยกจากดินบริเวณน้ำตกมณฑาธาร)

เส้นใยสีขาว สร้างสปอร์สี่เชือก เจริญได้ที่อุณหภูมิ 20, 25 และ 30 องศาเซลเซียส เส้นใยมีผนังกันตามขวาง สปอร์รี ขนาด 2.5-3.75x2.5-5.0 ไมโครเมตร โดยเกิดเดี่ยวๆ หรือเป็นกลุ่มบน phialide ขนาด 1.5-2.5x10.0-15.0 ไมโครเมตร (ภาพ 18)



10 μm



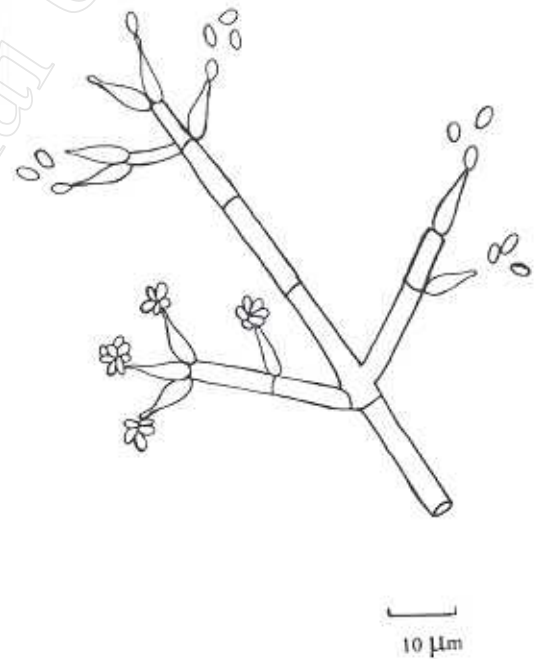
10 μm

ภาพ 18 ลักษณะของเชื้อราไอโซเลท SC-21

สามารถจัดลำดับขั้นทางอนุกรมวิธานได้เช่นเดียวกับไอโซเลท CT₂₆ (หน้า 48)

7. ไอโซเลท SC-23

โคโลนีสีขาว สร้างสปอร์สีเขียว เจริญได้ที่อุณหภูมิ 20, 25, และ 30 องศาเซลเซียส เส้นใยมีผนังกันตามขวาง สปอร์ค่อนข้างรี สปอร์มีขนาด 2.0-5.0x2.5-4.0 ไมโครเมตร เกิดเป็นกลุ่มๆ บน phialide ที่แตกแขนงออกมาจากโคนดิโอพอร์มี ขนาด 1.25-2.0x7.5-10.0 ไมโครเมตร (ภาพ 19)

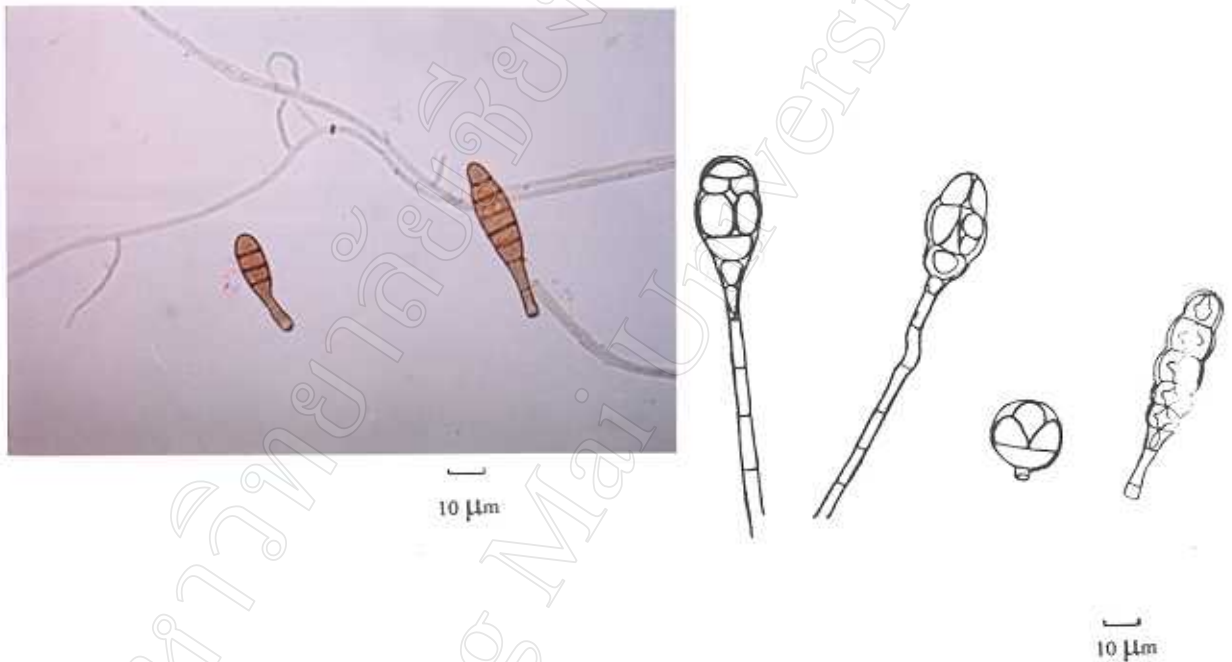


ภาพ 19 ลักษณะของเชื้อราไอโซเลท SC-23

สามารถจัดลำดับชั้นทางอนุกรมวิธานได้เช่นเดียวกับไอโซเลท CT₂₆ (หน้า 48)

8. ไอโซเลท P₂₁ (จาก stock culture)

เส้นใยฟูสีเทา เจริญได้ที่อุณหภูมิ 20, 25 และ 30 องศาเซลเซียส โคนิดิโอฟอร์และโคนิเดียส น้ำตาลแกมทอง โคนิดิโอฟอร์ไม่แตกกิ่ง สร้างโคนิเดียตรงปลายแบบ porospore ซึ่งมีผนังกันทั้งตาม ขาวและตามขวาง โคนิเดียรูปร่างคล้ายกระบอก ผนังไม่เรียบคล้ายมีขนรอบๆ ขนาด 7.5-12.0x35.0-55.0 ไมโครเมตร (ภาพ 20)



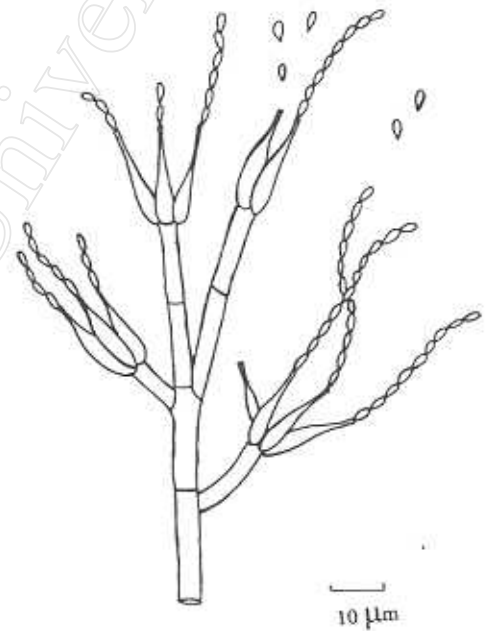
ภาพ 20 ลักษณะของเชื้อราไอโซเลท P₂₁

เมื่อจัดลำดับชั้นทางอนุกรมวิธานของเชื้อราไอโซเลท P₂₁ ตาม Barnett and Hunter (1972) และ Ainsworth *et al.* (1973) สามารถจัดลำดับได้ดังนี้

Division	<i>Eumycota</i>
Subdivision	<i>Deuteromycotina</i>
Class	<i>Hyphomycetes</i>
Order	<i>Moniliales</i>
Family	<i>Dematiaceae</i>
Genus	<i>Alternaria</i>

9. ไอโซเลท S1-11 (แยกจากดินบริเวณหัวขอกม้า)

โคโลนีสีน้ำตาลอ่อน เส้นใยค่อนข้างฟู เจริญได้ทั้งที่อุณหภูมิ 20, 25, 30 และ 37 องศาเซลเซียส สร้างสปอร์เป็นผงสีน้ำตาล ลักษณะเล็ก รี ต่อกันเป็นสาย ขนาด 1.5-2.5x2.5-5.0 ไมโครเมตร phialide แตกกิ่งคล้ายกับ *Penicillium* sp. ลักษณะผสมบาง มีขนาด 1.0-2.0x10.0-25.0 ไมโครเมตร (ภาพ 21)



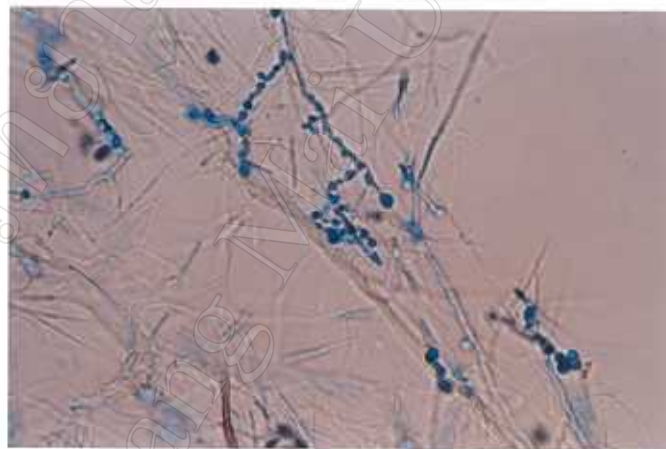
ภาพ 21 ลักษณะของเชื้อราไอโซเลท S1-11

เมื่อจัดลำดับชั้นทางอนุกรมวิธานของเชื้อราไอโซเลท S1-11 ตาม Barnett and Hunter (1972) และ Ainsworth *et al.* (1973) สามารถจัดลำดับได้ดังนี้

Division	<i>Eumycota</i>
Subdivision	<i>Deuteromycotina</i>
Class	<i>Hyphomycetes</i>
Order	<i>Moniliales</i>
Family	<i>Moniliaceae</i>
Genus	<i>Paecilomyces</i>

10. ไอโซเลท CK30 (แยกจากดินและเปลือกกุ้งที่นำไปฝังดินใต้ดินมะขม บริเวณตึกชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่)

เส้นใยสีเหลืองฟู มีขนงกันตามขวาง สร้างรงควัตถุสีเหลืองแพร่กระจายในอาหาร เจริญได้ที่อุณหภูมิ 20, 25, 30 และ 37 องศาเซลเซียส โคนิเดียก่อนข้างกลม ลักษณะเซลล์เดี่ยวเรียงต่อกัน ปลายด้านหนึ่งมนส่วนอีกด้านหนึ่งปลายตัด ขนาด $3.75-5 \times 5$ ไมโครเมตร โคนิเดียและโคนิดิโอฟอร์ก่อนข้างใส โคนิดิโอฟอร์สั้นและไม่แตกแขนง บางครั้งอาจมีการสร้าง arthrospore ด้วย (ภาพ 22)



ภาพ 22 ลักษณะของเชื้อราไอโซเลท CK₃₀

เมื่อจัดลำดับชั้นทางอนุกรมวิธานของเชื้อราไอโซเลท CK₃₀ ตาม Barnett and Hunter (1972) และ Ainsworth *et al.* (1973) สามารถจัดลำดับได้ดังนี้

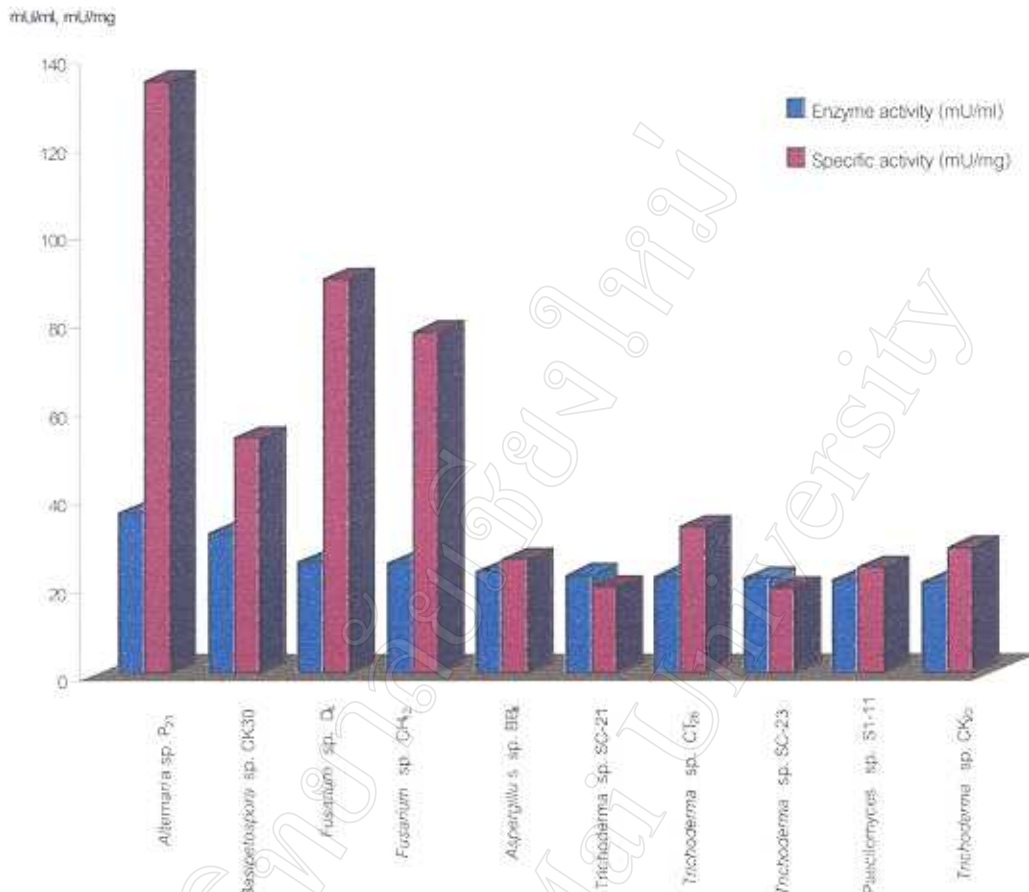
Division	<i>Eumycota</i>
Subdivision	<i>Deuteromycotina</i>
Class	<i>Hyphomycetes</i>
Order	<i>Moniliales</i>
Family	<i>Moniliaceae</i>
Genus	<i>Basipetospora</i>

5. การวัดการทำงานของเอนไซม์ไคตินเนส

เมื่อนำน้ำกรองเลี้ยงเชื้อราทั้ง 10 ไอโซเลท ที่ให้ผลยับยั้งเชื้อทดสอบ โดย cylinder plate method มาวัดค่าการทำงานของเอนไซม์ไคตินเนส พบว่า *Alternaria* sp. P₂₁ มีค่า enzyme activity สูงสุด คือ 36.22 mU/ml และมีค่า specific activity เท่ากับ 134.14 mU/mg ส่วน *Trichoderma* sp. CK₂₀ มีค่า enzyme activity ต่ำที่สุด เท่ากับ 20.40 mU/ml และมีค่า specific activity เท่ากับ 28.33 mU/mg ได้ผลดังตาราง 12 และภาพ 23

ตาราง 12 Enzyme activity และ specific activity ของเอนไซม์ไคตินเนสจากน้ำกรองเลี้ยงเชื้อรา ทั้ง 10 ไอโซเลท ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร EPM ที่อุณหภูมิห้อง (20-35±2 °C) เป็นเวลา 7 วัน

ไอโซเลท	Enzyme activity (mU/ml)	Specific activity (mU/mg protein)
<i>Alternaria</i> sp. P ₂₁	36.22	134.14
<i>Basipetospora</i> sp. CK ₃₀	31.50	53.38
<i>Fusarium</i> sp. D ₄	24.99	89.25
<i>Fusarium</i> sp. CH ₁₂	24.74	77.30
<i>Aspergillus</i> sp. BB ₄	22.95	25.78
<i>Trichoderma</i> sp. SC-21	22.09	19.49
<i>Trichoderma</i> sp. CT ₂₆	21.80	33.03
<i>Trichoderma</i> sp. SC-23	21.38	19.26
<i>Paecilomyces</i> sp. S1-11	21.12	23.73
<i>Trichoderma</i> sp. CK ₂₀	20.40	28.33



ภาพ 23 Enzyme activity และ specific activity ของ *Alternaria* sp. P₂₁, *Basipetospora* sp. CK₃₀, *Fusarium* sp. D₄, *Fusarium* sp. CH₁₂, *Aspergillus* sp. BB₄, *Trichoderma* sp. SC-21, *Trichoderma* sp. CT₂₆, *Trichoderma* sp. SC-23, *Paecilomyces* sp. S1-11 และ *Trichoderma* sp. CK₂₀ ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร Enzyme production medium ที่อุณหภูมิห้อง (20-35 ± 2 °C) เป็นเวลา 7 วัน

6. การทดสอบประสิทธิภาพของน้ำกรองเลี้ยงเชื้อราโดย poisonous food technique

พบว่าน้ำกรองเลี้ยงเชื้อราจาก 6 ไอโซเลท ให้ผลยับยั้งการเจริญ *Cladosporium* sp. โดย *Trichoderma* sp. SC-23 ยับยั้งได้ดีที่สุดคือ 36.36% (ตาราง 13 และภาพ 25) น้ำกรองเลี้ยงเชื้อราจาก 8 ไอโซเลท สามารถยับยั้งการเจริญ *Fusarium* sp. โดย *Alternaria* sp. P21 ยับยั้งได้ดีที่สุดคือ 25% (ตาราง 14 และภาพ 26) และน้ำกรองเลี้ยงเชื้อราจาก 2 ไอโซเลท สามารถยับยั้งการเจริญ *Lasiodiplodia* sp. โดย *Trichoderma* sp. SC-21 ยับยั้งได้ดีที่สุดคือ 26.67% (ตาราง 15 และภาพ 27) ดังภาพ 24

ตาราง 13 ผลยับยั้งการเจริญของ *Cladosporium* sp. โดยน้ำกรองเลี้ยงเชื้อราทั้ง 10 ไอโซเลท โดย poisonous food technique

ไอโซเลท	ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของ <i>Cladosporium</i> sp. (มม.)	% ยับยั้ง
Control	16.5	0
<i>Aspergillus</i> sp. SC-23	10.5	36.36
<i>Paecilomyces</i> sp. S1-11	11.5	30.3
<i>Trichoderma</i> sp. CK ₂₀	13.5	18.18
<i>Aspergillus</i> sp. BB ₄	14.0	15.15
<i>Trichoderma</i> sp. CT ₂₆	14.0	15.15
<i>Fusarium</i> sp. D ₄	14.5	12.12
<i>Basipetospora</i> sp. CK ₃₀	17.0	0
<i>Trichoderma</i> sp. SC-21	18.0	0
<i>Fusarium</i> sp. CH ₁₂	19.8	0
<i>Alternaria</i> sp. P ₂₁	20.4	0

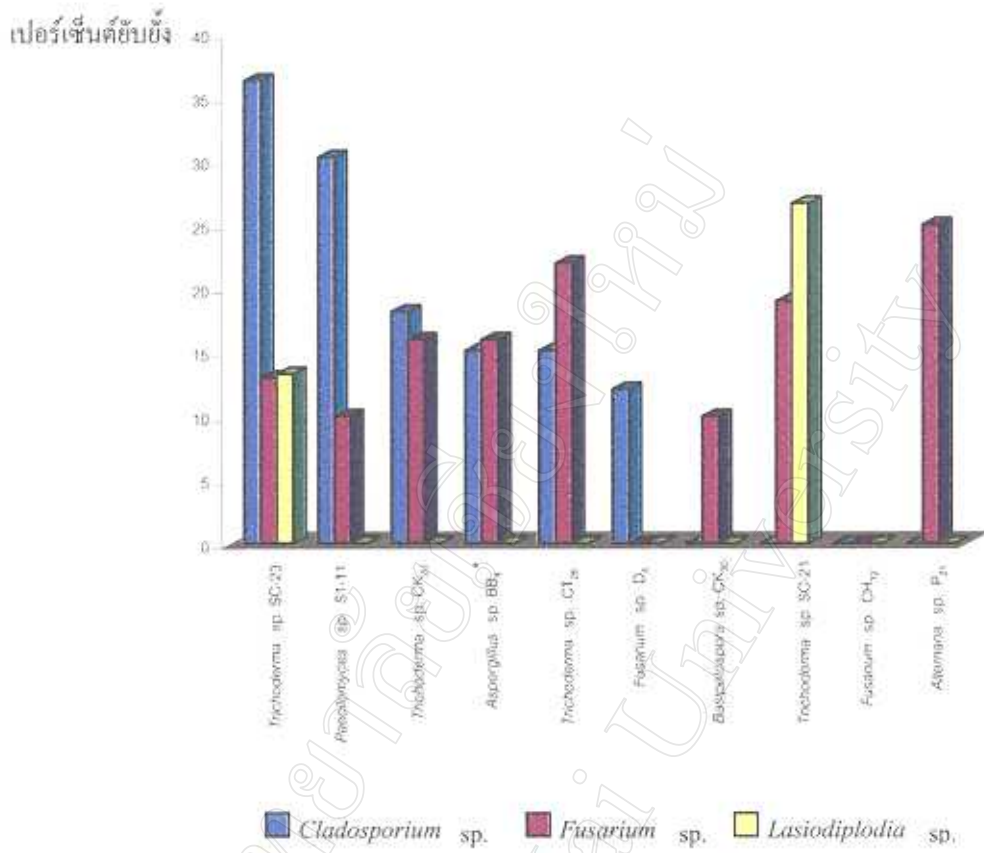
ตาราง 14 ผลยับยั้งการเจริญของ *Fusarium* sp. โดยน้ำกรองเลี้ยงเชื้อราทั้ง 10 ไอโซเลท โดย
poisonous food technique

ไอโซเลท	ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของ <i>Fusarium</i> sp. (มม.)	% ยับยั้ง
Control	50	0
<i>Alternaria</i> sp. P ₂₁	37.5	25
<i>Trichoderma</i> sp. CT ₂₆	39	22
<i>Trichoderma</i> sp. SC-21	40.5	19
<i>Aspergillus</i> sp. BB ₄	42	16
<i>Trichoderma</i> sp. CK ₂₀	42	16
<i>Trichoderma</i> sp. SC-23	43.5	13
<i>Basipetospora</i> sp. CK ₃₀	45	10
<i>Paecilomyces</i> sp. S1-11	45	10
<i>Fusarium</i> sp. D ₄	53	0
<i>Fusarium</i> sp. CH ₁₂	55	0

ตาราง 15 ผลยับยั้งการเจริญของ *Lasiodiplodia* sp. โดยน้ำกรองเลี้ยงเชื้อราทั้ง 10 ไอโซเลท โดย
poisonous food technique

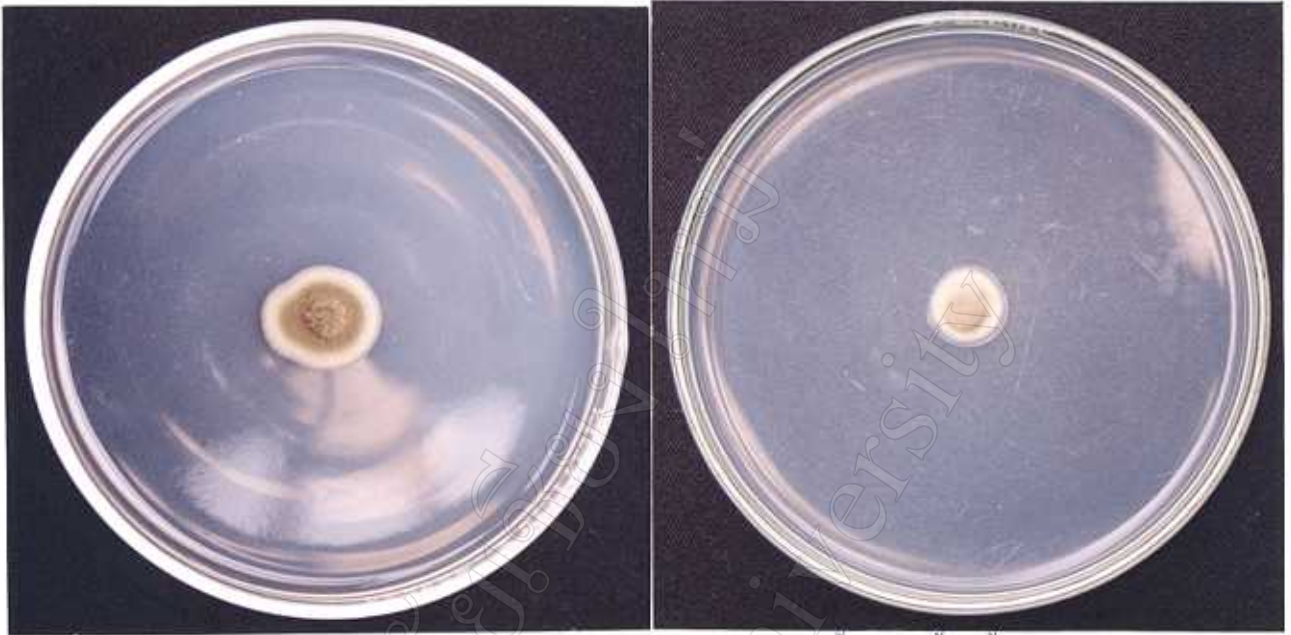
ไอโซเลท	ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของ <i>Lasiodiplodia</i> sp. (มม.)	% ยับยั้ง
Control	90	0
<i>Trichoderma</i> sp. SC-21	66	26.67
<i>Trichoderma</i> sp. SC-23	78	13.3
<i>Alternaria</i> sp. P ₂₁	90	0
<i>Aspergillus</i> sp. BB ₄	90	0
<i>Fusarium</i> sp. CH ₁₂	90	0
<i>Fusarium</i> sp. D ₄	90	0
<i>Paecilomyces</i> sp. S1-11	90	0
<i>Trichoderma</i> sp. CK ₂₀	90	0
<i>Trichoderma</i> sp. CT ₂₆	90	0
<i>Basipetospora</i> sp. CK ₃₀	90	0

ซึ่งได้แสดงภาพผลการยับยั้งของน้ำกรองเลี้ยงเชื้อราจากบางไอโซเลทต่อ *Cladosporium* sp., *Fusarium* sp. และ *Lasiodiplodia* sp. เปรียบเทียบกับชุดควบคุม ดังภาพ 25 , 26 และ 27 ตามลำดับ



ภาพ 24 ผลยับยั้งการเจริญ *Cladosporium* sp., *Fusarium* sp. และ *Lasiodiplodia* sp.

โดย Poisonous food technique



ชุดควบคุม

PDA+ น้ำกรองเลี้ยงเชื้อรา

จาก *Trichoderma* sp. SC-23

ภาพ 25 การเจริญของ *Cladosporium* sp. บนอาหารชุดควบคุม และอาหารทดสอบที่มีน้ำกรองเลี้ยงเชื้อราจาก *Trichoderma* sp. SC-23 ผสมอยู่ คูผลเมื่ออายุ 5 วัน



ชุดควบคุม

PDA+ น้ำกรองเลี้ยงเชื้อรา

จาก *Alternaria* sp. P₂₁

ภาพ 26 การเจริญของ *Fusarium* sp. บนอาหารชุดควบคุม และอาหารทดสอบที่มีน้ำกรองเลี้ยงเชื้อราจาก *Alternaria* sp. P₂₁ ผสมอยู่ คูผลเมื่ออายุ 5 วัน



ชุดควบคุม

PDA+ น้ำกรองเลี้ยงเชื้อรา
จาก *Trichoderma* sp. SC-21

ภาพ 27 การเจริญของ *Lasiodiplodia* sp. บนอาหารชุดควบคุม และอาหารทดสอบที่มีน้ำกรองเลี้ยงเชื้อราจาก *Trichoderma* sp SC-21 ผสมอยู่ คูผลเมื่ออายุ 5 วัน