

การผลิตเอนไซม์ของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ที่แยกได้จากดิน และวัสดุเพาะเห็ด

## Enzyme Production of *Trichoderma* spp. Isolated from Soil and Mushroom Spawn

พยุงค์ศักดิ์ รวยอารี<sup>1/\*</sup> ทศนาพร ทศกร<sup>2/</sup>

Payungsak Rauyaree<sup>1/\*</sup> Tassanaporn Tassakorn<sup>2/</sup>

Received 30 May 2022/Revised 7 Apr. 2023/Accepted 28 Apr. 2023

### ABSTRACT

Twenty-nine isolates of *Trichoderma* spp. obtained from soil and mushroom spawn samples during 2019 to 2021 were used to evaluate their degrading-enzymes synthesis efficiency on selective media. Degrading-enzymes synthesis efficiency was done by zone clearing technique and by calculating hydrolysis capacity (HC) value. The results revealed that isolates T-1, T-14 and T-22 showed the highest efficiency to synthesize pectinase, cellulase and amylase enzymes at HC values of 7.73, 7.13 and 5.00 respectively. Isolates T-1, T-14 and T-22 were identified by ITS4 and ITS5 gene sequencing. The results showed that T-1, T-14 and T-22 were *Trichoderma asperellum* (Samuels) Lieckf. & Nirenberg with 100, 99 and 99% identity. T-1 and T-14 were isolated from soil in Photharam, Ratchaburi province and Dan Makham Tia, Kanchanaburi Province respectively. Whereas, T-22 was isolated from mushroom spawn in Damnoen Saduak, Ratchaburi Province.

**Keywords:** *Trichoderma* spp.; cellulase; pectinase; amylase

---

<sup>1/</sup> สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ กรมวิชาการเกษตร อ.ธัญบุรี จ.ปทุมธานี 12110

<sup>1/</sup> Biotechnology Research and Development Office, Department of Agriculture, Thanyaburi, Pathum Thani, 12110

<sup>2/</sup> สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร 50 ถนนพหลโยธิน จตุจักร กรุงเทพฯ 10900

<sup>2/</sup> Plant Protection Research and Development Office, Department of Agriculture, 50 Phahonyothin Road., Chatuchak, Bangkok 10900

\* Corresponding author: prauyar032@gmail.com

## บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบประสิทธิภาพการสร้างเอนไซม์ย่อยสลายของเชื้อรา *Trichoderma* spp. จำนวน 29 ไอโซเลท ที่แยกได้จากตัวอย่างดิน และวัสดุเพาะเห็ด ในปี พ.ศ. 2562-2564 นำเชื้อรา *Trichoderma* spp. ที่แยกได้มาทดสอบประสิทธิภาพการสร้างเอนไซม์ย่อยสลายบนอาหารเลี้ยงเชื้อจำเพาะ ด้วยวิธี zone clearing technique และประเมินค่า hydrolysis capacity (HC value) ผลการทดลองพบว่า เชื้อรา *Trichoderma* ไอโซเลท T-1, T-14 และ T-22 สามารถสร้างเอนไซม์ เพคติเนส เซลลูเลส และอะไมเลสได้สูงที่สุด มีค่า HC เท่ากับ 7.73 7.13 และ 5.00 ตามลำดับ และสามารถระบุไอโซเลท T-1, T-14 และ T-22 ถึงระดับสปีชีส์ด้วยการหาลำดับเบสโดยใช้คู่มือ ITS5 และ ITS4 พบว่า ไอโซเลท *Trichoderma* T-1, T-14 และ T-22 คือ เชื้อรา *Trichoderma asperellum* (Samuels) Lieckf. & Nirenberg ที่ระดับความเหมือน 100 99 และ 99% ตามลำดับ โดยเชื้อรา *Trichoderma* ไอโซเลท T-1 และ T-14 แยกมาได้จากตัวอย่างดินที่เก็บมาจาก อ. โพธาราม จ. ราชบุรี และ อ. ด่านมะขามเตี้ย จ. กาญจนบุรี ตามลำดับ ส่วน ไอโซเลท T-22 แยกได้จากวัสดุเพาะเห็ด อ. ดำเนินสะดวก จ. ราชบุรี

**คำสำคัญ:** *Trichoderma* spp.; เซลลูเลส; เพคติเนส; อะไมเลส

## บทนำ

วิธีการควบคุมโรคพืชด้วยชีววิธี (biocontrol agents) เป็นวิธีที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม ไม่เป็นอันตรายต่อผู้ใช้ และสามารถทดแทนการใช้สารเคมี

ปัจจุบันมีการศึกษาการใช้เชื้อรา *Trichoderma* ซึ่งเป็นเชื้อราปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพสูงในการเจริญแข่งขันกับเชื้อราสาเหตุโรคพืช เนื่องจากมีการเจริญเติบโตเพิ่มปริมาณได้อย่างรวดเร็ว ทศนาพร และคณะ (2550) ได้ทำการแยกเชื้อรา *Trichoderma* จากวัสดุเพาะเห็ด และก้อนเชื้อเห็ดที่ปนเปื้อนจากฟาร์มเพาะเห็ดต่าง ๆ เมื่อนำมาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Phomopsis asparagi* บนจานอาหาร PDA ในห้องปฏิบัติการ พบว่า มีประสิทธิภาพดี และสามารถคัดเลือกได้เชื้อรา *Trichoderma* spp. ที่มีประสิทธิภาพ ดีจำนวน 18 ไอโซเลท โดยพบว่าทุกไอโซเลท คือ เชื้อรา *T. harzianum* จึงทำการศึกษาต่อในสภาพเรือนทดลอง ผลการศึกษาพบว่า ไอโซเลท TS29 และ TS31 มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดโรคลำต้นไหม้ได้ดี

เชื้อรา *Trichoderma* สามารถสร้างสารยับยั้งเชื้อราก่อโรคพืชต่าง ๆ ได้แก่ เอนไซม์ต่าง ๆ เช่น เซลลูเลส อะไมเลส เพคติเนส ไลเปส โคติเนส ไชลานเนส แทเนส โพลีกลูแคนเนส Carbohydrate-Active (CAZymes) โปรตีเอส  $\beta$ -1, 3 กลูคาเนส เป็นต้น (Gajera and Vakharia, 2012; Bech et al., 2015) การผสมเชื้อรา *Trichoderma* spp. ในดินปลูกข้าวโพด ถั่วลิสง และยาสูบ พบว่า *Trichoderma* spp. สร้างเอนไซม์ประเภท lytic enzymes เป็นปริมาณมาก (Engelberth et al., 2003) โดยเฉพาะอย่างยิ่งเอนไซม์ย่อยสลายผนังเซลล์เซลลูโลส (Do Vale et al., 2014) และ Adorada et al. (2000) รายงานว่า เอนไซม์เพคติเนส ที่เชื้อรา *Trichoderma* สร้างขึ้นสามารถควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าสาเหตุเกิดจากเชื้อรา *Phytophthora infestans* ได้ เนื่องจากเชื้อรา *Trichoderma* สามารถสร้าง cellulose-degrading enzymes ปริมาณมากได้หลายประเภท

ที่มีผลในการยับยั้งเชื้อราก่อโรคพืช (Do Vale et al., 2014) นอกจากนี้ Vinale et al. (2014) รายงานในทางเดียวกันว่า เชื้อรา *Trichoderma* สามารถสร้างสารทุติยภูมิที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืชได้ ดังนั้น งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อคัดเลือกเชื้อรา *Trichoderma* ที่มีประสิทธิภาพในการสร้างเอนไซม์ย่อยสลายเซลลูโลส เพคติเนส และอะไมเลส เพื่อนำมาใช้ทดแทนการใช้สารเคมีในการป้องกันกำจัดโรคพืชต่อไปในอนาคต

## อุปกรณ์และวิธีการ

### 1. การเตรียมเชื้อรา *Trichoderma*

นำเชื้อรา *Trichoderma* จาก culture collections ของกรมวิชาการเกษตร ที่แยกเชื้อได้จากตัวอย่างดินและวัสดุเพาะเห็ดจาก จ. กาญจนบุรี จ. ราชบุรี จ. สุพรรณบุรี และ จ. นครปฐม (ทัศนพร และคณะ, 2550) จำนวน 29 ไอโซเลท นำมาเลี้ยงเพิ่มขยายในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar (PDA) ตามวิธีการของ จีระเดช และวรรณวิไล (2542) โดยนำเส้นใยเชื้อราบริสุทธิ์มาเลี้ยงให้เจริญบนอาหาร PDA จากนั้น นำเชื้อไปแยกเก็บบนอาหารเลี้ยงในหลอดทดลอง เพื่อเก็บรักษาเป็นเชื้อตั้งต้น (stock culture) ที่อุณหภูมิ 4° ซ. สำหรับนำไปใช้ในทดสอบการสร้างเอนไซม์ย่อยสลายเซลลูโลส เพคติเนส และอะไมเลส บนอาหารจำเพาะ (selective media) ต่อไป

### 2. การทดสอบความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยสลายของเชื้อรา *Trichoderma* ด้วยวิธี zone clearing technique

#### 2.1 ทดสอบการสร้างเอนไซม์เซลลูโลส

ทดสอบความสามารถของเชื้อรา *Trichoderma* จำนวน 29 ไอโซเลท ในการสร้างเอนไซม์เซลลูโลส บนอาหารจำเพาะ carboxymethyl cellulose (CMC) โดยใช้ cork borer เจาะชิ้นวุ้นเชื้อราบนจานอาหาร PDA ที่มีการเจริญของเส้นใยแล้วนำชิ้นวุ้นที่เจาะไปวางบนตำแหน่งกลางจานเลี้ยงเชื้อที่มีอาหาร CMC บ่มที่อุณหภูมิ 30° ซ. เป็นเวลา 72 ชม. จากนั้น เติมน้ำละลาย 1% congo red ปริมาตร 10 มล. ให้ท่วมหน้าผิวหน้าอาหารและโคลนเชื้อราเป็นเวลา 15 นาที แล้วเทออก และล้างด้วยน้ำกลั่น จากนั้น เติมน้ำละลาย 1M NaCl ปริมาตร 10 มล. เป็นเวลา 15 นาที บันทึกผลโดยวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณวงใสรอบโคลนเชื้อราและขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโคลนเชื้อรา เพื่อคำนวณอัตราส่วนขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณวงใสรอบโคลนเชื้อราต่อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโคลนเชื้อรา (hydrolysis capacity value, HC value) ตามสูตรการคำนวณของ Taechapoempol et al. (2011)

HC value =  $\frac{\text{เส้นผ่านศูนย์กลางของการเกิดบริเวณวงใส}}{\text{เส้นผ่านศูนย์กลางของโคลนเชื้อรา}}$

บันทึกค่าคะแนนอัตราส่วนเส้นผ่านศูนย์กลางวงใส (clear zone) และโคลนเชื้อรา ตามวิธีการของ Xu and Yang (2010) และจัดระดับการสร้างเอนไซม์ ดังนี้

- 0 ; ไม่มีการสร้างเอนไซม์
- <1.00; มีการสร้างเอนไซม์น้อย
- 1.01-2.00; มีการสร้างเอนไซม์ปานกลาง
- 2.01-3.00; มีการสร้างเอนไซม์มาก
- >3.01 ขึ้นไป; มีการสร้างเอนไซม์มากที่สุด

#### 2.2 ทดสอบการสร้างเอนไซม์เพคติเนส

ทดสอบการสร้างเอนไซม์เพคติเนสบนอาหารจำเพาะ Czapek-Dox agar +1% เพคติน

ตามวิธีการของ Phutela et al. (2005) โดยใช้ cork borer เจาะขึ้นรูบบนจานอาหารวุ้น PDA ที่มีการเจริญของเส้นใยของเชื้อรา *Trichoderma* แต่ละไอโซเลท นำขึ้นรูบบนที่เจาะไปวางบนตำแหน่งกลางจานเลี้ยงเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 30° ซ. เป็นเวลา 72 ชม. จากนั้น เติมสารละลาย iodine-potassium iodide ในน้ำกลั่นปลอดเชื้อปริมาตร 330 มล. วัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของการเกิดบริเวณใสรอบโคโลนีและเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนี คำนวณค่า HC value ตามสูตรเช่นเดียวกับข้อ 2.1

### 2.3 ทดสอบการสร้างเอนไซม์อะไมเลส

ทดสอบการสร้างเอนไซม์อะไมเลสบนอาหาร starch agar ตามวิธีการของ เพชรลดา และ กำไล (2556) โดยใช้ cork borer เจาะขึ้นรูบบนจานอาหาร PDA ที่มีการเจริญของเส้นใยของเชื้อรา *Trichoderma* แต่ละไอโซเลท วางบนตำแหน่งกลางจานเลี้ยงเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 30° ซ. เป็นเวลา 72 ชม. จากนั้น เติมสารละลาย 3% iodine (w/v) เป็นเวลา 15 นาที จึงเทออก ล้างจานอาหารเลี้ยงเชื้อด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ จากนั้น เติมสารละลาย 1M NaCl ปริมาตร 10 มล. เป็นเวลา 15 นาที วัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของการเกิดบริเวณใสรอบโคโลนีและเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนี คำนวณค่า HC value ตามสูตรเช่นเดียวกับข้อ 2.1

### 3. การวิเคราะห์ชนิดของเชื้อรา *Trichoderma* ระดับสปีชีส์โดยการหาลำดับเบสบริเวณ ITS

เพาะเลี้ยงเชื้อรา *Trichoderma* ไอโซเลท T1-T17 และ ไอโซเลท T22 บนจานอาหารวุ้น PDA เพื่อใช้ในการวิเคราะห์ระดับสปีชีส์ โดยการหาลำดับเบสตำแหน่ง internal transcribed spacer (ITS)

โดยใช้คู่ไพรเมอร์ ITS5 5' (TCC GTA GGT GAA CCT GCG G) 3' และ ITS4 5' (TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC) 3' โดยส่งตัวอย่างเชื้อราไปยัง Macrogen company (Korea) เพื่อทำการหาลำดับเบส แล้วทำการเปรียบเทียบผลลำดับเบสที่ได้กับลำดับเบสที่ปรากฏในฐานข้อมูล GenBank ด้วยการโปรแกรม BLAST

## ผลการทดลองและวิจารณ์

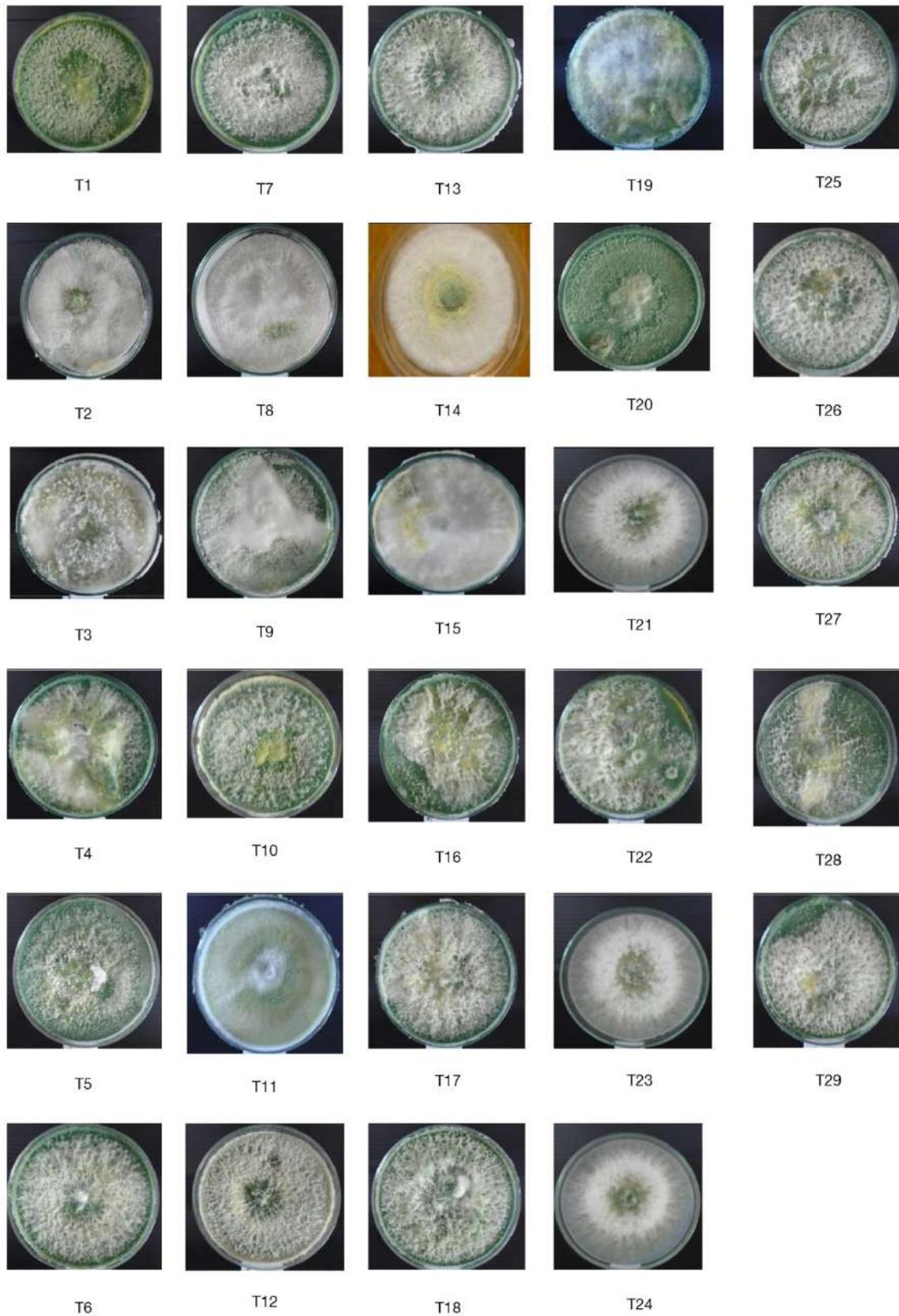
### 1. ลักษณะโคโลนีเชื้อรา *Trichoderma* ที่ใช้ในการทดลอง

เชื้อรา *Trichoderma* จาก culture collections จำนวน 29 ไอโซเลท สามารถเจริญเติบโตบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่อุณหภูมิ 28° ซ. เป็นเวลา 7 วัน เชื้อแต่ละไอโซเลทมีลักษณะโคโลนีและลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่แตกต่างกัน (Figure 1)

### 2. การสร้างเอนไซม์เซลลูเลส เพคตินเนส และอะไมเลสของเชื้อรา *Trichoderma*

#### 2.1 เอนไซม์เซลลูเลส

เชื้อรา *Trichoderma* สามารถเจริญได้ดีในอาหารที่ประกอบด้วย carboxymethyl cellulose (CMC) ที่เป็นแหล่งคาร์บอนและสามารถสร้างเอนไซม์เซลลูเลสได้ดี *Trichoderma* จำนวน 5 จาก 29 ไอโซเลท ให้ค่า HC สูง ได้แก่ T-14, T-18, T-24, T-13, T-17 และ T-23 โดยมีค่า HC 7.13 6.40 6.40 6.13 5.93 และ 5.87 ชม. ตามลำดับ (Table 1) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ พิมพ์ชนา และคณะ (2559) ที่รายงานว่า เชื้อรา *Trichoderma harzainum* และ *T. Inhamatum* สามารถสร้างเอนไซม์เซลลูเลสได้ในปริมาณสูง



**Figure 1** Morphology of *Trichoderma asperellum* colony of 29 isolates (TC-1 to TC-29) on PDA agar after 7 days incubation at 28°C

**Table 1** Production in terms of hydrolysis capacity value (HC value) of cellulase, pectinase and amylase enzymes by 29 *Trichoderma* isolates on CMC, Czapek-Dox agar and starch-agar media

<i>Trichoderma</i> Isolate	HC value (cm.)		
	Cellulase	Pectinase	Amylase
T-1	2.23 fgh <sup>1/</sup>	<b>7.73 a</b> <sup>1/</sup>	2.33 ghi <sup>1/</sup>
T-2	2.36 hi	6.40 abc	2.67 e-i
T-3	4.10 efg	5.60 bc	3.10 d-h
T-4	1.90 ghi	6.70 ab	2.67 e-i
T-5	1.30 i	1.35 e	2.40 f-i
T-6	2.23 hi	6.67 ab	2.83 d-h
T-7	1.83 hi	6.67 ab	2.33 ghi
T-8	2.83 ghi	6.50 abc	2.60 e-i
T-9	4.60 c-f	1.35 e	1.82 hi
T-10	1.87 hi	5.27 cd	2.33 ghi
T-11	4.97 b-f	4.00 d	3.90 a-e
T-12	5.77 a-e	6.53 abc	3.07 d-h
T-13	6.13 abc	6.17 bc	3.50 b-g
T-14	<b>7.13 a</b>	6.50 abc	1.25 i
T-15	5.23 b-e	4.00 d	1.83 hi
T-16	5.43 b-e	5.40 bc	3.33 c-g
T-17	5.93 a-d	5.67 bc	4.87 ab
T-18	6.40 ab	1.35 e	4.70 abc
T-19	4.33 d-g	1.35 e	2.67 e-i
T-20	4.83 b-f	4.00 d	4.17 a-d
T-21	4.90 b-f	5.83 bc	4.67 abc
T-22	5.77 a-e	6.27 bc	<b>5.00 a</b>
T-23	5.87 a-d	6.60 abc	3.50 b-g
T-24	6.40 ab	6.63 abc	4.83 ab
T-25	5.73 a-e	6.37 bc	4.93 a
T-26	5.00 b-f	6.50 abc	4.10 a-d
T-27	2.40 hi	6.67 ab	4.93 a
T-28	5.80 a-e	6.17 bc	4.13 a-d
T-29	5.17 b-e	6.70 ab	3.77 a-f

<sup>1/</sup> Means in the same column, followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT

**Note:** T-1, T-14 and T-22 are *Trichoderma asperellum*

## 2.2 เอนไซม์เพคตินเนส

เชื้อราสามารถเจริญได้ในอาหารที่ประกอบด้วยเพคตินเป็นแหล่งคาร์บอนและมีการสร้างเอนไซม์เพคตินเนส จากการศึกษาพบว่าเชื้อรา *Trichoderma* ที่ให้ผลการเกิดวงใสรอบโคโลนี มากที่สุด 5 อันดับ ได้แก่ T-1, T-23, T-27 และ T-29 และ มีค่า HC 7.73 6.60 6.67 และ 6.70 ซม. ตามลำดับ (Table 1) เพชรลดา และ กำไล (2556) รายงานว่า การสร้างเอนไซม์สังเกตุได้จากวงใสรอบโคโลนีเมื่อทดสอบด้วยสีย้อมสารละลาย iodine-potassium iodide เนื่องจาก เชื้อราสร้างเอนไซม์มาย่อยเพคตินบริเวณรอบโคโลนีจึงไม่ติดสีย้อม Adorada et al. (2000) รายงานว่า เอนไซม์เพคตินเนส สามารถควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าสาเหตุเกิดจากเชื้อรา *Phytophthora infestans*

## 2.3 เอนไซม์อะไมเลส

การสร้างเอนไซม์อะไมเลส เชื้อราสามารถเจริญได้ในอาหารที่ประกอบด้วยแป้ง (starch) เป็นแหล่งคาร์บอน และมีการสร้างเอนไซม์อะไมเลส เชื้อรา *Trichoderma* ที่ให้ผลการเกิดวงใสรอบโคโลนี มากที่สุด 5 อันดับ ได้แก่ T-22, T-27, T-25, T-17 และ T24 ที่ค่า HC 5.00 4.93 4.93 4.87 และ 4.83 ซม. ตามลำดับ (Table 1) ซึ่งสังเกตุได้จากวงใสรอบโคโลนีเมื่อทดสอบด้วยสารละลาย 3% ไอโอดีน เชื้อราสร้างเอนไซม์มาย่อยแป้ง แต่บริเวณรอบโคโลนีจะไม่ติดสีย้อมไอโอดีน (เพชรลดา และ กำไล, 2556)

## 6. การวิเคราะห์ *Trichoderma* ในระดับสปีชีส์

การวิเคราะห์ลักษณะทางพันธุกรรมของเชื้อรา *Trichoderma* จำนวน 18 ไอโซเลท ได้แก่ ไอโซเลท T1-T17 และไอโซเลท T22 ถึงระดับสปีชีส์ด้วยการหาลำดับเบสบริเวณ ITS โดยใช้คู่

ไพรเมอร์ ITS4 5' (TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC) 3' และ ITS5 5' (TCC GTA GGT GAA CCT GCG G) 3' และเปรียบเทียบผลการหาลำดับเบสด้วยโปรแกรม BLAST พบว่า สปีชีส์ของเชื้อรา *Trichoderma* ไอโซเลท T-1, T-14 และ T-22 มีความเหมือนกับ *Trichoderma asperellum* Samuels, Lieckf & Nirenberg ที่ระดับความเหมือน 100 99 และ 99% ที่ค่าทางสถิติ E-value เท่ากับ 0.0 ดังนั้น *Trichoderma* ไอโซเลท T-1, T-14 และ T-22 คือ *Trichoderma asperellum* Wu et al. (2017) รายงานว่า เชื้อราสายพันธุ์ใหม่ *Trichoderma asperellum* GDFS1009 เป็นจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพและมีคุณสมบัติต่อการเป็นปรสิตต่อเชื้อราสาเหตุโรคพืช เช่น โรคเหี่ยวในแตงกวา และโรคฝักและเมล็ดข้าวโพดเน่าที่เกิดจากเชื้อ *Fusarium oxysporum* f. sp. *Cucumerinum* Owen เช่นเดียวกับการศึกษาการใช้ *Trichoderma asperellum* ในการควบคุมโรคเน่าดำในกล้วยไม้ ซึ่งมีสาเหตุจากเชื้อสาเหตุ *Phytophthora palmivora* (Butl.) Butl. (กัญชลิทา และคณะ, 2562)

## สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาประสิทธิภาพของการสร้างเอนไซม์ย่อยสลายเซลลูเลส เพคตินเนส และอะไมเลสของรา *Trichoderma* sp. จำนวน 29 ไอโซเลท ด้วยวิธี zone clearing technique พบว่า รา *Trichoderma* ไอโซเลท T-1, T-14 และ T-22 มี HC value เฉลี่ยสูงสุดของเอนไซม์เซลลูเลส เพคตินเนส และอะไมเลส 7.13 7.73 และ 5.00 ตามลำดับ และจากการวิเคราะห์ระดับสปีชีส์ พบว่า *Trichoderma* ไอโซเลท T-1, T-14 และ T-22 คือ *Trichoderma asperellum* โดยไอโซเลท T-1 และ T-14 ที่แยกได้จากดิน ส่วนไอโซเลท T-22 แยกได้จากวัสดุเพาะเห็ด ซึ่งสามารถ

นำไปขยายผลในการผลิตเอ็นไซม์เพื่อนำไปใช้ในการควบคุมโรคพืชต่อไปได้

## คำขอบคุณ

ขอขอบคุณนายไกรสร ตาวงศ์ นักวิชาการสถิติ กองแผนงานและวิชาการ กรมวิชาการเกษตร ที่ให้ความอนุเคราะห์วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ และนายอนุชา สุขสังวาลย์ นักวิชาการเกษตร กลุ่มวิจัยเทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตร ที่ให้ความช่วยเหลือจัดเตรียมอุปกรณ์ เครื่องมือและสารเคมีในงานทดลอง และเก็บบันทึกข้อมูล

## เอกสารอ้างอิง

กัญชวลิกา รัตนเชิดฉาย ทวีทรัพย์ ไชยรักษ์ และณัฐรัชชัย จันทขุม. 2562. การทดสอบใช้เชื้อราและสารสกัดจากเชื้อรา *Trichoderma asperellum* ในการต่อต้านเชื้อสาเหตุโรคเน่าดำของกล้วยไม้. วารสารเกษตรพระวรุณ. 16(1): 204-211.

จิระเดช แจ่มสว่าง และวรรณวิไล อินทนู. 2542. การใช้เชื้อราไตรโคเดอร์มาควบคุมโรคพืช. โครงการเกษตรสู่ชาติมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ภาควิชาโรคพืช วิทยาเขตกำแพงแสน นครปฐม. 90 หน้า.

ทัศนพร ทัศนกร อภิรัชต์ สมฤทธิ์ และธารทิพย์ ภาสบุตร. 2550. ศึกษาผลการใช้วัสดุเพาะเห็ดร่วมกับเชื้อรา *Trichoderma* spp. ในการป้องกันกำจัดโรคลำต้นไหม้หน่อไม้ฝรั่ง. หน้า 366-378. ใน: รายงานผลวิจัยประจำปี 2550 เล่มที่ 1. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. กรุงเทพฯ.

พิมพ์ชนา วงศ์พิศาล พรศิลป์ สีเผือก ชัยสิทธิ์ ปรีชา และ วุฒิชัย สีเผือก. 2559. การคัดเลือกเชื้อราที่ผลิตเอนไซม์เซลลูเลสและไซแลนเนสจากซากใบปาล์มน้ำมัน (*Elaeis guineensis* Jacq.). แก่นเกษตร. 44(พิเศษ 1): 948-952.

เพชรลดา ปั่นหยา และกำไล เลหาพัฒนาเลิศ. 2556. การคัดกรองและคัดแยกจุลินทรีย์ที่สร้างเอนไซม์เซลลูเลสอะไมเลส และเพคติเนสจากกากมันสำปะหลังสด. หน้า 175-180. ใน: การประชุมวิชาการมหาวิทยาลัยรังสิต ประจำปี 2556.

Adorada, D. L. , C. L. Biles, C. M. Liddell, S. Fernandez-Pavia, K. O. Waugh and M. E. Waugh. 2000. Disease development and enhanced susceptibility of wounded pepper roots to *Phytophthora capsici*. Plant Pathology. 49: 719-726.

Bech, L., P.K. Busk and L. Lange. 2015. Cell wall degrading enzymes in *Trichoderma asperellum* grown on wheat bran. Fungal Genomics and Biology. 4(1):1-10.

Do Vale, L.H.F., E.X.F. Filho, R.N.G. Miller, C.A.O. Ricart, M.V. de Sousa, V.K. Gubta, M. Schmoll, A. Herrera-Estrella, R.S. Upadhyay, I. Druzhinina and M.G. Tuohy. 2014. Cellulase systems in *Trichoderma*: An Overview. pp. 299-244. In: Biotechnology and Biology of *Trichoderma*. Elsevier. Amsterdam.

Engelberth, J., E.A. Schmelz, H.T. Alborn, Y.J. Cardoza, J. Huang and J.H. Tumlinson. 2003. Simultaneous quantification of jasmonic acid and salicylic acid in plants by vapor-phase extraction and gas chromatography-chemical ionization-mass spectrometry. Analytical Biochemistry. 312: 242-250.

Gajera, H.P. and D.N. Vakharia. 2012. Production of lytic enzymes by *Trichoderma* isolates during in vitro antagonism with *Aspergillus Niger*, the causal agent of collar rot of peanut. Brazilian Journal of Microbiology. 43(1): 43-52.

- Phutela, U., V. Dhuna, S. Sandhu and B.S. Chadha. 2005. Pectinase and polygalacturonase production by a thermophilic *Aspergillus fumigatus* isolated from decomposing orange peels. *Brazilian Journal of Microbiology*. 36: 63-69.
- Taechapoempol, K., T. Sreethawong, P. Rangsunvigit, W. Namprohm, B. Thamprajamchit, S. Rengpipat and S. Chavadej. 2011. Cellulase-producing bacteria from Thai higher termites, *Microcerotermes* sp.: enzymatic activities and ionic liquid tolerance. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 164(2): 204-19.
- Vinale, F., K. Sivasithamparum, E.L. Ghisalbert, R. Marra, S.L. Woo and M. Lorito. 2014. *Trichoderma* secondary metabolites active on plants and fungal pathogens. *The Open Mycology Journal*. 8 (Suppl-1, M5): 127-139.
- Wu, Q., R. Sun, M. Ni, J. Yu, Y. Li, C. Yu, K. Dou, J. Ren and J. Chen. 2017. Identification of a novel fungus, *Trichoderma asperellum* GDFS1009, and comprehensive evaluation of its biocontrol efficacy. *PloS One*. 12(6): e0179957.
- Xu, J., and Q. Yang. 2010. Isolation and characterization of rice straw degrading *Streptomyces griseorubens* C5. *Biodegradation*. 21(1): 107-116.