2.3 การศึกษาสัณฐานวิทยาของเชื้อราและยีสต์

เพาะเลี้ยงเชื้อราสายพันธุ์ *Trichoderma reesei* RT-P1 บริสุทธิ์บนอาหาร PDA นำไปบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน และเพาะเลี้ยงยีสต์สายพันธุ์ *Saccharomyces cerevisiae* RT-P2 บริสุทธิ์บนอาหาร YMA นำไปบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส นาน 5 วัน ดังรูปที่ 1 จากนั้นศึกษาขนาด รูปร่าง ลักษณะเซลล์ของจุลินทรีย์ทั้งสองชนิดภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบเลนส์ประกอบ [2] เพื่อจำแนกสายพันธุ์ของเชื้อรา โดยการนำไปสืบค้นเพื่อจำแนกสายพันธุ์ จากเวบไซต์ http://nt.ars-grin.gov และจำแนกสายพันธุ์ของยีสต์ โดยวิธีการตรวจ 26S rRNA

ก) ข)

รูปที่ 1 ก) *Trichoderma reesei* RT-P1 บนอาหาร PDA
ข) *Saccharomyces cerevisieae* RT-P2 บนอาหาร YMA

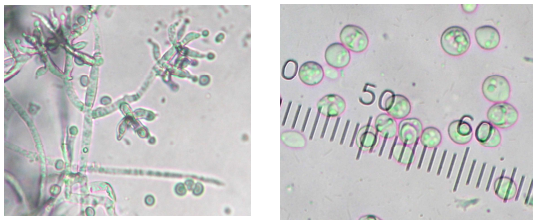
2.4 การศึกษาสัณฐานวิทยาของเชื้อผสมระหว่าง *Trichoderma reesei* RT-P1 และ *Saccharomyces cerevisiae* RT-P2

เพาะเลี้ยงเชื้อผสมโดยการขีดเชื้อยีสต์สายพันธุ์ *Saccharomyces cerevisiae* RT-P2 ทั่วจานเพาะเชื้อ และถ่ายเชื้อราสายพันธุ์ *Trichoderma reesei* RT-P1ลงกลางจานเพาะเชื้อ 1 ห่วงเขี่ยเชื้อ ให้เจริญร่วมกันบนอาหาร PDA (TY-P) นำไปบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส นาน 5 วัน สังเกตการเจริญของเชื้อผสมบนอาหาร PDA จากนั้นถ่ายเชื้อผสมที่ได้ลงในอาหาร LM-pH5 ที่ผสมกากมันสำปะหลัง (TY-FS) ทำการศึกษาสัณฐานวิทยาของเชื้อผสมที่เจริญในอาหารทั้งสองชนิดภายใต้กล้องจุลทรรศน์เลนส์ประกอบยี่ห้อ Olympus รุ่น CH30 และกล้องจุลทรรศน์อิเล็คตรอนแบบส่องผ่าน (Transmission Electron Microscope) ยี่ห้อ JEOL รุ่น JEM - 1230 80 kv.

3. ผลการทดลองและวิจารณ์ผล

3.1 สัณฐานวิทยาของเชื้อราและยีสต์

โครงสร้างของรา *Trichoderma reesei* RT-P1 มีขนาดโคนิดิโอฟอร์กว้าง 3.6 - 4.1 μm ยาว 4.6 - 5.0 μm ขนาดของก้านชูสปอร์กว้าง 2.7 - 3.5 μm ยาว 5.1 - 6.8 μm และลักษณะของสปอร์เป็นรูปวงรี ขนาดสปอร์กว้าง 2.7 - 3.2 μm ยาว 3.5 - 4.1 μm ส่วน *Saccharomyces cerevisiae* RT-P2 มีขนาดความกว้างและความยาวของเซลล์โดยเฉลี่ยในช่วง 4.5 - 5.4 และ 6.8 - 8.5 μm ตามลำดับ ดังรูปที่ 2 เมื่อนำ *Saccharomyces cerevisiae* RT-P2 มาวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ด้วยวิธี 26S rRNA พบว่า ลำดับนิวคลีโอไทด์ของ *Saccharomyces cerevisiae* RT-P2 ตรงกับลำดับนิวคลีโอไทด์อ้างอิงของ *Saccharomyces cerevisiae* จากฐานข้อมูล GenBank 100 เปอร์เซ็นต์

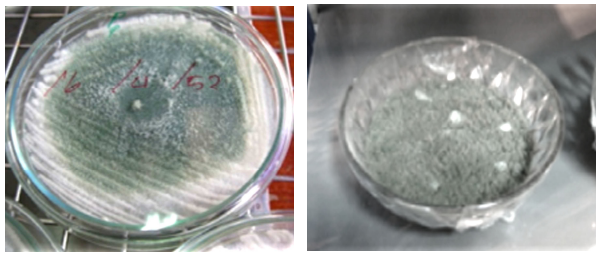


ก) ข)

รูปที่ 2 ก) สัณฐานวิทยาของ *Trichoderma reesei* RT-P1
ข) สัณฐานวิทยาของ *Saccharomyces cerevisiae* RT-P2
ภายใต้กล้องจุลทรรศน์เลนส์ประกอบกำลังขยาย 400 เท่า

3.2 สัณฐานวิทยาของเชื้อผสมระหว่าง *Trichoderma reesei* RT-P1 และ *Saccharomyces cerevisiae* RT-P2

จากการเพาะเลี้ยงเชื้อผสมบนอาหาร PDA พบว่า เส้นใยเชื้อรา *Trichoderma reesei* RT-P1 มีการเจริญจากกึ่งกลางแผ่กระจายไปรอบจานเพาะเชื้อ บริเวณรอบจุดกึ่งกลางพบสปอร์สีเขียว ส่วนโคโลนีของ *Saccharomyces cerevisiae* RT-P2 มีสีขาว สามารถเจริญตามรอยขีดทั่วจานเพาะเชื้อ หลังบ่มเลี้ยงเชื้อครบ 5 วัน พบว่าเส้นใยของเชื้อราจะเจริญปกคลุมทับโคโลนีของยีสต์ ส่วนการเจริญของเชื้อผสมบนอาหาร LM-pH5 ที่ผสมกากมันสำปะหลัง พบว่า เชื้อผสมสามารถเจริญได้ทั่วอาหาร แต่พบการสร้างเส้นใยน้อยกว่าในอาหาร PDA แสดงผลดังรูปที่ 3



ก) ข)

รูปที่ 3 ก) การเจริญของ *Trichoderma reesei* RT-P1 และ *Saccharomyces cerevisiae* RT-P2 บนอาหาร PDA นาน 5 วัน
ข) การเจริญของ *Trichoderma reesei* RT-P1 และ *Saccharomyces cerevisiae* RT-P2 บนอาหาร LM pH-5 ผสมกากมันสำปะหลัง นาน 5 วัน

ลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อผสมที่เพาะเลี้ยงบนอาหาร PDA (TY-P) และอาหาร LM pH-5 ที่ผสมกากมันสำปะหลัง (TY-FS) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์เลนส์ประกอบ กำลังขยาย 400 เท่า แสดงผลดังตารางที่ 1 และรูปที่ 4

* Corresponding author(s); pradabrat@yahoo.com