รายงานการวิจัย

เรื่อง

การผลิตเอนไซม์โปรติเอสและไคติเนสจากเชื้อราเพื่อใช้ประโยชน์ในการควบคุมทางชีวภาพ

Production of protease and chitinase from fungi for biocontrol

...ารี ฤทธิบูรณ์

ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากเงินงบประมาณแผ่นดิน ประจำปี

งบประมาณ 2551

คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหาร ลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

บทคัดย่อ

โครงการพิเศษนี้เป็นการศึกษาการคัดเลือกเชื้อราที่สามารถผลิตเอนไซม์ไคติเนสและโปรติเอส โดยใช้อาหาร CD-medium ที่มีคอลลอยไคติน และหางนม เป็นแหล่งคาร์บอนและแหล่งไนโตรเจน ตามลำดับ ในจำนวนเชื้อราที่แยกได้ทั้งหมด 12 ไอโซเลต พบว่ามีเชื้อรา 11 ไอโซเลต ที่สามารถผลิตเอนไซม์ไคติเนสและโปรติเอสได้ คือ M 24404, C 22301, C 21405, C 18402, M 14303, C 15304, C-14507, *Chaetomium globosum* TISTR 3093 และ *Acremonium* TISTR 3283 หลังจากนั้นนำเชื้อราทั้ง 11 ไอโซเลตนี้มาใช้เป็นตัวแทนของเชื้อปฏิปักษ์ มาศึกษาปฏิสัมพันธ์กับเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนพืชที่เป็นโรค 30 ไอโซเลต และสายพันธุ์อ้างอิง ซึ่งใช้เป็นตัวแทนก่อโรคพืช 2 สายพันธุ์ พบว่าเชื้อรา C 22301, C 18402, M 14303, C 15304, C 14507 และ *Chaetomium globosum* TISTR 3093 สามารถยับยั้งเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนพืชที่เป็นโรค แบบทำลายชีวิตโดยสร้างบริเวณยับยั้ง และ เชื้อ M 24404, C 21405 และ *Acremonium* TISTR 3283 สามารถยับยั้งเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนพืชที่เป็นโรค ทั้งแบบแข่งขันและทำลายชีวิต

Abstract

This special project was performed by selection of chitinase and protease producing fungi isolated from soil using CD-medium with colloidal chitin and skim milk as the carbon source and nitrogen source, Among 12 isolates of fungi, there were 11 isolates able to produce chitinase and protease. These fungal isolates were M 24404, C 22301, C 21405, C 18402, M 14303, C 15304, C 14507, *Chaetomium globosum* TISTR 3093 and *Acremonium* TISTR 3283. These 11 isolates of fungi were then used as representative of antagonists and tested for biological controlling of 30 isolates plant pathogens and 2 reference strains of plant pathogens. The results showed that the fungal isolates C 22301, C 18402, M 14303, C 15304, C 14507 and *Chaetomium globosum* TISTR 3093 could inhibit the growth of the plant pathogens by antibiosis, and the isolates M 24404, C 21405 and *Acremonium* TISTR 3283 could inhibit the growth of the plant pathogens by competition and antibiosis.

RCH
QP
609
.P48
ว658ก
ฉ.2

ตจหมู่.....
เลขทะเบียน.115536
วัน,เดือน,ปี.21 ธ.ค. 2554

b.12312282...
i.....

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากงบประมาณประจำปี 2551 ของคณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง และศักยภาพของการทำงานวิจัยที่ได้รับจากสาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ทั้งด้านสาธารณูประโภค เครื่องมือ และอุปกรณ์ จึงขอกราบขอบพระคุณไว้ ณ ที่นี้

นอกจากนี้ดิฉันขอขอบพระคุณผู้ช่วยวิจัย นางสาวลักษณ์ชา วิไลลักษณ์ ที่อุทิศกำลังกาย กำลังใจ และเวลาที่ให้ในการทำงานวิจัยให้ประสบความสำเร็จ

รศ. อารี ฤทธิบูรณ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า	
บทคัดย่อ	I
กิตติกรรมประกาศ	II
สารบัญ	III
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย	1
1.2 วัตถุประสงค์ของโครงงานวิจัย	2
1.3 ขอบเขตของโครงการวิจัย	2
1.4 ทฤษฎี สมมติฐานและกรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย	2
บทที่ 2 การทบทวนวรรณกรรม/สารสนเทศที่เกี่ยวข้อง	5
บทที่ 3 การทดลองและวิธีการ	11
บทที่ 4 ผลการทดลองและอภิปรายผล	17
บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง	60
บทที่ 6 เอกสารอ้างอิง	61

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

1.1 ความสำคัญ และที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย

ในโลกนี้จะมีไคตินซึ่งเป็นพอลิแซคคาไรด์ที่มีมากเป็นอันดับสองรองลงมาจากเซลลูโลส โคตินเป็นสายยาวของ 2 – acetamido – 2 – deoxy - β - D – glucan ซึ่งสาร N – acetyl – glucosamine ต่อกันด้วยพันธะ β - 1, 4 glucosidic (Berkely, 1979) ไคตินมีคุณสมบัติไม่ละลายน้ำและตัวทำลายอินทรีย์ (Hirano, 1996) เป็นสารที่พบมากในส่วนผนังเซลล์ของเชื้อรา และเป็นโครงสร้างภายนอกของแมลง กุ้ง และปู

เอนไซม์ไคติเนสเป็นองค์ไซม์เชิงซ้อน (complex enzyme) ที่เร่งปฏิกิริยาการย่อยสลายด้วยน้ำ (hydrolysis) ของเส้นสายพอลเมอร์ของไคติน ประกอบด้วยเอ็กโซไคติเนส (exochitinase) โดยที่เอ็กโซไคติเนสจะย่อยได้สารโมเลกุลคู่ที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำและละลายได้ เอ็นโดไคติเนสจะย่อยได้สายพอลิเมอร์ของเอ็น-อะซิติล-กลูโคซามีนสายสั้นๆ และไคโตไบเอสย่อยไคโตไบโอส (chitobiose) ได้เอ็น-อะซิติล-กลูโคซามีน (Vyas and Deshpande, 1989)

เอนไซม์ไคติเนสสามารถผลิตได้จากจุลินทรีย์หลายชนิดทั้งแบคทีเรีย รา สาหร่าย พืชชั้นสูง แมลง และกลุ่มสัตว์น้ำที่มีโครงสร้างภายนอกแข็ง (crustaceans) (de Siqueira Pinto, et., 1997) การผลิตเอนไซม์ไคติเนสจากจุลินทรีย์จะเป็นการเปลี่ยนแปลงทางชีวภาพของวัสดุเหลือทิ้งจากสัตวน้ำที่มีไคตินเป็นองค์ประกอบ สามารถผลิตเป็นโปรตีนเซลล์เดียวสำหรับเป็นอาหารของสัตว์บกและสัตว์น้ำหรือผลิตเอนไซม์ไคติเนส และยังมีการใช้ประโยชน์เอนไซม์ไคติเนสในการแยกโปรโตพลาสต์จากเชื้อรา (Peberdy, 1985) ใช้ในการเตรียมไคโอ-โอลิโคแซคคาไรด์ (bioactive chio-oligosacchasides) (Murao; et. al., 1992) และเอนไซม์ไคติเนสมีบทบาทอย่างมากในการควบคุมทางชีวภาพของเชื้อราที่ก่อโรคในพืช (Oppenheim and Chet, 1992) หรือแมลงศัตรูพืช (de Siqueira Pinto, et. al., 1997) รวมทั้งใช้ในการย่อยของเสียที่มีไคตินเป็นองค์ประกอบ (carroad and Tom, 1978) แต่ยังมีการผลิตหรือใช้ในระดับทางการค้าน้อยมาก เนื่องมาจากเอนไซม์ที่ผลิตขายเป็นทางการค้ามีราคาแพง (Suresh and Chandrasekaran, 1999)

ประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรมและการเกษตรสมัยใหม่มีการใช้สารเคมีในการฆ่าเชื้อราเพื่อควบคุมโรคพืช ยาฆ่าเชื้อราเมื่อใช้ไปนานๆ จะทำให้เชื้อราที่ก่อโรคพืชต้านยาทำให้ต้องใช้ในปริมาณที่มากขึ้น (Fraser, 1994; Goldman, et. al., 1994) ซึ่งวิธีนี้จะใช้เวลามาก สิ้นเปลือง เกิดมลพิษทางอากาศและมีผลเสียต่อสิ่งแวดล้อมเมื่อมีสารเคมีตกค้างในดิน (Nannipieri, 1994) ปัญหาการหลงเหลือของยาฆ่าแมลงและการขาดสารที่ใช้ควบคุมเชื้อโรคทางการเกษตรที่เหมาะสม จึงเป็นที่สนใจในการพัฒนาการควบคุมโรคทางชีวภาพเป็นทางการค้า

งานวิจัยนี้จึงได้นำเอาวัสดุเหลือทิ้งทางอุตสาหกรรมสัตว์น้ำมาเป็นสับเสตรทสำหรับการเพาะเลี้ยงเชื้อราที่เก็บรักษาตามหน่วยงานเก็บรักษาสายพันธุ์เชื้อในประเทศไทยและเชื้อราที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แยกจากสภาพธรรมชาติเพื่อการผลิตไคติเนสและโปรติเอส ซึ่งเป็นแนวทางการใช้ประโยชน์วัสดุเหลือทิ้งเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีมูลค่ามากขึ้นและนำเอนไซม์ไคติเนสที่ผลิตได้ไปประยุกต์ใช้กับเชื้อที่ก่อโรคในพืช เพื่อศึกษาแนวทาง ความเป็นไปได้ในการควบคุมทางชีวภาพแทนการใช้สารเคมีของเกษตรกร หรือการนำเข้าสารควบคุมชีวภาพจากต่างประเทศ

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1. คัดเลือกเชื้อราจากดินที่สามารถสร้างวงใสรอบโคโลนีในสภาพอาหารแข็งที่มีไคตินและโปรตีนเป็นแหล่งคาร์บอน
2. ศึกษาการผลิตเอนไซม์ไคติเนสและโปรติเอสในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีไคตินและโปรตีนเป็นแหล่งคาร์บอนในสภาวะอาหารเหลว จากสายพันธุ์เชื้อราที่เก็บรักษาตามหน่วยงานต่างๆ ในประเทศไทยและเชื้อราจากที่แยกได้จากดินคัดเลือกสายพันธุ์เชื้อราที่สามารถผลิตเอนไซม์ไคติเนสและเอนไซม์โปรติเอสได้
3. นำเชื้อราที่สามารถผลิตเอนไซม์ไคติเนสและโปรติเอสได้ มาประยุกต์ใช้ในการควบคุมทางชีวภาพกับเชื้อโรคที่ก่อโรคในพืชที่ได้จากการแยกจากพืชเศรษฐกิจจำพวกพืชผักและไม้ผลที่เป็นโรค และเชื้อก่อโรคในพืชจากแหล่งเก็บรักษาเชื้อตามสถาบันต่างๆ ในประเทศไทย

1.3 ขอบเขตของโครงการวิจัย

เก็บตัวอย่างวัตถุดิบที่ใช้ในการทดลอง คือเปลือกปู เปลือกกุ้ง หรือแกนปลาหมึกจากโรงงานแปรรูปปูหรือแพปลานำมาล้างทำความสะอาด อบแห้ง และทำการบดเพื่อนำมาใช้เป็นแหล่งคาร์บอน โดยทำการแยกส่วนของ $CaCO_3$ โดยการแช่ในกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 1 – 2 โมลาร์ เป็นเวลา 1 – 2 วัน (Knorr, 1984) นำแหล่งคาร์บอนที่เตรียมได้ ซึ่งประกอบด้วยไคตินและโปรตีนไปใช้ในการเลี้ยงเชื้อเพื่อการแยกเชื้อจากดินและจากหน่วยงานที่เก็บรักษาเชื้อพันธุ์จุลินทรีย์ในสภาพอาหารแข็ง เก็บคัดเลือกเชื้อที่ให้วงใสรอบโคโลนีในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีไคตินและโปรตีนเป็นองค์ประกอบ เปรียบเทียบกับสายพันธุ์อ้างอิง (reference stain) คือ สายพันธ์ที่ใช้ในการควบคุมทางชีวภาพทางการค้าที่มีการสร้างเอนไซม์ คือ *Trichoderma harzianum* หรือ *Acremonium obclavatum* ที่มีการสร้างเอนไซม์ไคติเนสและโปรติเอส ทำการคัดเลือกเชื้อที่ให้วงใสรอบโคโลนีมาทำการเลี้ยงเชื้อในสภาวะอาหารเหลว และทำการวัดกิจกรรมของเอนไซม์ไคติเนส (Barranco-Florido, et. al., 2002) และโปรติเอส (Wong and Hessentine, 1965) จากนั้นนำเชื้อราที่ผลิตเอนไซม์ไคติเนสและโปรติเอสได้ไปทดสอบการยับยั้งกับเชื้อโรคพืช (เชื้อราก่อโรคพืชเศรษฐกิจจำพวกพืชผักหรือไม้ผล) รวมทั้งเชื้อราก่อโรคพืชที่เก็บรักษาอยู่ในสถาบันต่างๆ ของประเทศไทยทำการวัดผลของการยับยั้งโดยวิธี cylinder plate techniques (http : www.grad.cmu.ac.th/ abstract/1999/sci/abstract/sci990062.html)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.4 ทฤษฎี สมมติฐาน (ถ้ามี) และกรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย

บทบาทหลักของเอนไซม์ไคติเนสจากเชื้อรา คือทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของจุลินทรีย์ที่มีไคตินเป็นองค์ประกอบ (Gooday, 1990; Sahai and Monocha, 1993) และเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคกับแมลงศัตรูพืชจะมีผลต่อเปลือกแข็งภายนอกของแมลงที่เกิดขึ้นจากแรงดันทางกล (mechanical pressue) และการย่อยสลายโดยเอนไซม์ (St. Leger, et. al., 1986) ซึ่งอาจจะใช้ในรูปของสปอร์หรือไมซีเลียมของเชื้อราที่เป็นตัวก่อโรคก็ได้ (Piereira and Roberts, 1990)

การใช้วิธีการควบคุมทางชีวภาพเชื้อราที่ก่อโรคจะใช้จุลินทรีย์ที่เป็นปรปักษ์ (antagonistic) ซึ่งอาจเกิดขึ้นในลักษณะของยาปฏิชีวนะ (antibiotics) การแข่งขัน (competition) การกินเป็นอาหาร (predation) หรือการก่อโรค (pathogen) (Park, 1960) การก่อโรคจะเกี่ยวกับการสร้างเอนไซม์ออกมาย่อยผนังเซลล์ของเชื้อราก่อโรค (Elad, et. al., 1985) และใช้องค์ประกอบของผนังเซลล์เป็นที่ใช้จากการย่อยเป็นแหล่งอาหาร (http://www.ejbotechnology.info/content/vol4/issuel/fall/1/bip/) ซึ่งอาจจะเป็นปัจจัยสำคัญในการควบคุมทางชีวภาพ (Elad, et. al., 1982 ; Ordentlich, et al., 1988)

Trichoderma hazianum จะเป็นจุลินทรีย์ที่มีการศึกษากันอย่างกว้างขวางในการผลิตเอนไซม์ไคติเนสซึ่งได้เอนไซม์ที่สามารถทำงานได้ในสภาวะแวดล้อมแตกต่างกัน (Felse and Panda, 1999) และจะมีผลต่อเชื้อที่ก่อโรคในพืชได้อย่างกว้างขวาง (Tronsmo and Harman, 1992) และ Elad และคณะ (1982) พบว่าการมีเอนไซม์ย่อยผนังเซลล์ที่ปลดปล่อยออกมานอกเซลล์ (extrancellular enzyme) จะเป็นกลไกหลักที่ใช้ในการควบคุมทางชีวภาพโดยใช้เซลล์ของเชื้อราโดยตรงหรืออาจใช้วิธีการทางอ้อมคือใช้เอนไซม์ที่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์ (Ordentlich, et. al., 1988)

Gunaratna และ Balasubramaniam, 1994. ได้ทำการศึกษาการใช้เชื้อ *Acemonium obclavatum* เป็นเชื้อราที่ใช้ทำลายเชื้อ *Puccinia arachidis* ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคราสนิมในถั่วลิสง พบว่าน้ำเลี้ยงเชื้อ *A. obclavtum* จะยับยั้งการงอกของ uredospore และการงอกของ germ tube ของเชื้อโรค ซึ่งอาจจะเนื่องมาจาก secondary metabolites หรือการมีเอนไซม์ที่ทำให้เซลล์แตก (Jayapal Gowdu and Balasubramanian, 1993) วิธีการทดสอบกับเชื้อโรค คือเลี้ยงเชื้อบนใบถั่วลิสงที่ไม่ต้านทานโรค และนำ สปอร์ (10^5 เซลล์/มล.) บ่มในเอนไซม์ที่ตกตะกอนด้วยแอมโมเนียมซัลเฟต $(NH_4)_2SO_4$ เอนไซม์ไคติเนสที่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์ และบัฟเฟอร์ (เป็นตัวควบคุม) บ่มเป็นเวลา 4 ชั่วโมง ดูเปอร์เซ็นต์การงอกของสปอร์และความยาวของ germ tube จากกล้องจุลทรรศน์ จากนั้นนำสปอร์ที่ผ่านการทรีตด้วยเอนไซม์มาล้างด้วยน้ำกลั่นหลายๆ ครั้ง และนำไปบ่มในน้ำที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ จากการทดลองพบว่าเอนไซม์ไคติเนสยับยั้งการงอกของสปอร์ ขึ้นกับความเข้มข้นของเอนไซม์ สปอร์ที่ผ่านการทรีตด้วยเอนไซม์ที่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์จะไม่มีการงอก แต่เมื่อล้างน้ำกลั่น สปอร์ที่ทรีตด้วยเอนไซม์ที่ตกตะกอนด้วย

เอกสารนี้ใช้เพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ในการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แอมโมเนียมซัลเฟตกลับมางอกได้ใหม่ แต่มีการแตกของ germ tube เมื่อทรีต germ tube ด้วยเอนไซม์ไคติเนส

Suresh และ Chandrasekaran (1999) ได้ทำการผลิตเอนไซม์ไคติเนสโดยเชื้อราจากทะเล *Beauveria bassiana* ในสภาวะการเลี้ยงเชื้อด้วยอาหารแข็ง ทำการศึกษาผลของความชื้นเริ่มต้น อุณหภูมิที่ใช้ในการบ่ม พีเอชเริ่มต้น ผลของฟอสเฟตและขนาดอนุภาคของไคติน พบว่าการใช้รำข้าวสาลีต่อน้ำทะเลในอัตราส่วน 5 : 3 (น้ำหนัก/ปริมาตร) จะผลิตเอนไซม์ได้สูงสุด อุณหภูมิที่เหมาะสมในการผลิตเอนไซม์คือ 27 องศาเซลเซียส และมีการเติมฟอสเฟตในรูป K_2HPO_4 และ KH_2PO_4 การเติม K_2HPO_4 ในความเข้มข้นน้อยกว่า 5 เปอร์เซ็นต์ จะลดปริมาณการผลิตเอนไซม์ การเติม K_2HPO_4 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ 5 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตร/ปริมาตร) จะเพิ่มการผลิตไคติเนส และจากการศึกษาผลของขนาดอนุภาคของไคติน พบว่าขนาดอนุภาคน้อยกว่า 425 ไมครอนจะสามารถผลิตเอนไซม์ได้สูงสุด

Tweddell และคณะ (1988) ได้ทำการศึกษาการผลิตเอนไซม์ไคติเนสและบตา 1, 3-กลูคาเนส (β - 1, 3 – Glucanases) โดยเชื้อ *Stachybotrys elegans* ซึ่งเป็นเชื้อโรคใน *Rhizotonia solani* ทำการศึกษาแหล่งคาร์บอน แหล่งไนโตรเจน ผลของความชื้นเริ่มต้นที่มีผลต่อการผลิตเอนไซม์ไคติเนสและเบตา-1, 3-กลูคาเนส พบว่าเอนไซม์ไคติเนสผลิตได้สูงมากในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีไคตินเป็นองค์ประกอบ ส่วนแหล่งของไนโตรเจน พบว่าโซเดียมไนเตรด มีผลให้ผลผลิตเอนไซม์ทั้งสองเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ และผลิตได้มากที่สุดที่พีเอชเริ่มต้น เท่ากับ 5.0

Gomes และคณะ (2000) ได้ศึกษา antifungal assay โดยการใช้อาหารที่มีไคตินในสภาวะอาหารเหลวที่มีคอลลอยดอลไคติน (colloidal chitin) และไมซีเลียมของเชื้อราจาก *Aspergillus parasiticus* (อัตราส่วน 1 : 3) เพื่อใช้ในการเตรียมสารสกัด (crude extract) จากนั้นบ่มให้แต่ละสายพันธุ์เจริญที่ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน ที่ความเร็วรอบ 250 รอบ/นาที จากนั้นกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 นำมาปั่นเหวี่ยงที่ 4 องศาเซลเซียส 10,000 g เป็นเวลา 20 นาที ทำให้บริสุทธิ์ด้วยการกรองด้วยตัวกรองขนาด 0.22 ไมครอน และนำสารสกัดไปทดสอบยับยั้งเชื้อราที่ก่อโรคในพืช (*Fusarium solani, F. sp., Aspergillus parasiticus, F. graminearum, Collectrichum gloesporioides.* และ *F. oxisporum* โดยการใช้จานเพาะเชื้อ 24 หลุมที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ yeast extract malt extract agar ใช้เอนไซม์ไคติเนสจาก *S. griseus* 3 ยูนิต (Sigma) เป็น positive control และน้ำต้ม เป็นเวลา 5 นาที เป็น negative control กิจกรรมการยับยั้งเชื้อใช้การสังเกตโดยตรงจากจานเพาะเชื้อ พบว่าหลายสายพันธุ์ไม่มีการงอกของไมซีเลียม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่2

การทบทวนวรรณกรรมและสารสนเทศ

2.1 การทบทวนวรรณกรรมและสารสนเทศที่เกี่ยวข้อง

2.1.1 เอนไซม์ย่อยไคติน

ลักษณะทั่วไปของเอนไซม์ย่อยไคติน

Shaikh และ Deshpande (1993) แบ่งเอนไซม์ที่ย่อยไคตินออกเป็น 2 ชนิดใหญ่ๆ คือ เอนโดไคติเนส (EC 3.2.1.14) และไคโตไบเอส หรือเอน-อะเซทิลกลูโคซามินิเดส (EC 3.2.1.30) หรือเอน-อะเซทิลเฮกโซซามินิเดส (N-acetyl hexosaminidase, EC 3.2.1.52) แต่ Robbins และคณะ (1988) แบ่งเอนไซม์ย่อยไคตินออกเป็น 3 ชนิด คือ

1. เอนโดไคติเนส จะย่อยไคตินแบบสุ่มได้ ไดอะเซทิลไดไคโตไบโอส (diacetylchitobiose) และ ไตรอะเซทิลไตรไอไบโอส (triacetyltriobiose) เป็นส่วนใหญ่
2. ไคโตไบเอส จะย่อยไดเมอร์ หรือไดอะเซทิลไคโตไบโอสหรือย่อยไคตินทีละหนึ่งหน่วยจากปลายด้าน non-reducing เป็น เอน-อะเซทิลกลูโคซามีน
3. เอ็กโซไคติเนส จะย่อยไดอะเซทิลไคโตไบเอส หรือไคตินจากปลายด้าน non-reducing ทีละหนึ่งหน่วย

แหล่งของเอนไซม์ที่ย่อยไคติน

เนื่องจากไคตินเป็นสารที่มีอยู่และเกิดขึ้นในธรรมชาติเช่นเดียวกับเซลลูโลส ไคตินจึงเป็นสารที่ไม่ก่อให้เกิดมลภาวะทางสิ่งแวดล้อม เพราะไคตินจะถูกย่อยสลายโดยกระบวนการในธรรมชาติกลายเป็นปุ๋ยและสารอินทรีย์ในพื้นดิน พื้นน้ำ วนเวียนอยู่เช่นนี้ ซึ่งจัดเป็นข้อดีและข้อได้เปรียบของไคตินที่จะนำมาประยุกต์ใช้ (เกรียงไกร และคณะ, 2540)

ไคตินถูกย่อยสลายด้วยเอนไซม์ไคติเนสได้ผลผลิตสุดท้ายเป็น N – acetylglucosamine (NAG) เอนไซม์ไคติเนสพบในสิ่งมีชีวิตหลายชนิด ในพืชพบในเมล็ดถั่ว เมล็ดข้าวโพด สำหรับในสัตว์พบในพวก Protozoans, Coelenterates, Nematodes, Mollusca, Arthopod และจุลินทรีย์ แหล่งเอนไซม์ที่น่าสนใจนำมาจากจุลินทรีย์โดยเฉพาะพวกแบคทีเรียและรา (เกรียงไกร และคณะ, 2540) แบคทีเรียที่ผลิตเอนไซม์ ไคติเนส ได้แก่ *Serratia* sp., *Bacillus* sp., *Micrococcus* sp., *Streptomyces* sp. (Skujins และคณะ, 1970) เชื้อราที่พบว่าผลิตเอนไซม์ไคติเนส ได้แก่ *Aspergillus* sp., *Saccharomyces* sp., *Beauveria bassiana, Mycothecium verucaris* เป็นต้น (Suresh และ Chandrasekaran, 1999)

จุลินทรีย์ที่ผลิตเอนไซม์ไคติเนส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จุลินทรีย์เป็นแหล่งผลิตเอนไซม์ไคติเนสที่สำคัญ และพบเอนไซม์นี้ได้ในจุลินทรีย์มากมายหลายชนิด ทั้งในแบคทีเรีย รา และยีสต์ จากรายงานของ Deshpande (1986) พบเอนไซม์ไคติเนสในแบคทีเรียหลายชนิด เช่น *Serratia* sp., *Pseudomonas* sp., *Clostridium* sp., *Aeromonas* sp., *Klebsiella* sp. และพบเอนไซม์ไคติเนสในเชื้อรา เช่น *Trichoderma* sp., *Penicillium* sp., *Mucor* sp. พบในยีสต์ เช่น *Saccharomyces cerevisiae* (Correa และคณะ, 1982)

กัมปนาท และคณะ ได้ศึกษาเบื้องต้นเพื่อคัดแยกแบคทีเรียที่ผลิตไลเปสจากแหล่งดินและน้ำเสียบริเวณโรงงานผลิตน้ำนม น้ำทิ้ง บริเวณโรงอาหารสถาบันราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยา และโรงงานกำจัดขยะในกรุงเทพฯ โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อชนิดแข็งที่มีหางนมเป็นองค์ประกอบ โดยแบคทีเรียที่ผลิตโปรติเอสจะสร้างวงใสรอบโคโลนี พบแบคทีเรียที่สร้างวงใสรอบโคโลนีจำนวน 64 ไอโซเลต และมีไอโซเลตที่สร้างวงใสมีเส้นผ่าศูนย์กลางมากกว่า 10 มิลลิเมตร จำนวน 10 ไอโซเลต และเมื่อนำไปเลี้ยงในอาหารเหลวที่มีเคซีนร้อยละ 1 พบว่า ONWC9P ให้แอคติวิตีของโปรติเอสสูงที่สุด คือ 9.45 ยูนิต

นัฐศรันย์ ได้ทำการแยกและคัดเลือกจุลินทรีย์ที่ผลิตไคตินเนสจากตัวอย่างดินบริเวณโรงอาหารคณะเกษตรศาสตร์ ดินบริเวณโรงอาหารชีววิทยา ดินบริเวณหอพักชายอาคาร 1 และดินบริเวณโรงอาหารองค์กรมหาวิทยาลัยเชียงใหม่ (อมช.) โดยใช้อาหารที่มีไค่โตซานเห็นสับสเทรต แยกเชื้อจุลินทรีย์ที่สามารถเจริญได้ดี 3 ไอโซเลท เมื่อนำมาทดสอบความสามารถในการผลิตไคติเนส โดยเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว Enzyme Production Medium (EPM) ที่อุณหภูมิห้อง เขย่าที่ความเร็วรอบ 200 รอบ/นาที เป็นเวลา 5 วันพบว่าโอโซเลท BST 1 ที่แยกได้จากดินบริเวณโรงอาหารองค์กรมหาวิทยาลัยเชียงใหม่ (อมช.) สามารถผลิตไคติเนสได้สูงสุดในวันที่ 4 โดยให้ค่าการทำงานเท่ากับ 10.966 มิลลิยูนิต/มิลลิลิตร และกิจกรรมจำเพาะเท่ากับ 8.797 มิลลิยูนิต/มิลลิกรัมโปรตีน

มาลัยพร และคณะ ได้ศึกษาตัวอย่างดินจากแปลงผลิตเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศและพืชตระกูลแตงจังหวัดขอนแก่นและมหาสารคามจำนวน 70 ตัวอย่าง เมื่อนำมาแยกเชื้อราในดินโดยวิธี soil dilution plate บนอาหาร Martin's medium สามารถแยกเชื้อราได้ จำนวน 186 ไอโซเลต เมื่อนำมาทดสอบศักยภาพของเชื้อราในดินนั้นในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ และพืชตระกูลแตงในห้องปฏิบัติการพบว่ามีเชื้อรา 60 ไอโซเลตที่สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f. sp. *Lycopersici* (FOL) สาเหตุโรคเหี่ยวมะเขือเทศเชื้อรา จำนวน 28 ไอโซเลตที่ยับยั้งการเจริญของ *Fusarium oxysporum* f. sp. *Melonis* (FOM) สาเหตุดโรคเหี่ยวของแตงเทศ และจำนวน 20 โอโซเลต ที่สามารถยับยั้งการเจริญของ *Fusarium oxysporum* f. sp. *Cucumerinum* (FOC) สาเหตุโรค

เอกสารนี้สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เหี่ยวของแตงกวาได้ โดยเชื้อราทั้ง 20 ไอโซเลตนี้เป็นเชื้อรา *Trichoderma* spp. ซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ของทั้งเชื้อ FOL, FOM และ FOC สาเหตุโรคเหี่ยวของมะเขือเทศแตงเทศ และแตงกวาได้ เส้นใยของเชื้อรา *Trichoderma* spp. จะเจริญปกคลุมเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคเหี่ยวจนไม่สามารถเจริญต่อไปได้อีก ภายใน 7 วัน หลังจากการปลูกเชื้อ เมื่อศึกษาการเจริญเติบโตบนอาหารเลี้ยงเชื้อและลักษณะทางสัณฐานวิทยาแล้ว สามารถจำแนกและบ่งชี้ชนิดของเชื้อราได้ดังนี้ *T. harianum* จำนวน 5 ไอโซแลต *T. koningii* จำนวน 10 ไอโซเลต *T.piluliferum* จำนวน 1 ไอโซเลต *T. aureoviride* จำนวน 3 ไอโซเลต และ *T. reesei* จำนวน 1 โอโซเลต

สุวิตา และคณะ (2549) ได้ทำการรวบรวมเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* spp. จำนวน 35 ไอโซเลตเชื้อรา *Trichoderma* spp. จำนวน 17 ไอโซเลต ได้นำมาทดสอบความสามารถในการควบคุมโรคเหี่ยวเหลืองของมะเขือเทศ ซึ่งเกิดเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f. sp. Lycopersici (Fol) โดยชีววิธี พบว่าไอโซเลต T10, T9, T13, T17 และ T35 มีศักยภาพในการควบคุมโรคได้ดี มีระดับความรุนแรงของโรคและเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคต่ำกว่าไอโซเลตอื่นๆ และเมื่อตรวจสอบกิจกรรมของเอนไซม์ย่อยสลายในเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณของเชื้อราดังกล่าวทั้ง 35 ไอโซเต พบว่าเชื้อรา Trichoderma ไอโซเลต T1, 74, T30, T10 มีกิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลสเชิงคุณภาพสูงโดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส (degradation zone) 26.00, 22.23, 21.83 และ 20.67 มิลลิเมตร ตามลำดับกิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอส เชิงคุณภาพ พบกิจกรรมของเอนไซม์สูงในไอโซเลต 89, 88, T1 และ 122 โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใสเป็น 41.33, 40.00, 39.83 และ 39.67 มิลลิเมตร ตามลำดับส่วนไอโซเลต T9, 89, T35 และ 119 มีกิจกรรมของเอนไซม์ไคติเนสเชิงคุณภาพสูง โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส 21.67, 19.00, 18.67 และ 18.33 มิลลิเมตร ตามลำดับ สำหรับการตรวจสอบกิจกรรมของเอนไซม์เชิงปริมาณพบว่าไอโซเลต 77, 74 และ T20 มีกิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลส เชิงปริมาณสูง คือ 65.46, 51.06 และ 28.86 ไมโครโมล (glucose equivalent)/มิลลิกรัมโปรตีน/ชั่วโมง กิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอสเชิงปริมาณพบสูงในไอโซเลต T1, T19, T9 และ T17 คือ 74.89, 53.10, 44.64 และ 34.06 ไมโครโมล (tyrosine equivalent)/มิลลิกรัมโปรตีน/ชั่วโมงตามลำดับ ส่วนกิจกรรมของเอนไซม์ไคติเนสเชิงปริมาณนั้นพบสูงในโอโซเลต T9, T25, T31, 103, T13 และ T35 คือ 30.96, 29.04, 27.12 และ 25.14 ไมโครโมล (N-acetylglucasamine equivalent) /มิลลิกรัมโปรตีน/ชั่วโมง ตามลำดับ และพบกิจกรรมของเอนไซม์ β - 1, 3 – glucanase เชิงปริมาณสูงในโอโซเลต 90, T20 และ 38 คือ 532.86, 148.74 และ 89.36 ไมโครโมล (glucose equivalent)/มิลลิกรัมโปรตีน/ชั่วโมง ตามลำดับ ผลการศึกษานี้ชี้ให้เห็นว่าเชื้อรา Trichoderma ไอโซเลต T9 มีกิจกรรมของ

เอกสารนี้มีลิขสิทธิ์ ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอนไซม์ย่อยสลายไคติเนสและโปรติเอสสูงซึ่งสัมพันธ์กับความสามารถในการควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ

ศิริลาภา (2544) ได้ศึกษาเชื้อรา 3 ชนิด คือ *Fusarium* sp., *Cladosporium* sp. และ *Lasiodiplodia* sp. เป็นเชื้อราหลักๆ ที่ก่อให้เกิดปัญหากับผลผลิตลำไยทางภาคเหนือของไทยจากจุลินทรีย์ จำนวน 242 ไอโซเลท ที่ผลิตไคติเนสซึ่งแยกจากตัวอย่างดินตัวอย่างอาหาร และจากหน่วยเก็บเชื้อจุลินทรีย์ของมหาวิทยาลัยเชียงใหม่ พบว่ามี 40 ไอโซเลท เป็นเชื้อรา และแบคทีเรียทนอุณหภูมิสูง เมื่อนำมาทดสอบการเป็นเชื้อปฏิปักษ์ โดยวิธี dual culture method กับเชื้อราทั้ง 3 ชนิด พบว่าเชื้อรา 11 ไอโซเลท และแบคทีเรีย 5 ไอโซเลท เป็นเชื้อปฏิปักษ์กับ *Cladosporium* sp. เชื้อรา 4 ไอโซเลท และแบคทีเรีย 2 ไอโซเลท เป็นเชื้อปฏิปักษ์กับ *Fusarium* sp. และ 11 ไอโซเลตของเชื้อราและ 7 ไอโซเลตของแบคทีเรียเป็นปฏิปักษ์กับ *Lasiodiplodis* sp. เลือกเชื้อราไอโซเลท CT12 และแบคทีเรียไอโซเลท H11 ซึ่งแสดงการเป็นเชื้อปฏิปักษ์ต่อราก่อโรคทั้ง 3 ชนิด จากนั้นนำมาทดสอบด้วยวิธี cylinder plate method โดยเลี้ยงใน enzyme production medium ซึ่งมีคอลลอยดอลไคตินเป็นแหล่งคาร์บอน นำไปเขย่าที่อุณหภูมิห้อง (28 $\pm$ 2 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 7 วัน และนำไปทดสอบการยับยั้งกับราก่อโรค โดยให้วงใสขนาด 12.0 มิลลิเมตร แบคทีเรียไอโซเลท H11 สามารถยับยั้ง *Cladosporium* sp. และ *Fusarium* sp. โดยวัดเส้นผ่าศูนย์กลางของวงใสที่เกิดขึ้นได้ 19.3 และ 15.7 มิลลิเมตร ตามลำดับ เนื่องนำลำไยไปจุ่มในน้ำกรองเลี้ยงเชื้อแล้วนับจำนวนจุลินทรีย์โดยวิธี spread plate พบว่า น้ำกรองเลี้ยงเชื้อสามารถลดจำนวนของจุลินทรีย์ลงได้เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมคือ น้ำกลั่น โดยกิจกรรมเอนไซม์ไคติเนสของไอโซเลท CT12 เท่ากับ 138, 133 และ 135 มิลลิยูนิต/มิลลิลิตร ค่ากิจกรรมจำเพาะ เท่ากับ 345, 443 และ 401 มิลลิยูนิต/มิลลิกรัมโปรตีนและไคติเนส activity ของไอโซเลท H11 เท่ากับ 50, 51 และ 48 มิลลิยูนิต/มิลลิลิตร ค่าเท่ากับ 187, 235 และ 167 มิลลิยูนิต/มิลลิกรัมโปรตีน จากการทดลองในลำไยแต่ละครั้ง ทำการตกตะกอนโปรตีนด้วยแอมโมเนียซัลเฟต แล้วนำทั้งส่วนของส่วนใส และตกตะกอนไปทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งราก่อโรค พบว่าน้ำกรองเชื้อราไอโซเลท CT12 ที่ความเข้มข้นของแอมโมเนียซัลเฟตร้อยละ 70 และน้ำกรองของแบคทีเรียไอโซแลต H11 ที่ความเข้มข้นของแอมโมเนียมซัลเฟตร้อยละ 80 เมื่อให้ความร้อนที่ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลาต่างๆ กัน จะไม่ให้ผลการยับยั้งต่อราก่อโรค จากการตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อราไอโซเลต CT12 พบว่าเป็น *Aspergillus fumigatus* และแบคทีเรียไอโซเลท H11 เป็น *Bacillus cereus*

วัทนีย์ และคณะ (2541) ได้ศึกษาโรคเหี่ยวของอ้อยเกิดจากเชื้อรา *Fusarium subglutinans* และ *Cephalosporium sacchari* ทำให้ผลผลิตอ้อยลดลงร้อยละ 2.5 – 40

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ศึกษาพืชอาศัยของเชื้อสาเหตุโรคปฏิกิริยาของพันธ์อ้อยต่อโรค ผลของเชื้อราปฏิปักษ์ สารประกอบซิลิคอน และสารไคโตซานต่อการติดเชื้อโรคเหี่ยวของอ้อย โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อหาวิธีการที่เหมาะสมในการควบคุมโรค ดำเนินศึกษาในสภาพเรือนทดลองและสภาพไร่ในเขตปลูกจังหวัดฉะเชิงเทราและสระแก้ว พบว่าพืชหลายชนิดเป็นพืชอาศัยของเชื้อสาเหตุโรค ได้แก่ ข้าว ข้าวโพด ข้าวฟ่าง ถั่วเขียว และวัชพืชหญ้าปากควาย หญ้าพงอ้อ และหญ้าโขมงช่อดอกเล็ก อ้อยพันธุ์อู่ทอง 4 มีปฏิกิริยาต้านทานโรคพันธุ์ เค 84-200 เค 90-77 และ 89-2-365 ต้านทานต่อโรคปานกลาง พันธุ์ เค 88-92 เค 66-078 อู่ทอง 1 และอู่ทอง 3 อ่อนแอต่อโรค การใช้ส่วนผสมของเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma harzianum* ชนิดเชื้อสดที่เลี้ยงบนเมล็ดข้าวฟ่างนึ่ง ผสมรำข้าวและปุ๋ยคอก อัตราส่วน 1 : 10 : 40 โดยน้ำหนัก ผสมในดิน 2 ครั้ง ก่อนปลูกและ 2 เดือนหลังปลูก ครั้งละ 40 กิโลกรัมต่อไร่ ทำให้ปริมาณเชื้อสาเหตุโรคในดินและการติดเชื้อที่รากอ้อยลดต่ำกว่ากรรมวิธีเปรียบเทียบที่ไม่ใช้เชื้อปฏิปักษ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การผสมสารประกอบซิลิกอนอัตรา 40 กิโลกรัมต่อไร่ในดิน และการพ่นสารไคโตซาน 250 และ 500 ส่วนในล้านส่วน บริเวณโคนกอและรากอ้อยมีการติดเชื้อโรคเหี่ยวบนราก อ้อยไม่ต่างจากกรรมวิธีเปรียบเทียบ ดังนั้นการควบคุมโรคเหี่ยวในพื้นที่โรคระบาดจึงควรใช้วิธีปลูกอ้อยพันธุ์ต้านทาน หรือพันธุ์ต้านทานปานกลางต่อโรคควบคู่กับการผสมเชื้อราปฏิปักษ์ *T. harzianum* ในดิน หลีกเลี่ยงการปลูกพืชอาศัยการเชื้อหมุนเวียนในพื้นที่และกำจัดวัชพืชที่เป็นพืชอาศัยของเชื้อ

ภัทรกร และคณะ (2536) ได้ทดสอบความสามารถของ *Streptomyces* spp. จำนวน 63 ไอโซเลต ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Didymella bryoniae* ที่แยกได้จากใบเมลอย 2 ไอโซเลต (No. 2 และ No. 4) โดยวิธี Bioassay พบว่ามี Streptomyces ที่สามารถควบคุมเชื้อรา *D. bryoniae* ทั้ง 2 ไอโซเลตได้ดีที่สุด โดยเส้นใยเชื้อ *D. bryoniae* ไม่สามารถเจริญออกจากชิ้นอาหารวุ้นเริ่มแรกได้ ได้แก่ *Streptomyces* -13, -22, -95 และ -128 และมี *Streptomyces* spp. ที่สามารถยับยั้งเส้นใยของ *D. bryoniae* ได้ดี เพิ่มเติมจากที่มีการศึกษาไว้แล้ว คือ Streptomyces -11, -23, -24, -26, -34, -106, 108, -132, -134, -142, -LP9, -LP39 และ –LP64 และเมื่อนำ Streptomyces ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *D. bryoniae* ได้ดีจำนวน 16 ไอโซเลต (*Streptomyces* -7, 13, 15, 17, 22, 23, 33, 55, 74, 78, 84, 87, 95, 108, 123 และ 128) มาทดสอบความสามารถในการสังเคราะห์เอนไซม์เซลลูเลสบนอาหารแข็งคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส (CMC) และไคติเนส บนอาหารแข็งคอลลอยดอลไคติน (CCA) โดยวิธี congo red test พบว่ามี 14 ไอโซเลต ที่สร้างเอนไซม์เซลลูเลสได้มาก ทำให้เกิดวงใสบนอาหาร CMC มีความกว้างของเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส 2.74 – 4.63 เซนติเมตร ซึ่งไอโซเลตที่ไม่พบกิจกรรมของเซลลูเลส คือ Streptomyces -17 และ -123 ในขณะที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Streptomyces ทุกไอโซเลตสร้างเอนไซม์ไคติเนสได้ ทำให้เกิดวงใสบนอาหาร CCA กว้าง 2.25 x 5.18 เซนติเมตร เชื้อ *Streptomyces* -13 สามารถสร้างเอนไซม์ได้มากที่สุดทั้งสองชนิด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

การทดลองและวิธีการ

3.1 แหล่งของจุลินทรีย์

3.1.1 ตัวอย่างเชื้อราจากดินที่เก็บจากสถานที่ที่แตกต่างกัน และใช้เป็นตัวแทนของเชื้อปฏิปักษ์

1. เชื้อราไอโซเลต M 14303 และ C 14507 ถูกคัดแยกจากดินบริเวณรอบต้นคฑาเงิน หลังคอนโดบางกะปี อาคารซี เขตบางกะปี กรุงเทพมหานคร

2. เชื้อราไอโซเลต C 15304 และ C15305 ถูกคัดแยกจากดินบริเวณรอบโคนต้นมะยม หน้าตึกคณะครุศาสตร์อุตสาหกรรม สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

3. เชื้อราไอโซเลต C 18402 และ C 18404 ถูกคัดแยกจากดินส่วนผสมของสวน 22 พันธุ์ ไม้เขตลาดกระบัง

4. เชื้อราไอโซเลต C 20404 ถูกคัดแยกจากดินบริเวณรอบโคนต้นดอกเข็มสีชมพู ในสวนจัดตกแต่งหน้าสำนักงานนิคมอุตสาหกรรมลาดกระบัง

5. เชื้อราไอโซเลต C 21405 ถูกคัดแยกจากดินบริเวณรอบต้นลูกยอหน้าหออินเตอร์เฮาส์ เขตลาดกระบัง

6. เชื้อราไอโซเลต C 22301 ถูกคัดแยกจากดินบริเวณรอบต้นลูกยอหน้าหออินเตอร์เฮาส์ เขตลาดกระบัง

7. เชื้อราไอโซเลต M 24404 ถูกคัดแยกจากดินบริเวณรอบรากต้นสาวน้อยประแป้งหน้าซุ้มการประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

3.1.2 ตัวอย่างเชื้อปฏิปักษ์จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย

1. เชื้อ Acremonium sp. TISTR 3283

2. เชื้อ Chaetomium globosum TISTR 3093

3.1.3 ตัวอย่างเชื้อราที่คัดแยกจากพืชที่เป็นโรคซึ่งใช้เป็นตัวแทนของเชื้อราก่อโรคพืช

1. เชื้อราไอโซเลต PD 4410 ถูกคัดแยกจากใบถั่วแขกไม้เลื้อยที่มีจุดจ้ำสีน้ำตาลแดงและสีเหลือดำ จากมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม

2. เชื้อราไอโซเลต PD 4806 ถูกคัดแยกจากต้นถั่วแขกเป็นจุดสีน้ำตาลขาวและมีสีขาวคล้ายราเกาะ จากมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5. เชื้อราไอโซเลต NA 5101 และ PD 5102 ถูกคัดแยกจากพริกเมล็ดใหญ่ที่เน่าเป็นสีขาวน้ำตาลเหลือง จากมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม

6. เชื้อราไอโซเลต NA 5201 และ PD 5202 ถูกคัดแยกจากผลพริกเน่าเป็นสีดำขาวน้ำตาล (เมล็ดกลวง) จากมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม

7. เชื้อราไอโซเลต PD 5301 ถูกคัดแยกจากผลพริกเมล็ดใหญ่ที่มีสีขาวและดำคล้ายราเกาะอยู่ จากมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม

8. เชื้อราไอโซเลต PD 5503 ถูกคัดแยกจากผลพริกเมล็ดใหญ่ช้ำมีสีดำคล้ายราเกาะ จากมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม

9. เชื้อราไอโซเลต PD 5602 ถูกคัดแยกจากผลพริกเมล็ดกลางเหี่ยวแห้งสีเหลืองดำช้ำและมีเทาชมพูคล้ายราเกาะอยู่ จากมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม

10. เชื้อราไอโซเลต PD 5701 ถูกคัดแยกจากผลพริกเมล็ดใหญ่ช้ำแห้งสีดำเหลือง จากมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม

11. เชื้อราไอโซเลต PD 5801 ถูกคัดแยกจากผลพริกเมล็ดเล็กเหี่ยวสีดำ มีสีขาวคล้ายราเกาะ จากมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม

12. เชื้อราไอโซเลต PD 5902 และ PD 5904 ถูกคัดแยกจากก้านขั้วผลพริกเมล็ดกลางช้ำสีขาว และมีสีดำคล้ายราเกาะ จากมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม

13. เชื้อราไอโซเลต PD ถูกคัดแยกจากใบพริกขนาดเล็กเป็นจุดจ้ำมีดำน้ำตาลเหลือและมีสีขาวคล้ายราเกาะ จากมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม

3.1.4 ตัวอย่างเชื้อก่อโรคพืชจากกรมวิชาการเกษตร

1. เชื้อ Fusarium oxysporum DOAC 0893 เป็นสาเหตุโรคตายพรายกล้วย สถานที่เก็บ สถาบันวิจัยพืชสวนบุรีรัมย์

2. เชื้อ Sclerotium rolfsit DOAC 0926 เป็นสาเหตุโรคถั่วเหลือง สถานที่เก็บ จังหวัดขอนแก่น

3.2 วัสดุอุปกรณ์

3.2.1 อุปกรณ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1. cork-borer ขนาด 3 มิลลิเมตร
2. หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ
3. เครื่องคนสาร
4. ตู้เขี่ยฆ่าเชื้อ
5. เครื่องแก้ว
6. ตู้เย็น
7. เครื่องชั่ง
8. อ่านน้ำควบคุมอุณหภูมิ
9. กล้องจุลทรรศน์
10. เครื่องระเหยแห้ง

3.2.2 สารเคมี

1. คอลลอยคอลไคติน
2. หางนม (skin milk)
3. ยีสต์สกัด (Yeast Extract)
4. $NaNo_3$
5. $MgSO_4.7H_2O$
6. KH_2PO_4
7. $FeSO_4.7H_2O$
8. วุ้น
9. น้ำกลั่น
10. อาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

3.3 วิธีการ

3.3.1 การเตรียมอาหารในการแยกและเลี้ยงเชื้อราจากดิน เพื่อการผลิตเอนไซม์ไคติเนสและโปรติเอส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อาหารที่เหมาะสมในการเลี้ยงเชื้อที่ผลิตเอนไซม์ไคติเนสและโปรติเอส มีส่วนประกอบดังนี้ คอลลอยดอลไคตินร้อยละ 2 (สำหรับการผลิตเอนไซม์ไคติเนส) หางนม ร้อยละ 5 (สำหรับการผลิตเอนไซม์โปรติเอส) ในส่วนประกอบส่วนอื่น ๆ ของอาหารเลี้ยงเชื้อใช้เหมือนกัน คือ ยีสต์ สกัด 5.0 กรัม $NaNO_3$ 0.3 กรัม $MgSO_4$.7H2O 0.5 กรัม KH_2PO_4 1.0 กรัม $FeSO_4.7H_2O$ 0.01 กรัม วุ้น 15 กรัม โบรโมฟีนอลบลู (10 มก./มิลลิลิตร) 100 ไมโครลิตร และน้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร

ละลายส่วนผสมให้เข้ากัน โดยผสมหางนมกับน้ำกลั่นก่อน เทรวมกับอาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมผสมไว้ และเติมผงวุ้น จากนั้นนำสารผสมทั้งหมดไปตั้งไฟจนสารละลายหมดเทใส่ขวดอาหารเลี้ยงเชื้อ ปิดฝา แล้วนำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งอัดไอที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

3.3.2 การเตรียมอาหารในการศึกษาปฏิสัมพันธ์ของเชื้อราจากดินที่ถูกคัดเลือกกับเชื้อราที่แยกจากชิ้นส่วนพืชที่เกิดโรค

อาหารที่เหมาะสมในการศึกษาปฏิสัมพนธ์ มีส่วนประกอบ ดังนี้ คอลลอยดอลไคติน ร้อยละ 1 หางนม ร้อยละ 1 ยีสต์สกัด 5.0 กรัม $NaNO_3$ 0.3 กรัม $MgSO_4.7H_2O$ 0.5 กรัม KH_2PO_4 1.0 กรัม $FeSO_4.7H_2O$ 0.01 กรัม วุ้น 15 กรัมและน้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร ละลายส่วนผสมให้เข้ากัน จากนั้นนำสารผสมทั้งหมดไปตั้งไฟจนสารละลายหมดเทใส่ขวดอาหารเลี้ยงเชื้อ ปิดฝาแล้วนำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งอัดไอที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

3.3.3 การคัดเลือกและแยกเชื้อราที่สามารถสร้างเอนไซม์ไคตินเนสและโปรติเอสจากดินให้บริสุทธิ์

เตรียมน้ำกลั่น ใส่หลอดทดลองหลอดละ 9 มิลลิลิตร จำนวน 5 หลอด นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำที่ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที รอให้เย็นชั่งตัวอย่างดินจำนวน 1 กรัม แล้วนำมาใส่หลอดที่ 1 จะได้ความเจือจาง 1 : 10 เขย่าให้เข้ากัน แล้วใช้ปิเปตขนาด 1 มิลลิลิตร ดูดจากหลอดที่ 1 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่หลอดที่ 2 ได้ความเจือจาง 1 : 10^2 ทำเช่นนี้ต่อไปจนถึงหลอดที่ 5 จะได้ความเจือจาง 1 : 10^2 นำหลอดที่มีความเจือจาง 1 : 10^3, 1 : 10^4, 1 : 10^5 มาทำ spread plate โดยใช้ปิเปต ดูดแต่ละความเจือจางมา 0.1 มิลลิลิตร ใส่ในจานอาหารข้อ 3.3.1 แต่ละความเจือจางทำ 3 ซ้ำ นำสเปรดเดอร์ (spreader) จุ่มแอลกอฮอล์ร้อยละ 95 แล้วลนไฟ รอให้เย็นเพื่อฆ่าเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แล้วนำมาเกลี่ยเชื้อให้ทั่วผิวหน้าอาหาร บ่งที่ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 วัน จากนั้นนำไปคัดเลือกเชื้อราที่สามารถผลิตเอนไซม์ไคติเนสและโปรติเอสได้ในสภาวะอาหารแข็งต่อไป

3.3.4 การคัดเลือกเชื้อราที่สามารถผลิตเอนไซม์ไคติเนส และโปรติเอสได้ในสภาวะอาหารแข็ง

ย้ายเชื้อราบริสุทธิ์ที่แยกได้จากข้อ 3.3.3 ลงในจานเพาะเชื้อที่มีอาหารในข้อ 3.3.1 เลี้ยงที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง (ยังไม่เกิดสปอร์) ใช้ cock – borer ขนาด 5 มิลลิลิตร ทำการถ่ายเชื้อลงในจานเพาะเลี้ยงเชื้อใหม่ โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ เลี้ยงที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 48 ชั่วโมง หลังจากนั้นทำการวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อราที่เจริญขึ้น และวัดขนาดวงใสโดยวัดระยะที่เกิดออกมาจากขอบโคโลนีของเชื้อรา เพื่อหาเชื้อราที่สามารถสร้างเอนไซม์ไคติเนส และโปรติเอสได้

3.3.5 การคัดแยกเชื้อราจากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค

เตรียมน้ำกลั่น ใส่หลอดทดลองหลอดละ 9 มิลลิลิตร จำนวน 5 หลอด นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำที่ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที รอให้เย็น นำชิ้นส่วนของพืชที่เก็บตรงบริเวณที่คาดว่าจะมีเชื้ออยู่หั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ แล้วชั่ง 1 กรัม ใส่ลงในหลอดน้ำกลั่นที่เตรียมไว้หลอดที่ 1 จะได้ความเจือจาง 1 : 10 เขย่าให้เข้ากัน แล้วใช้ปิเปตขนาด 1 มิลลิลิตร ดูดจากหลอดที่ 1 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่หลอดที่ 2 ได้ความเจือจาง $1 : 10^2$ ทำเช่นนี้ต่อไปจนถึงหลอดที่ 5 จะได้ความเจือจาง $1 : 10^5$ นำหลอดที่มีความเจือจาง $1 : 10^3$ $1 : 10^4$ $1 : 10^5$ มาทำ spread plate โดยใช้ปิเปต ขนาด 1 มิลลิลิตร ดูดแต่ละความเจือจางมา 0.1 มิลลิลิตร ใส่ในจานอาหาร PDA แต่ละความเจือจางทำ 3 ซ้ำนำ spreader จุ่มแอลกอฮอล์ ร้อยละ 95 แล้วลนไฟ รอให้เย็นเพื่อฆ่าเชื้อ แล้วนำมาเกลี่ยเชื้อให้ทั่วผิวหน้า อาหารบ่มที่ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 วัน แล้วจึงแยกเชื้อให้บริสุทธิ์บนอาหาร PDA

3.3.6 การศึกษาปฏิสัมพันธ์ของเชื้อราที่แยกได้จากดินที่ถูกคัดเลือก กับเชื้อราที่แยกจากชิ้นส่วนพืชที่เป็นโรค

นำเชื้อราที่ถูกคัดเลือกตรวจสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อราที่เป็นเชื้อโรคที่แยกจากพืชด้วยวิธี dual culture technique ทำได้โดยการตัดแผ่นกลมของกลุ่มใยราที่เป็นเชื้อโรค (mycelia disc) ที่เลี้ยงไว้บนอาหาร PDA ซึ่งกำลังเจริญและยังไม่สร้างสปอร์ให้ได้ขนาด 5 มิลลิลิตร จากนั้นวางห่างจากขอบของจานเพาะเลี้ยงที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางขนาด 9 เซนติเมตร ประมาณ 1.5 เซนติเมตร จากนั้นนำจานเพาะเชื้อที่ได้ บ่มที่อุณหภูมิ 28 + 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน แล้วนำแผ่นกลมของกลุ่มใยราที่ถูกคัดเลือก ขนาด 5 มิลลิลิตร ซึ่งกำลังเจริญและยังไม่สร้างสปอร์ มาวางลง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในอาหารเลี้ยงเชื้อข้อ 3.3.2 ตรงข้ามกับแผ่นกลมของกลุ่มใยราที่เป็นเชื้อโรค หลังจากนั้น 4 วัน วัดการเจริญของเชื้อราที่แยกได้จากดินและเชื้อราที่แยกจากชิ้นส่วนพืชที่เป็นโรค โดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อวัดขนาดวงใสโดยวัดระยะที่เกินออกมาจากของโคโลนีเชื้อรา หรือโซนของการยับยั้ง คือวัดจากขอบของกลุ่มเส้นใยของเชื้อราที่แยกจากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค จนถึงขอบของการเจริญของเชื้อที่แยกได้จากดินในหน่วยเซนติเมตร ทำซ้ำ 3 ครั้ง จากเชื้อราทั้งหมดที่ถูกคัดเลือก (Y.S.Bae และ Guy R.Kundsen, 2005)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

บทที่ 4

ผลการทดลองและอภิปรายผล

4.1 การแยกเชื้อและเลี้ยงเชื้อราเพื่อการผลิตเอนไซม์ไคติเนสและโปรติเอสฯ

จากการทดสอบการผลิตเอนไซม์ไคติเนสในอาหาร Colloidal – CD-medium ของเชื้อราที่แยกได้จากดิน 12 สายพันธุ์ พบว่าสามารถผลิตเอนไซม์ไคติเนสได้ 11 สายพันธุ์ ยกเว้นสายพันธุ์ C20402 และเชื้อราสายพันธุ์ Chaetomium globosum TISTR 3093 ให้ขนาดวงในรอบโคโลนีสูงสุด เท่ากับ 0.5 เซนติเมตร และรองลงมาคือเชื้อราสายพันธุ์ C 15304 และ Acremonium sp. TISTR 3283 ซึ่งได้ขนาดวงใสรอบโคโลนีเท่ากัน คือ 0.3 เซนติเมตร แสดงดังตารางที่ 4 และทดสอบการผลิตเอนไซม์โปรติเอสในอาหาร skim milk – CD –medium พบว่า เชื้อราสามารถผลิตเอนไซม์โปรติเอสได้ 11 สายพันธุ์ ยกเว้นสายพันธุ์ C 20402 เช่นเดียวกับข้างต้นและเชื้อสายพันธุ์ C22301 (ดังรูปที่ 6) M 14303 (ดังรูปที่ 7) และ C 14507 โดยจะให้ขนาดโคโลนีเท่ากับ 0.4 เซนติเมตร แสดงดังตารางที่ 5

ตารางที่ 4 การทดสอบเอนไซม์ไคติเนสในอาหาร Colloidal – CD-medium

เชื้อราที่แยกได้จากดิน	เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนี (ซม.)	เส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส (ซม.)
M 24404	5.5	0.1
C 22301	5.0	0.1
C 21405	4.5	0.2
C 18402	5.5	0.1
M 14303	6.5	0.1
C 18404	3.8	0.2
C 15305	5.2	0.2
C 20402	9.0	-
C 15304	2.5	0.3
C 14507	6.0	0.1
Chaetomium globosum TISTR	5.5	0.5
3093 Acremonium sp.TISTR 3283	4.5	0.3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

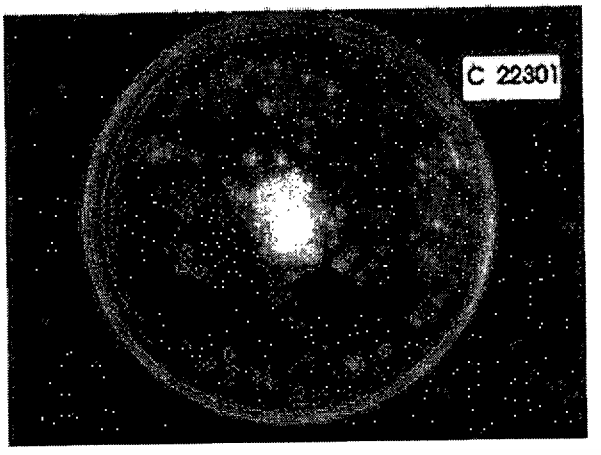
115536

ตารางที่ 5 การทดสอบเอนไซม์โปรดิเอสในอาหาร skim milk –CD-medium

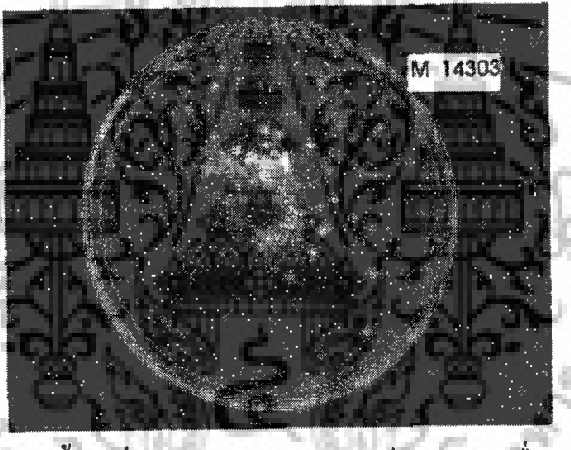
เชื้อราที่แยกได้จากดิน	เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนี (ซม.)	เส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส (ซม.)
M 24404	2.5	0.3
C 22301	1.5	0.4
C 21405	2.3	0.1
C 18402	2.6	0.3
M 14303	2.4	0.4
C 18404	1.8	0.1
C 15305	2.3	0.1
C 20402	0.2	-
C 15304	1.6	0.8
C 14507	2.6	0.4
Chaetomium globosum TISTR	0.9	0.2
3093 Acremonium sp.TISTR 3283	1.8	0.3

รูปที่ 5 วงใสรอบโคโลนีของเชื้อราที่แยกได้จากดินสายพันธุ์ C 15304 เมื่อทำการเลี้ยงเชื้อบนอาหาร skim milk-CD-medium เป็นเวลา 7 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 6 วงใสรอบโคโลนีของเชื้อราที่แยกได้จากดินสายพันธุ์ C 22301 เมื่อทำการเลี้ยงเชื้อบนอาหาร skim milk – CD-medium เป็นเวลา 7 วัน



รูปที่ 7 วงใสรอบโคโลนีของเชื้อราที่แยกได้จากดินสายพันธุ์ C 14303 เมื่อทำการเลี้ยงเชื้อบนอาหาร skim milk – CD-medium เป็นเวลา 7 วัน

4.2 การศึกษาปฏิสัมพันธ์ของเชื้อราที่แยกได้จากดินที่ถูกคัดเลือกกับเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค

จากการทดสอบปฏิสัมพันธ์ของเชื้อราที่แยกได้จากดินสายพันธุ์ M 24404 ที่สร้างทั้งเอนไซม์ไคติเนสและโปรติเอส กับเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคชนิดต่าง ๆ 18 สายพันธุ์ พบว่า เชื้อราที่แยกได้จากดินสายพันธุ์ M 24404 สามารถยับยั้งเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคได้ โดยเชื้อราที่แยกได้จากดินนี้จะมีกลไกควบคุมเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค ในลักษณะการทำลายชีวิต โดยเชื้อราที่แยกได้จากดินสร้างวงใส ซึ่งสามารถยับยั้งเชื้อราที่แยก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคสายพันธุ์ PD 4905 ให้ขนาดวงใสมากที่สุด เท่ากับ 0.7 เซนติเมตร รองลงมา คือ PD 4911 ให้ขนาดวงใส เท่ากับ 0.5 เซนติเมตร แสดงดังตารางที่ 6 ซึ่งปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดินสายพันธุ์ M 24404 กับเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค PD 5904 และ PD 5003 แสดงดังรูปที่ 8, 9 และ 10 ตามลำดับ

ตารางที่ 6 ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดินสายพันธุ์ M 24404 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคชนิดต่าง ๆ 18 สายพันธุ์

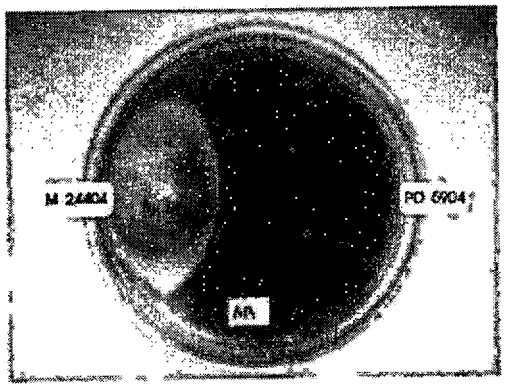
เชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค	เส้นผ่านศูนย์กลางเชื้อราที่แยกได้จากดิน (ซม.)		เส้นผ่านศูนย์กลางเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค (ซม.)		บริเวณยับยั้งของเชื้อราที่แยกได้จากดิน (ซม.)		หมายเหตุ
	วันที่ 4	วันที่ 7	วันที่ 4	วันที่ 7	วันที่ 4	วันที่ 7	
PD 4915	1.9	3.0	3.6	5.0	-	0.3	เชื้อราที่แยกได้จากดินสร้างบริเวณยับยั้ง 0.3 ซม.
PD 5701	1.4	2.1	3.9	6.5	-	0.4	เชื้อราที่แยกได้จากดินสร้างบริเวณยับยั้ง 0.4 ซม.
PD 5904	1.3	3.5	2.7	4.5	-	0.3	เชื้อราที่แยกได้จากดินสร้างบริเวณยับยั้ง 0.3 ซม.
PD 5602	2.0	2.1	3.3	3.5	-	0.1	เชื้อราที่แยกได้จากดินสร้างบริเวณยับยั้ง 0.1 ซม.
PD 4905	2.3	4.0	3.3	5.0	-	0.7	เชื้อราที่แยกได้จากดินสร้างบริเวณยับยั้ง 0.7 ซม.
PD 4410	2.0	3.3	3.2	4.7	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์
PD 5202	2.3	4.0	3.3	5.0	-	0.2	เชื้อทั้งคู่ยับยั้งซึ่งกันและกันโดยสร้างบริเวณยับยั้ง
PD 4911	1.6	3.5	4.1	5.0	-	0.5	เชื้อราที่แยกได้จากดินสร้างบริเวณยับยั้ง 0.5 ซม.
PD 4806	2.2	4.1	3.3	4.9	-	0.3	เชื้อราที่แยกได้จากดินสร้างบริเวณยับยั้ง 0.3 ซม.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

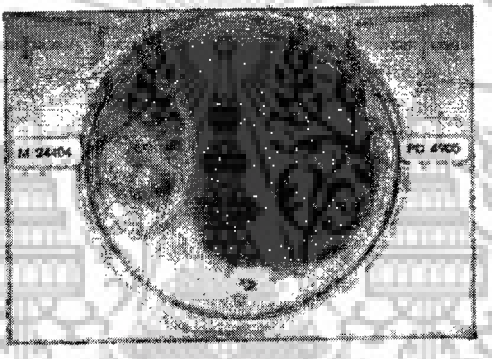
ตารางที่ 6 (ต่อ) ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดินสายพันธุ์ M 24404 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคชนิดต่าง ๆ 18 สายพันธุ์

เชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค	เส้นผ่านศูนย์กลางเชื้อราที่แยกได้จากดิน (ซม.)		เส้นผ่านศูนย์กลางเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค (ซม.)		บริเวณยับยั้งของเชื้อราที่แยกได้จากดิน (ซม.)		หมายเหตุ
	วันที่ 4	วันที่ 7	วันที่ 4	วันที่ 7	วันที่ 4	วันที่ 7	
PD 4916	1.4	2.5	2.5	3.0	-	0.2	เชื้อราที่แยกได้จากดินสร้างบริเวณยับยั้ง 0.2 ซม.
PD 4914	2.8	3.7	3.3	5.0	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์
NA 5201	1.0	4.0	2.8	4.5	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์
PD 5102	2.0	3.1	4.0	5.4	-	0.4	เชื้อทั้งคู่ยับยั้งซึ่งกันและกันโดยสร้างบริเวณยับยั้ง
NA 5101	2.0	3.1	3.8	5.5	-	0.4	เชื้อราที่แยกได้จากดิน
PD 6101	1.8	2.2	4.0	6.6	-	0.2	สร้างบริเวณยับยั้ง 0.4 ซม.
PD 4921	1.3	2.0	2.8	3.5	-	0.4	เชื้อราที่แยกได้จากดินสร้างบริเวณยับยั้ง 0.2 ซม.
PD 5003	2.0	2.4	3.0	4.5	-	0.4	เชื้อทั้งคู่ยับยั้งซึ่งกันและกันโดยสร้างบริเวณยับยั้ง
PD 4903	1.4	3.5	2.7	4.5	-	-	เชื้อทั้งคู่ยับยั้งซึ่งกันและกันโดยสร้างบริเวณยับยั้ง ไม่พบปฏิสัมพันธ์

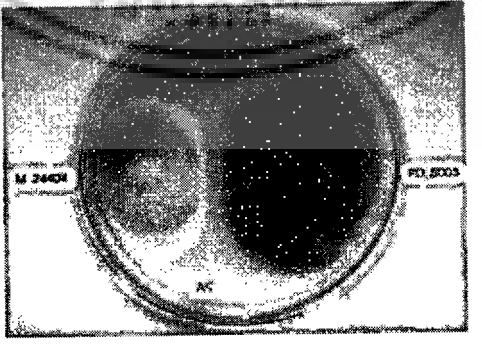
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 8 ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดิน M 24404 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค PD 5904 ซึ่งเชื้อราที่แยกได้จากดินสร้างบริเวณยับยั้ง 0.3 เซนติเมตร



รูปที่ 9 ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดิน M 24404 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค PD 4905 ซึ่งเชื้อราที่แยกได้จากดินสร้างบริเวณยับยั้ง 0.7 เซนติเมตร



รูปที่ 10 ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดิน M 24404 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค PD 5003 ซึ่งเชื้อทั้งคู่ยับยั้งซึ่งกันและกันโดยสร้างบริเวณยับยั้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการทดสอบปฏิสัมพันธ์ของเชื้อราที่แยกได้จากดิน C 22301 ที่สร้างทั้งเอนไซม์ไคติเนสและโปรติเอสกับเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคชนิดต่าง ๆ 21 สายพันธุ์ พบว่า เชื้อราที่แยกได้จากดิน C 22301 สามารถยับยั้งเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคได้โดยเชื้อราที่แยกได้จากดินมีกลไกควบคุมเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค ในลักษณะการทำลายชีวิต โดยสร้างวงใส ซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคสายพันธุ์ PD 5904 ได้สูงสุด ซึ่งให้ขนาดวงใสมากที่สุด เท่ากับ 0.9 เซนติเมตร รองลงมาคือ PD 4921 ให้ขนาดวงใสเท่ากับ 0.3 เซนติเมตร แสดงดังตารางที่ 7 ซึ่งปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดินสายพันธุ์ C 22301 กับเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค PD 4914, PD 4920 และ PD 5801 แสดงดังรูปที่ 11ม 12 และ 13 ตามลำดับ

ตารางที่ 7 ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดินสายพันธุ์ C 22301 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคชนิดต่าง ๆ 21 สายพันธุ์

เชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค	เส้นผ่านศูนย์กลางเชื้อราที่แยกได้จากดิน (ซม.)		เส้นผ่านศูนย์กลางเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค (ซม.)		บริเวณยับยั้งของเชื้อราที่แยกได้จากดิน (ซม.)		หมายเหตุ
	วันที่ 4	วันที่ 7	วันที่ 4	วันที่ 7	วันที่ 4	วันที่ 7	
PD 4915	0.5	2.5	2.3	4.0	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์
PD 5701	1.5	3.3	3.0	5.6	-	0.1	เชื้อราที่แยกได้จากดินสร้างบริเวณยับยั้ง 0.1 ซม.
PD 5904	1.1	2.3	3.5	4.8	-	0.9	เชื้อราที่แยกได้จากดินสร้างบริเวณยับยั้ง 0.9 ซม.
PD 5602	1.5	4.0	2.7	4.5	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์
PD 4905	1.7	3.5	3.0	4.5	-	0.4	เชื้อทั้งคู่ยับยั้งซึ่งกันและกันโดยสร้างบริเวณยับยั้ง
PD 4410	2.0	3.5	3.0	4.5	-	0.4	เชื้อทั้งคู่ยับยั้งซึ่งกันและกันโดยสร้างบริเวณยับยั้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

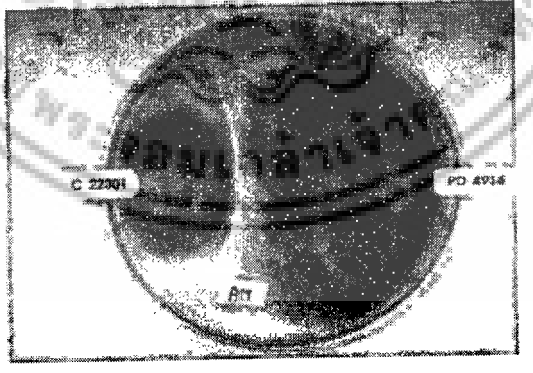
ตารางที่ 7 (ต่อ) ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดินสายพันธุ์ C 22301 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคชนิดต่าง ๆ 21 สายพันธุ์

เชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค	เส้นผ่านศูนย์กลางเชื้อราที่แยกได้จากดิน (ซม.)		เส้นผ่านศูนย์กลางเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค (ซม.)		บริเวณยับยั้งของเชื้อราที่แยกได้จากดิน (ซม.)		หมายเหตุ
	วันที่ 4	วันที่ 7	วันที่ 4	วันที่ 7	วันที่ 4	วันที่ 7	
PD 5202	1.5	3.5	3.0	4.0	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์
PD 4922	2.2	3.3	4.1	4.8	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์
PD 4911	2.3	3.0	2.5	4.0	0.4	-	เชื้อทั้งคู่ยับยั้งซึ่งกันและกันโดยสร้างบริเวณยับยั้ง
PD 4806	1.5	3.4	2.8	4.6	-	0.4	เชื้อทั้งคู่ยับยั้งซึ่งกันและกันโดยสร้างบริเวณยับยั้ง
PD4916	0.7	3.0	2.7	3.5	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์
PD 4914	1.3	3.5	2.5	5.3	-	0.1	เชื้อราที่แยกได้จากดินสร้างบริเวณยับยั้ง 0.1 ซม.
NA 5201	2.0	4.0	3.1	3.5	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์
PD 5102	2.0	3.5	3.1	3.4	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์
NA 5101	1.3	3.0	3.7	5.2	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์
PD 6101	2.3	3.4	3.5	5.5	-	0.1	เชื้อราที่แยกได้จากดินสร้างบริเวณยับยั้ง 0.1 ซม.
PD 4921	2.0	3.4	3.1	5.3	-	0.3	เชื้อราที่แยกได้จากดินสร้างบริเวณยับยั้ง 0.1 ซม.
PD 4918	1.9	3.1	3.3	5.7	-	0.2	เชื้อราที่แยกได้จากดินสร้างบริเวณยับยั้ง 0.1 ซม.
PD 4920	1.4	3.1	3.8	5.5	-	0.4	เชื้อทั้งคู่ยับยั้งซึ่งกันและกันโดยสร้างบริเวณยับยั้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

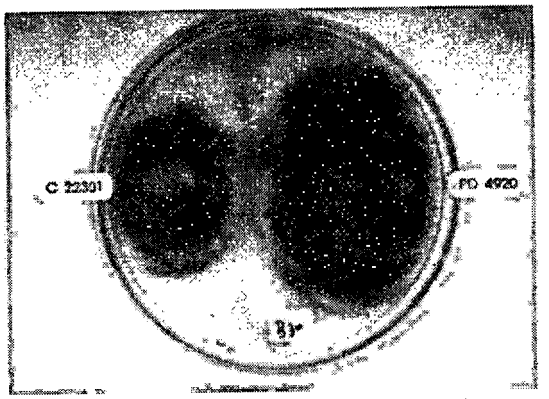
ตารางที่ 7 (ต่อ) ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดินสายพันธุ์ C 22301 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคชนิดต่าง ๆ 21 สายพันธุ์

เชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค	เส้นผ่านศูนย์กลางเชื้อราที่แยกได้จากดิน (ซม.)		เส้นผ่านศูนย์กลางเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค (ซม.)		บริเวณยับยั้งของเชื้อราที่แยกได้จากดิน (ซม.)		หมายเหตุ
	วันที่ 4	วันที่ 7	วันที่ 4	วันที่ 7	วันที่ 4	วันที่ 7	
PD 5801	2.3	3.6	3.3	5.2	-	0.1	เชื้อราที่แยกได้จากดินสร้างบริเวณยับยั้ง 0.1 ซม. เชื้อทั้งคู่ยับยั้งซึ่งกันและกันโดยสร้างบริเวณยับยั้ง
PD 5902	2.0	2.2	3.5	3.7	-	0.2	

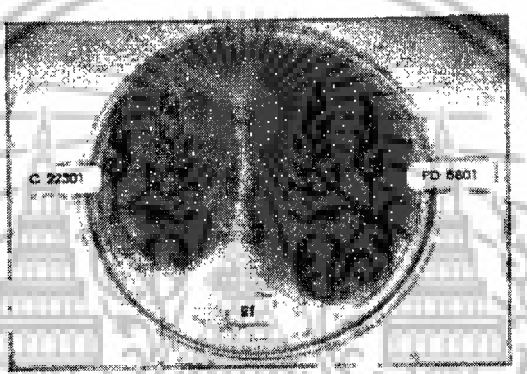


รูปที่ 11 ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดิน C 22301 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค PD 4914 ซึ่งเชื้อราที่แยกได้จากดินสร้างบริเวณยับยั้ง 0.1 เซนติเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 12 ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดิน C 22301 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค PD 4920 ซึ่งเชื้อราทั้งคู่ยับยั้งซึ่งกันและกันโดยสร้างบริเวณยับยั้ง



รูปที่ 13 ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดิน C 22301 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค PD 5801 ซึ่งเชื้อราที่แยกได้จากดินสร้างบริเวณยับยั้ง 0.1 เซนติเมตร

จากการทดลองสอบปฏิสัมพันธ์ของเชื้อราที่แยกได้จากดิน C 21405 ที่สร้างทั้งเอนไซม์ไคติเนสและโปรติเอสกับเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคชนิดต่าง ๆ 23 สายพันธุ์ พบว่าเชื้อราที่แยกได้จากดินสายพันธุ์ C 21405 สามารถยับยั้งเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคในลักษณะเจริญทับเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค โดยเชื้อราที่แยกได้จากดินนี้จะมีกลไกควบคุมเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคในลักษณะการทำลายชีวิต โดยเชื้อราที่แยกได้จากดินสร้างวงใสซึ่งสามารถยับยั้งเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคสายพันธุ์ PD 5003 ได้สูงสุด ให้ขนาดวงใสมากที่สุด เท่ากับ 0.7 เซนติเมตร รองลงมา คือ PD 5904, PD 4916 และ PD 5902 ให้ขนาดวงใส เท่ากับ 0.5 เซนติเมตร แสดงดังตารางที่ 8 ซึ่งปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดินสายพันธุ์ C 21405 กับ เชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค PD 5102, PD 4921 และ PD 5003 แสดงดังรูปที่ 14ม 15 และ 16 ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 8 ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดินสายพันธุ์ C 21405 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคชนิดต่าง ๆ 23 สายพันธุ์

เชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค	เส้นผ่านศูนย์กลางเชื้อราที่แยกได้จากดิน (ซม.)		เส้นผ่านศูนย์กลางเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค (ซม.)		บริเวณยับยั้งของเชื้อราที่แยกได้จากดิน (ซม.)		หมายเหตุ
	วันที่ 4	วันที่ 7	วันที่ 4	วันที่ 7	วันที่ 4	วันที่ 7	
PD 4915	1.3	3.0	3.3	6.0	-	-	เชื้อราที่แยกได้จากดินเจริญล้ำเข้าไปในเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค 0.5 ซม.
PD 5701	1.5	3.5	3.3	3.5	-	-	เชื้อราที่แยกได้จากดินเจริญล้ำเข้าไปในเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค
PD 5904	1.4	3.5	3.5	5.0	-	0.5	เชื้อราที่แยกได้จากดินสร้างบริเวณยับยั้ง 0.5 ซม.
PD 5602	1.5	3.0	3.0	5.0	-	0.4	เชื้อทั้งคู่ยับยั้งซึ่งกันและกันโดยสร้างบริเวณยับยั้ง
PD 4905	1.5	3.5	3.2	5.0	-	-	เชื้อราที่แยกได้จากดินเจริญล้ำเข้าไปในเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค 1.2 ซม.
PD 4410	1.6	3.0	3.3	5.5	-	0.4	เชื้อราที่แยกได้จากดินสร้างบริเวณยับยั้ง 0.4 ซม.
PD 5202	0.9	3.2	2.9	5.1	-	-	เชื้อราที่แยกได้จากดินเจริญล้ำเข้าไปในเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค 1.0 ซม.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

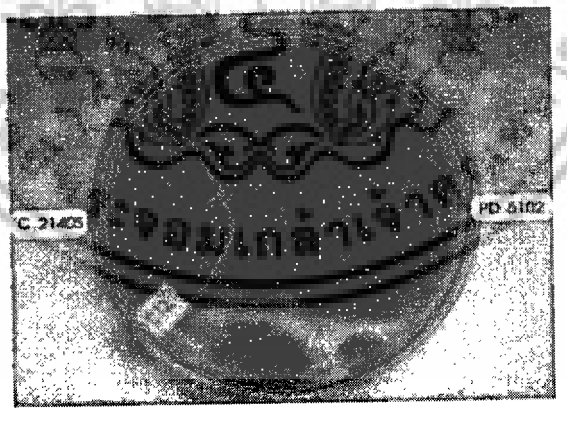
ตารางที่ 8 (ต่อ) ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดินสายพันธุ์ C 21405 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคชนิดต่าง ๆ 23 สายพันธุ์

เชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค	เส้นผ่านศูนย์กลางเชื้อราที่แยกได้จากดิน (ซม.)		เส้นผ่านศูนย์กลางเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค (ซม.)		บริเวณยับยั้งของเชื้อราที่แยกได้จากดิน (ซม.)		หมายเหตุ
	วันที่ 4	วันที่ 7	วันที่ 4	วันที่ 7	วันที่ 4	วันที่ 7	
PD 4911	0.3	2.0	2.3	4.0	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์
PD 4806	1.5	3.5	3.3	5.0	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์
PD 4916	1.1	3.4	3.5	5.1	-	0.5	เชื้อราที่แยกได้จากดินสร้างบริเวณยับยั้ง 0.5 ซม.
PD 4914	1.0	2.8	3.6	5.9	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์
NA 5201	1.5	3.3	3.3	5.1	-	0.4	เชื้อราที่แยกได้จากดินสร้างบริเวณยับยั้ง 0.4 ซม.
PD 5102	0.4	3.4	2.9	5.4	-	0.3	เชื้อราที่แยกได้จากดินสร้างบริเวณยับยั้ง 0.3 ซม.
NA 5101	1.0	2.2	3.2	6.6	-	0.3	เชื้อราที่แยกได้จากดินสร้างบริเวณยับยั้ง 0.3 ซม.
PD 6101	1.4	2.8	4.9	6.2	-	-	เชื้อราที่แยกได้จากดินเจริญล้ำเข้าไปในเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค 0.7 ซม.
PD 5301	0.5	1.0	5.7	7.0	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์
PD 4921	1.8	3.3	3.5	5.3	-	0.4	เชื้อราที่แยกได้จากดินสร้างบริเวณยับยั้ง 0.4 ซม.
PD 5003	1.4	2.2	2.2	2.5	-	0.7	เชื้อราที่แยกได้จากดินสร้างบริเวณยับยั้ง 0.7 ซม.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

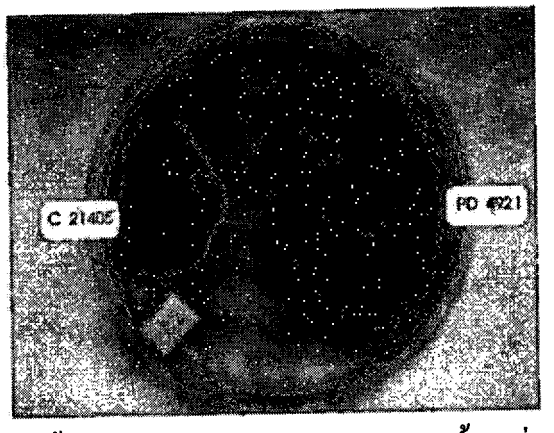
ตารางที่ 8 (ต่อ) ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดินสายพันธุ์ C 21405 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคชนิดต่าง ๆ 23 สายพันธุ์

เชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค	เส้นผ่านศูนย์กลางเชื้อราที่แยกได้จากดิน (ซม.)		เส้นผ่านศูนย์กลางเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค (ซม.)		บริเวณยับยั้งของเชื้อราที่แยกได้จากดิน (ซม.)		หมายเหตุ
	วันที่ 4	วันที่ 7	วันที่ 4	วันที่ 7	วันที่ 4	วันที่ 7	
PD 5902	0.8	3.5	2.1	5.0	-	0.5	เชื้อราที่แยกได้จากดินสร้างบริเวณยับยั้ง 0.5 ซม.
PD 5004	0.4	1.0	3.4	7.0	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์
Pd 4908	0.7	0.8	4.2	7.0	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์

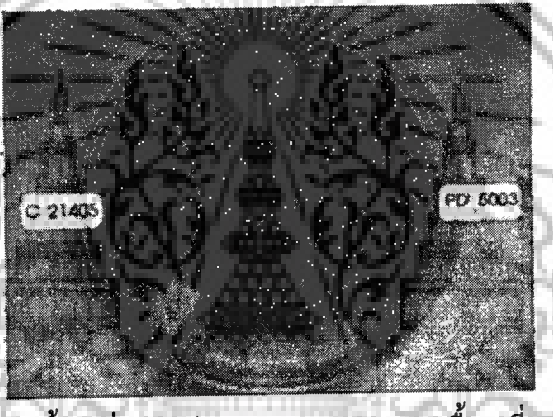


รูปที่ 14 ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดิน C 21405 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค PD 5102 ซึ่งเชื้อราที่แยกได้จากดินสร้างบริเวณยับยั้ง 0.3 เซนติเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 15 ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดิน C 21405 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค PD 4921 ซึ่งเชื้อราที่แยกได้จากดินสร้างบริเวณยับยั้ง 0.4 เซนติเมตร



รูปที่ 16 ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดิน C 21405 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค PD 5003 ซึ่งเชื้อราที่แยกได้จากดินสร้างบริเวณยับยั้ง 0.7 เซนติเมตร

จากการทดสอบปฏิสัมพันธ์ของเชื้อราที่แยกได้จากดิน C 18402 ที่สร้างทั้งเอนไซม์ไคติเนสและโปรติเอสกับเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคชนิดต่าง ๆ 21 สายพันธุ์ พบว่า เชื้อราที่แยกได้จากดิน C 18402 สามารถยับยั้งเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคได้โดยเชื้อราที่แยกได้จากดินมีกลไกควบคุมเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค ในลักษณะการทำลายชีวิต โดยเชื้อราที่แยกได้จากดินสร้างวงใส ซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคสายพันธุ์ PD 5602 ได้สูงสุด ซึ่งให้ขนาดวงใสมากที่สุด เท่ากับ 0.5 เซนติเมตร รองลงมาคือ PD 5701, PD 4911, PD 4914 และ PD 4412 ให้ขนาดวงใสเท่ากับ 0.4 เซนติเมตร แสดงดังตารางที่ 9 ซึ่งปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดินสายพันธุ์ C 18402 กับเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค PD 5602, PD 5301 และ PD 5503 แสดงดังรูปที่ 17, 18 และ 19 ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

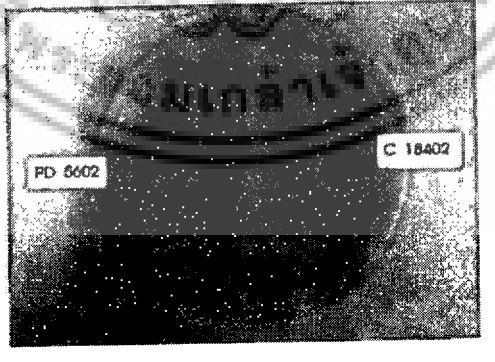
ตารางที่ 9 ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดินสายพันธุ์ C 18402 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคชนิดต่าง ๆ 21 สายพันธุ์

เชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค	เส้นผ่านศูนย์กลางเชื้อราที่แยกได้จากดิน (ซม.)		เส้นผ่านศูนย์กลางเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค (ซม.)		บริเวณยับยั้งของเชื้อราที่แยกได้จากดิน (ซม.)		หมายเหตุ
	วันที่ 4	วันที่ 7	วันที่ 4	วันที่ 7	วันที่ 4	วันที่ 7	
PD 4915	0.7	3.0	1.6	3.0	-	1.8	ไม่พบปฏิสัมพันธ์
PD 5701	1.5	3.6	3.8	5.0	-	0.4	เชื้อราที่แยกได้จากดิน สร้างบริเวณยับยั้ง 0.4 ซม.
PD 5904	1.9	3.3	3.7	5.4	-	0.3	เชื้อราที่แยกได้จากดิน สร้างบริเวณยับยั้ง 0.3 ซม.
PD 5602	2.0	3.5	2.7	4.5	-	0.5	เชื้อราที่แยกได้จากดิน สร้างบริเวณยับยั้ง 0.5 ซม.
PD 4905	2.1	3.3	4.0	5.5	-	0.2	เชื้อราที่แยกได้จากดิน สร้างบริเวณยับยั้ง 0.2 ซม.
PD 4410	1.5	3.0	2.5	4.0	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์
PD 5202	2.0	3.2	4.0	5.5	-	0.3	เชื้อราที่แยกได้จากดิน สร้างบริเวณยับยั้ง 0.4 ซม.
PD 4911	1.5	3.5	2.3	5.1	-	0.4	เชื้อราที่แยกได้จากดิน สร้างบริเวณยับยั้ง 0.3 ซม.
PD 4806	2.3	3.3	3.7	5.5	-	0.2	เชื้อทั้งคู่ยับยั้งซึ่งกันและกันโดยสร้างบริเวณยับยั้ง
PD 4916	0.8	3.0	1.8	3.0	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์
PD 4914	2.0	3.4	3.5	5.2	-	0.4	เชื้อราที่แยกได้จากดิน สร้างบริเวณยับยั้ง 0.4 ซม.
NA 5201	1.8	3.5	2.8	4.5	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์
PD 5102	2.0	3.4	3.0	4.4	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์
NA 5101	3.0	2.7	5.5	6.0	-	0.3	เชื้อราที่แยกได้จากดิน สร้างบริเวณยับยั้ง 0.3 ซม.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

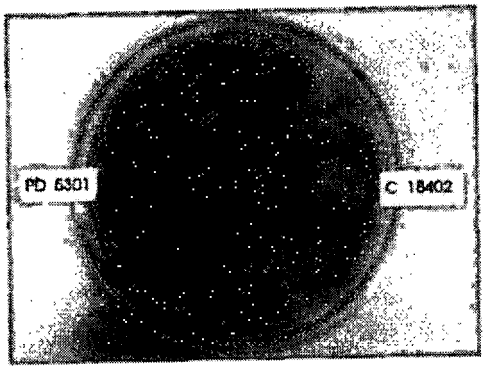
ตารางที่ 9 (ต่อ) ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดินสายพันธุ์ C 18402 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคชนิดต่าง ๆ 21 สายพันธุ์

เชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค	เส้นผ่านศูนย์กลางเชื้อราที่แยกได้จากดิน (ซม.)		เส้นผ่านศูนย์กลางเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค (ซม.)		บริเวณยับยั้งของเชื้อราที่แยกได้จากดิน (ซม.)		หมายเหตุ
	วันที่ 4	วันที่ 7	วันที่ 4	วันที่ 7	วันที่ 4	วันที่ 7	
PD 5301	1.2	2.9	4.4	5.9	-	0.2	เชื้อราที่แยกได้จากดิน สร้างบริเวณยับยั้ง 0.2 ซม.
PD 4903	1.9	3.0	3.7	5.8	-	0.2	เชื้อราที่แยกได้จากดิน สร้างบริเวณยับยั้ง 0.2 ซม.
PD 5503	2.0	2.9	3.9	5.6	-	0.2	เชื้อทั้งคู่ยับยั้งซึ่งกันและกันโดยสร้างบริเวณยับยั้ง
PD 4913	2.4	3.7	3.1	5.1	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์.
PD 4920	1.9	3.2	3.4	5.2	-	0.6	เชื้อทั้งคู่ยับยั้งซึ่งกันและกันโดยสร้างบริเวณยับยั้ง
PD 4412	2.2	3.4	3.7	5.2	-	0.4	เชื้อราที่แยกได้จากดิน สร้างบริเวณยับยั้ง 0.4 ซม.
PD 5401	2.1	3.4	3.7	5.4	-	0.2	เชื้อทั้งคู่ยับยั้งซึ่งกันและกันโดยสร้างบริเวณยับยั้ง

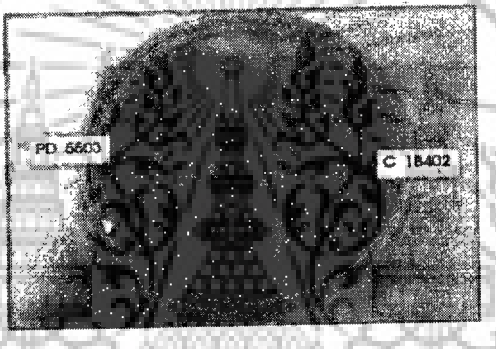


รูปที่ 17 ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดิน C 18402 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค PD 5602 ซึ่งเชื้อราที่แยกได้จากดินสร้างบริเวณยับยั้ง 0.5 เซนติเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 18 ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดิน C 18402 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค PD 5301 ซึ่งเชื้อราที่แยกได้จากดินสร้างบริเวณยับยั้ง 0.2 เซนติเมตร



รูปที่ 19 ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดิน C 18402 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค PD 5503 ซึ่งเชื้อทั้งคู่ยับยั้งซึ่งกันและกันโดยสร้างบริเวณยับยั้ง

จากการทดสอบปฏิสัมพันธ์ของเชื้อราที่แยกได้จากดิน M 14303 ที่สร้างทั้งเอนไซม์ไคติเนสและโปรติเอสกับเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคชนิดต่าง ๆ 23 สายพันธุ์ พบว่า เชื้อราที่แยกได้จากดิน M 14303 สามารถยับยั้งเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคได้โดยเชื้อราที่แยกได้จากดินมีกลไกควบคุมเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค ในลักษณะการทำลายชีวิต โดยเชื้อราที่แยกได้จากดินสร้างวงใส ซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคสายพันธุ์ PD 4922 ได้สูงสุด ให้ขนาดวงใสมากที่สุด เท่ากับ 1.1 เซนติเมตร รองลงมาคือ PD 4911, PD 5503 ให้ขนาดวงใสเท่ากับ 0.3 เซนติเมตร แสดงดังตารางที่ 10 ซึ่งปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดินสายพันธุ์ M 14303 กับเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค PD 4915, PD 4918 และ PD 5902 แสดงดังรูปที่ 20, 21 และ 22 ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 10 ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดินสายพันธุ์ M 14303 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคชนิดต่าง ๆ 23 สายพันธุ์

เชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค	เส้นผ่านศูนย์กลางเชื้อราที่แยกได้จากดิน (ซม.)		เส้นผ่านศูนย์กลางเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค (ซม.)		บริเวณยับยั้งของเชื้อราที่แยกได้จากดิน (ซม.)		หมายเหตุ
	วันที่ 4	วันที่ 7	วันที่ 4	วันที่ 7	วันที่ 4	วันที่ 7	
PD 4915	1.3	2.0	3.5	6.0	-	0.1	เชื้อราที่แยกได้จากดิน สร้างบริเวณยับยั้ง 0.1 ซม.
PD 5701	1.9	3.5	2.4	4.2	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์
PD 5904	0.3	2.2	1.8	3.0	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์
PD 5602	1.5	2.5	2.5	3.8	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์
PD 4905	1.5	3.0	3.2	5.0	-	0.2	เชื้อทั้งคู่ยับยั้งซึ่งกันและกันโดยสร้างบริเวณยับยั้ง
PD 4410	0.6	2.5	2.5	4.2	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์
PD 5202	2.0	3.0	3.0	4.5	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์
PD 4911	2.2	3.0	4.1	5.1	-	0.3	เชื้อราที่แยกได้จากดิน สร้างบริเวณยับยั้ง 0.3 ซม.
PD 4806	0.5	1.0	2.0	3.5	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์
PD 4916	0.8	3.0	3.1	4.5	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์
PD 4914	2.0	3.5	3.3	5.1	-	0.4	เชื้อทั้งคู่ยับยั้งซึ่งกันและกันโดยสร้างบริเวณยับยั้ง
NA 5201	2.4	3.5	3.7	5.5	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์
PD 5102	0.5	1.7	3.2	5.0	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์
NA 5101	1.2	2.0	2.6	5.0	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์
PD 5301	1.1	2.0	1.9	4.0	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์
PD 5003	1.2	2.0	3.1	4.5	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์
PD 5503	2.9	3.0	4.8	5.1	-	0.3	เชื้อราที่แยกได้จากดิน สร้างบริเวณยับยั้ง 0.3 ซม.
PD 4918	0.4	2.5	3.1	5.5	-	0.1	เชื้อราที่แยกได้จากดิน สร้างบริเวณยับยั้ง 0.1 ซม.

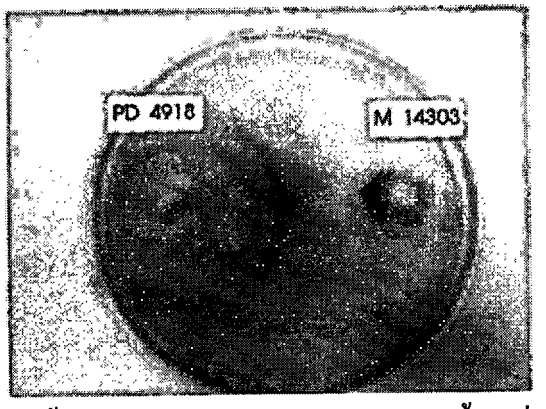
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 10 (ต่อ) ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดินสายพันธุ์ M 14303 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคชนิดต่าง ๆ 23 สายพันธุ์

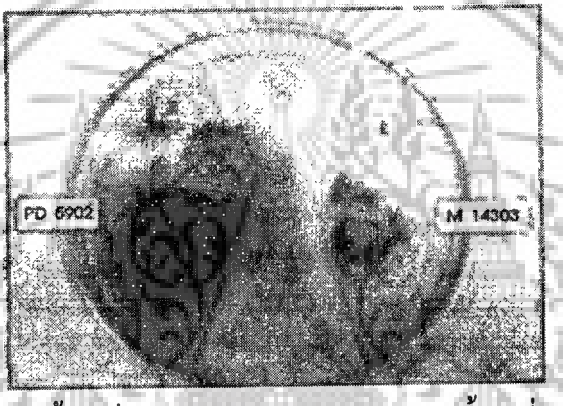
เชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค	เส้นผ่านศูนย์กลางเชื้อราที่แยกได้จากดิน (ซม.)		เส้นผ่านศูนย์กลางเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค (ซม.)		บริเวณยับยั้งของเชื้อราที่แยกได้จากดิน (ซม.)		หมายเหตุ
	วันที่ 4	วันที่ 7	วันที่ 4	วันที่ 7	วันที่ 4	วันที่ 7	
PD 4913	1.5	2.0	2.9	4.0	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์
PD 5902	1.1	2.5	3.2	4.5	-	0.1	เชื้อปฏิปักษ์สร้าง บริเวณยับยั้ง 0.1 ซม.
PD 4922	2.8	3.1	3.8	4.4	0.8	1.1	เชื้อราที่แยกได้จากดิน สร้างบริเวณยับยั้ง 1.1 ซม.
PD 5004	3.0	3.5	3.8	4.0	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์
PD 4908	2.5	2.8	5.0	5.5	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์

รูปที่ 20 ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดิน M 14303 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค PD 4915 ซึ่งเชื้อราที่แยกได้จากดินสร้างบริเวณยับยั้ง 0.1 เซนติเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 21 ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดิน M 14303 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค PD 4918 ซึ่งเชื้อราที่แยกได้จากดินสร้างบริเวณยับยั้ง 0.1 เซนติเมตร



รูปที่ 22 ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดิน M 14303 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค PD 5902 ซึ่งเชื้อราที่แยกได้จากดินสร้างบริเวณยับยั้ง 0.1 เซนติเมตร

จากการทดสอบปฏิสัมพันธ์ของเชื้อราที่แยกได้จากดิน C 18404 ที่สร้างทั้งเอนไซม์ไคติเนสและโปรติเอสกับเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคชนิดต่าง ๆ 21 สายพันธุ์ พบว่าเชื้อราที่แยกได้จากดิน C 18404 สามารถยับยั้งเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคได้โดยเชื้อราที่แยกได้จากดินมีกลไกควบคุมเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค ในลักษณะการทำลายชีวิต โดยเชื้อราที่แยกได้จากดินสร้างวงใส ซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคสายพันธุ์ PD 4913 ได้สูงสุด ให้ขนาดวงใสมากที่สุด เท่ากับ 0.6 เซนติเมตร รองลงมาคือ PD 4905ให้ขนาดวงใสเท่ากับ 0.5 เซนติเมตร แสดงดังตารางที่ 11 ซึ่งปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดินสายพันธุ์ C 18404 กับเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค PD 5904, PD 4905 และ PD 4921 แสดงดังรูปที่ 23, 24 และ 25 ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

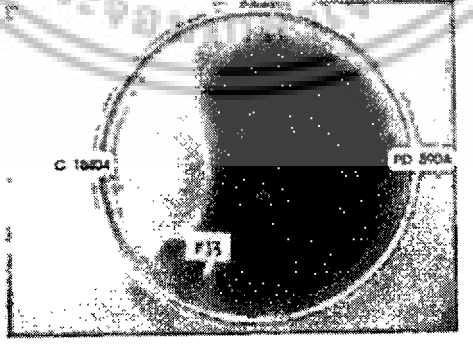
ตารางที่ 11 ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดินสายพันธุ์ C 18404 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคชนิดต่าง ๆ 21 สายพันธุ์

เชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค	เส้นผ่านศูนย์กลางเชื้อราที่แยกได้จากดิน (ซม.)		เส้นผ่านศูนย์กลางเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค (ซม.)		บริเวณยับยั้งของเชื้อราที่แยกได้จากดิน (ซม.)		หมายเหตุ
	วันที่ 4	วันที่ 7	วันที่ 4	วันที่ 7	วันที่ 4	วันที่ 7	
PD 4915	1.0	4.0	2.4	4.9	-	0.1	เชื้อราที่แยกได้จากดิน สร้างบริเวณยับยั้ง 0.1 ซม.
PD 5701	0.6	2.5	2.6	3.5	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์
PD 5904	0.6	3.0	1.4	5.7	-	0.3	เชื้อราที่แยกได้จากดิน สร้างบริเวณยับยั้ง 0.3 ซม.
PD 5602	2.9	5.0	2.5	4.0	-	-	เชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคมีแนวโน้มเจริญทับเชื้อราที่แยกได้จากดิน
PD 4905	1.6	3.7	3.2	4.8	-	0.5	เชื้อราที่แยกได้จากดิน สร้างบริเวณยับยั้ง 0.5 ซม.
PD 4410	0.9	3.0	2.2	4.0	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์
PD 5202	1.0	3.5	2.3	4.0	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์
PD 4806	1.3	3.0	3.3	5.5	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์
PD 4916	2.8	3.3	3.2	5.3	-	0.4	เชื้อทั้งคู่ยับยั้งซึ่งกันและกันโดยสร้างบริเวณยับยั้ง
PD 4914	0.4	2.5	2.1	3.5	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์
NA 5201	0.8	3.0	3.2	5.5	-	0.5	เชื้อราที่แยกได้จากดิน สร้างบริเวณยับยั้ง 0.5 ซม.
PD 5102	1.6	3.5	3.2	4.5	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์
NA 5101	1.5	3.5	2.8	5.4	-	0.1	เชื้อราที่แยกได้จากดิน สร้างบริเวณยับยั้ง 0.1 ซม.
PD 6101	0.9	2.9	3.1	4.5	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

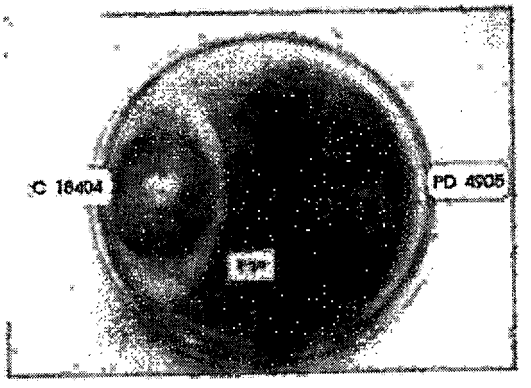
ตารางที่ 11 (ต่อ) ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดินสายพันธุ์ C 18404 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคชนิดต่าง ๆ 21 สายพันธุ์

เชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค	เส้นผ่านศูนย์กลางเชื้อราที่แยกได้จากดิน (ซม.)		เส้นผ่านศูนย์กลางเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค (ซม.)		บริเวณยับยั้งของเชื้อราที่แยกได้จากดิน (ซม.)		หมายเหตุ
	วันที่ 4	วันที่ 7	วันที่ 4	วันที่ 7	วันที่ 4	วันที่ 7	
PD 5301	1.5	3.6	2.8	5.0	-	0.4	เชื้อราที่แยกได้จากดิน สร้างบริเวณยับยั้ง 0.4 ซม.
PD 4921	2.1	3.2	2.8	5.2	-	0.4	เชื้อทั้งคู่ยับยั้งซึ่งกันและกันโดยสร้างบริเวณยับยั้ง
PD 5503	1.6	3.2	2.8	5.5	-	0.3	เชื้อราที่แยกได้จากดิน สร้างบริเวณยับยั้ง 0.3 ซม.
PD 4918	1.2	3.0	3.3	5.5	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์
PD 4913	1.5	3.0	3.2	5.4	-	0.6	เชื้อราที่แยกได้จากดิน สร้างบริเวณยับยั้ง 0.6 ซม.
PD 4920	1.9	3.3	2.8	5.5	-	0.2	เชื้อทั้งคู่ยับยั้งซึ่งกันและกันโดยสร้างบริเวณยับยั้ง
PD 4908	1.9	3.6	3.1	5.2	-	0.2	เชื้อทั้งคู่ยับยั้งซึ่งกันและกันโดยสร้างบริเวณยับยั้ง

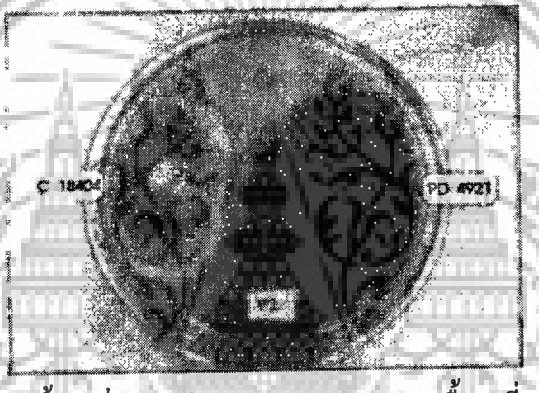


รูปที่ 23 ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดิน C 18404 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค PD 5904 ซึ่งเชื้อราที่แยกได้จากดินสร้างบริเวณยับยั้ง 0.3 เซนติเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 24 ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดิน C 18404 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค PD 4905 ซึ่งเชื้อราที่แยกได้จากดินสร้างบริเวณยับยั้ง 0.5 เซนติเมตร



รูปที่ 25 ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดิน C 18404 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค PD 4921 ซึ่งเชื้อทั้งคู่ยับยั้งซึ่งกันและกันโดยสร้างบริเวณยับยั้ง

จากการทดสอบปฏิสัมพันธ์ของเชื้อราที่แยกได้จากดิน C 15305 ที่สร้างทั้งเอนไซม์ไคติเนส และโปรติเอสกับเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคชนิดต่าง ๆ 16 สายพันธุ์ พบว่าเชื้อราที่แยกได้จากดิน C 15305 สามารถยับยั้งเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคได้โดยเชื้อราที่แยกได้จากดินมีกลไกควบคุมเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค ในลักษณะการทำลายชีวิต โดยเชื้อราที่แยกได้จากดินสร้างวงใส ซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคสายพันธุ์ PD 4410 และ PD 5003 ได้สูงสุด ให้ขนาดวงใสมากที่สุดเท่ากับ 0.3 เซนติเมตร รองลงมาคือ PD 4915, PD 5701, PD 5202 และ PD 6101ให้ขนาดวงใสเท่ากับ 0.2 เซนติเมตร แสดงดังตารางที่ 12 ซึ่งปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดินสายพันธุ์ C 15305 กับเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค PD 4914, PD 6101 และ PD 5801 แสดงดังรูปที่ 26, 27 และ 28 ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

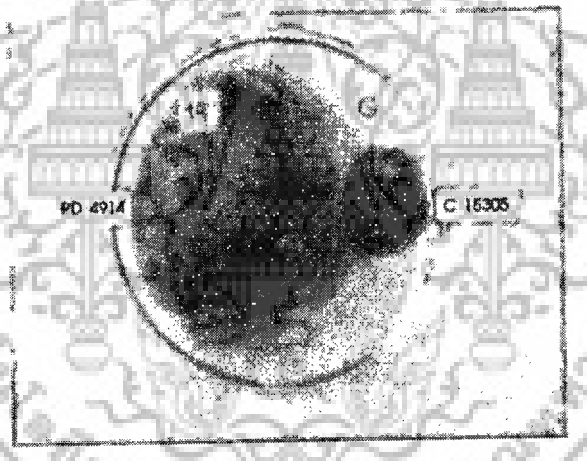
ตารางที่ 12 ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดินสายพันธุ์ C 15305 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคชนิดต่าง ๆ 16 สายพันธุ์

เชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค	เส้นผ่านศูนย์กลางเชื้อราที่แยกได้จากดิน (ซม.)		เส้นผ่านศูนย์กลางเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค (ซม.)		บริเวณยับยั้งของเชื้อราที่แยกได้จากดิน (ซม.)		หมายเหตุ
	วันที่ 4	วันที่ 7	วันที่ 4	วันที่ 7	วันที่ 4	วันที่ 7	
PD 4915	1.1	2.6	2.9	6.2	0.7	0.2	เชื้อราที่แยกได้จากดิน สร้างบริเวณยับยั้ง 0.2 ซม.
PD 5701	0.3	2.6	3.0	6.2	-	0.2	เชื้อราที่แยกได้จากดิน สร้างบริเวณยับยั้ง 0.2 ซม.
PD 5904	0.6	2.5	2.3	4.2	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์
PD 5602	1.6	3.5	3.0	5.0	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์
PD 4905	0.9	3.0	2.7	5.9	-	0.1	เชื้อราที่แยกได้จากดิน สร้างบริเวณยับยั้ง 0.1 ซม.
PD 4410	0.9	2.7	1.7	6.0	-	0.3	เชื้อราที่แยกได้จากดิน สร้างบริเวณยับยั้ง 0.3 ซม.
PD 5202	0.5	2.8	2.2	6.0	0.3	0.2	เชื้อราที่แยกได้จากดิน สร้างบริเวณยับยั้ง 0.2 ซม.
PD 4911	0.6	3.5	2.5	3.5	0.4	-	เชื้อทั้งคู่ยับยั้งซึ่งกันและกันโดยสร้างบริเวณยับยั้ง
PD 4806	0.3	2.0	2.4	3.5	-	0.1	เชื้อราที่แยกได้จากดิน สร้างบริเวณยับยั้ง 0.1 ซม.
PD 4916	0.3	1.0	2.5	4.0	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์
PD 4914	1.2	3.1	2.9	5.8	-	0.1	เชื้อราที่แยกได้จากดิน สร้างบริเวณยับยั้ง 0.1 ซม.
NA 5201	0.3	2.0	1.9	3.5	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์
PD 6101	2.7	3.1	4.3	5.7	0.5	0.2	เชื้อราที่แยกได้จากดิน สร้างบริเวณยับยั้ง 0.1 ซม.
PD 5301	1.1	1.4	3.1	3.8	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

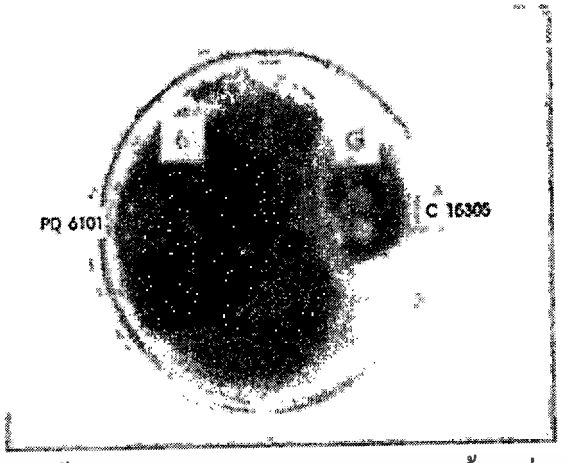
ตารางที่ 12 (ต่อ) ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดินสายพันธุ์ C 15305 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคชนิดต่าง ๆ 16 สายพันธุ์

เชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค	เส้นผ่านศูนย์กลางเชื้อราที่แยกได้จากดิน (ซม.)		เส้นผ่านศูนย์กลางเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค (ซม.)		บริเวณยับยั้งของเชื้อราที่แยกได้จากดิน (ซม.)		หมายเหตุ
	วันที่ 4	วันที่ 7	วันที่ 4	วันที่ 7	วันที่ 4	วันที่ 7	
PD 5003	2.2	2.8	4.0	5.9	0.6	0.3	เชื้อราที่แยกได้จากดิน สร้างบริเวณยับยั้ง 0.3 ซม.
PD 5801	2.9	3.1	4.1	5.8	-	0.1	เชื้อราที่แยกได้จากดิน สร้างบริเวณยับยั้ง 0.1 ซม.



รูปที่ 26 ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดิน C 15305 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค PD 4914 ซึ่งเชื้อราที่แยกได้จากดินสร้างบริเวณยับยั้ง 0.1 เซนติเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 27 ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดิน C 15305 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค PD 6101 ซึ่งเชื้อราที่แยกได้จากดินสร้างบริเวณยับยั้ง 0.2 เซนติเมตร

รูปที่ 28 ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดิน C 15305 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค PD 5801 ซึ่งเชื้อราที่แยกได้จากดินสร้างบริเวณยับยั้ง 0.1 เซนติเมตร

จากการทดสอบปฏิสัมพันธ์ของเชื้อราที่แยกได้จากดิน C 15304 ที่สร้างทั้งเอนไซม์ไคติเนสและโปรติเอสกับเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคชนิดต่าง ๆ 21 สายพันธุ์ พบว่าเชื้อราที่แยกได้จากดิน C 15304 สามารถยับยั้งเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคได้โดยเชื้อราที่แยกได้จากดินมีกลไกควบคุมเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค ในลักษณะการทำลายชีวิต โดยเชื้อราที่แยกได้จากดินสร้างวงใส ซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคสายพันธุ์ PD 4905, PD 5102 และ PD 5003 ได้สูงสุด ให้ขนาดวงใสมากที่สุด เท่ากับ 0.5 เซนติเมตร รองลงมาคือ PD 4921 ให้ขนาดวงใสเท่ากับ 0.4 เซนติเมตร แสดงดังตารางที่ 13 ซึ่งปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดินสายพันธุ์ C 15304 กับเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค PD 5102, PD 6101 และ PD 5801 แสดงดังรูปที่ 29, 30 และ 31 ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

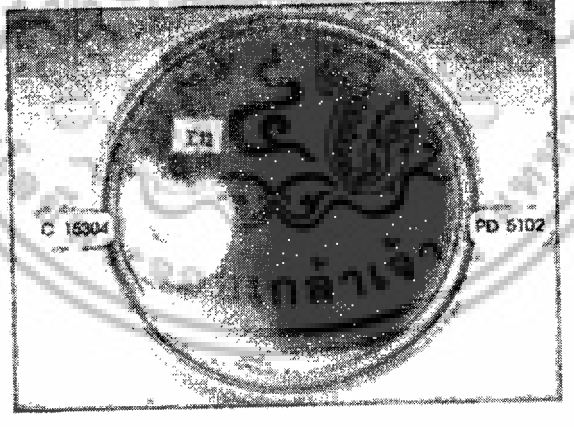
ตารางที่ 13 ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดินสายพันธุ์ C 15304 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคชนิดต่าง ๆ 21 สายพันธุ์

เชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค	เส้นผ่านศูนย์กลางเชื้อราที่แยกได้จากดิน (ซม.)		เส้นผ่านศูนย์กลางเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค (ซม.)		บริเวณยับยั้งของเชื้อราที่แยกได้จากดิน (ซม.)		หมายเหตุ
	วันที่ 4	วันที่ 7	วันที่ 4	วันที่ 7	วันที่ 4	วันที่ 7	
PD 4915	1.2	3.3	5.0	5.5	0.8	0.2	เชื้อราที่แยกได้จากดิน สร้างบริเวณยับยั้ง 0.2 ซม.
PD 5701	0.6	2.3	4.5	4.6	-	0.3	เชื้อราที่แยกได้จากดิน สร้างบริเวณยับยั้ง 0.3 ซม.
PD 5904	1.8	2.7	4.4	6.0	-	0.3	เชื้อราที่แยกได้จากดิน สร้างบริเวณยับยั้ง 0.3 ซม.
PD 5602	1.1	1.8	4.0	4.4	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์
PD 4905	2.2	2.7	5.4	5.8	-	0.5	เชื้อราที่แยกได้จากดิน สร้างบริเวณยับยั้ง 0.5 ซม.
PD 4410	2.5	3.4	4.7	5.3	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์
PD 5202	0.9	2.3	3.8	4.7	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์
PD 4911	1.3	2.5	3.7	4.0	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์
PD 5102	1.0	3.1	3.2	5.4	-	0.5	เชื้อราที่แยกได้จากดิน สร้างบริเวณยับยั้ง 0.5 ซม.
NA 5101	1.7	2.3	0.3	6.4	-	0.3	เชื้อราที่แยกได้จากดิน สร้างบริเวณยับยั้ง 0.3 ซม.
PD 6101	1.0	2.5	3.8	6.2	-	0.3	เชื้อราที่แยกได้จากดิน สร้างบริเวณยับยั้ง 0.3 ซม.
PD 5301	1.3	2.0	6.2	6.6	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์
PD 4921	1.3	3.3	2.5	5.3	-	0.4	เชื้อราที่แยกได้จากดิน สร้างบริเวณยับยั้ง 0.4 ซม.
PD 5003	1.3	2.9	3.2	5.6	-	0.5	เชื้อราที่แยกได้จากดิน สร้างบริเวณยับยั้ง 0.5 ซม.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

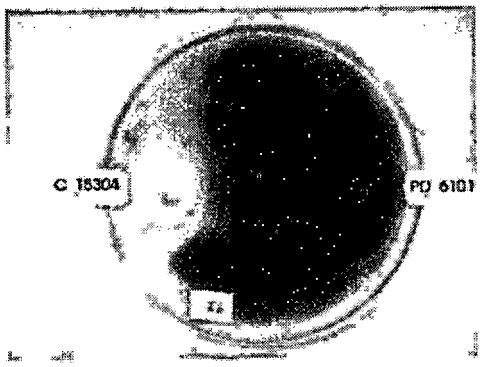
ตารางที่ 13 (ต่อ) ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดินสายพันธุ์ C 15304 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคชนิดต่าง ๆ 21 สายพันธุ์

เชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค	เส้นผ่านศูนย์กลางเชื้อราที่แยกได้จากดิน (ซม.)		เส้นผ่านศูนย์กลางเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค (ซม.)		บริเวณยับยั้งของเชื้อราที่แยกได้จากดิน (ซม.)		หมายเหตุ
	วันที่ 4	วันที่ 7	วันที่ 4	วันที่ 7	วันที่ 4	วันที่ 7	
PD 4903	2.2	3.3	5.5	5.6	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์
PD 5503	1.4	2.7	4.0	5.4	-	0.3	เชื้อราที่แยกได้จากดิน สร้างบริเวณยับยั้ง 0.3 ซม.
PD 5801	2.1	3.1	5.1	5.8	0.7	0.1	เชื้อราที่แยกได้จากดิน สร้างบริเวณยับยั้ง 0.1 ซม.
PD 4922	1.4	2.1	4.8	5.2	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์
PD 5004	2.0	3.0	4.7	5.3	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์
PD 4908	1.8	2.5	4.8	5.2	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์
PD 4412	1.7	2.3	4.7	4.8	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์

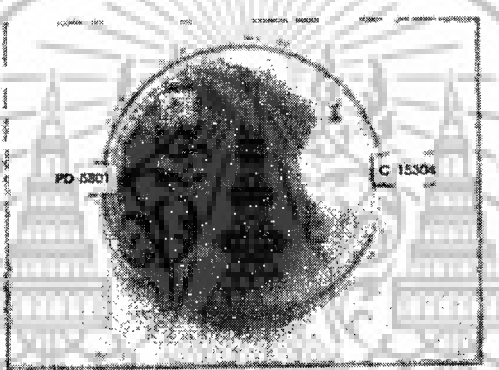


รูปที่ 29 ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดิน C 15304 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค PD 5102 ซึ่งเชื้อราที่แยกได้จากดินสร้างบริเวณยับยั้ง 0.5 เซนติเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 30 ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดิน C 15304 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค PD 6101 ซึ่งเชื้อราที่แยกได้จากดินสร้างบริเวณยับยั้ง 0.3 เซนติเมตร



รูปที่ 31 ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดิน C 15304 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค PD 5801 ซึ่งเชื้อราที่แยกได้จากดินสร้างบริเวณยับยั้ง 0.1 เซนติเมตร

จากการทดสอบปฏิสัมพันธ์ของเชื้อราที่แยกได้จากดิน C 14507 ที่สร้างทั้งเอนไซม์ไคติเนสและโปรติเอสกับเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคชนิดต่าง ๆ 19 สายพันธุ์ พบว่าเชื้อราที่แยกได้จากดิน C 14507 สามารถยับยั้งเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคได้โดยเชื้อราที่แยกได้จากดินมีกลไกควบคุมเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค ในลักษณะการทำลายชีวิต โดยเชื้อราที่แยกได้จากดินสร้างวงใส ซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคสายพันธุ์ PD 5602, PD 5301 และ PD 4903 ได้สูงสุด ให้ขนาดวงใสมากที่สุด เท่ากับ 0.5 เซนติเมตร รองลงมาคือ PD 5201 และ PD 4913 ให้ขนาดวงใสเท่ากับ 0.4 เซนติเมตร แสดงดังตารางที่ 14 ซึ่งปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดินสายพันธุ์ C 14507 กับเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค PD 4911, PD 4806 และ PD 4903 แสดงดังรูปที่ 32, 33 และ 34 ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

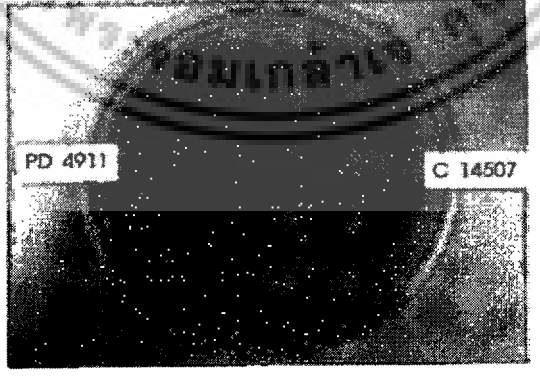
ตารางที่ 14 ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดินสายพันธุ์ C 14507 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคชนิดต่าง ๆ 19 สายพันธุ์

เชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค	เส้นผ่านศูนย์กลางเชื้อราที่แยกได้จากดิน (ซม.)		เส้นผ่านศูนย์กลางเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค (ซม.)		บริเวณยับยั้งของเชื้อราที่แยกได้จากดิน (ซม.)		หมายเหตุ
	วันที่ 4	วันที่ 7	วันที่ 4	วันที่ 7	วันที่ 4	วันที่ 7	
PD 4915	1.6	3.2	1.9	2.2	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์
PD 5701	1.6	3.6	3.5	5.1	-	0.3	เชื้อราที่แยกได้จากดิน สร้างบริเวณยับยั้ง 0.3 ซม.
PD 5904	2.1	3.6	3.5	5.3	-	0.1	เชื้อราที่แยกได้จากดิน สร้างบริเวณยับยั้ง 0.1 ซม.
PD 5602	1.7	3.3	3.3	5.2	-	0.5	เชื้อราที่แยกได้จากดิน สร้างบริเวณยับยั้ง 0.5 ซม.
Pd 4905	1.8	3.0	3.7	5.5	-	0.2	เชื้อราที่แยกได้จากดิน สร้างบริเวณยับยั้ง 0.2 ซม.
PD 4410	2.2	4.1	3.2	4.5	-	0.4	เชื้อทั้งคู่ยับยั้งซึ่งกันและกัน โดยสร้างบริเวณยับยั้ง
PD 5202	1.5	3.2	3.3	5.6	-	0.2	เชื้อราที่แยกได้จากดิน สร้างบริเวณยับยั้ง 0.2 ซม.
PD 4911	1.7	3.5	3.4	5.2	-	0.3	เชื้อราที่แยกได้จากดิน สร้างบริเวณยับยั้ง 0.3 ซม.
PD 4806	1.8	3.0	3.5	5.6	-	0.4	เชื้อทั้งคู่ยับยั้งซึ่งกันและกัน โดยสร้างบริเวณยับยั้ง
PD 4916	2.0	3.5	3.3	5.1	-	0.4	เชื้อทั้งคู่ยับยั้งซึ่งกันและกัน โดยสร้างบริเวณยับยั้ง
PD 4914	1.3	3.0	2.9	4.8	-	0.1	เชื้อราที่แยกได้จากดิน สร้างบริเวณยับยั้ง 0.1 ซม.
NA 5201	1.5	3.6	3.2	5.0	-	0.4	เชื้อราที่แยกได้จากดิน สร้างบริเวณยับยั้ง 0.4 ซม.
PD 5102	1.5	2.9	3.0	4.6	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

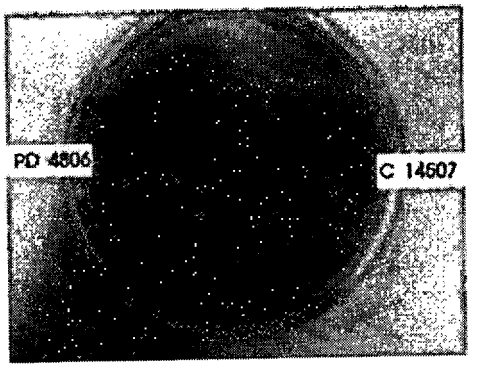
ตารางที่ 14 (ต่อ) ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดินสายพันธุ์ C 14507 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคชนิดต่าง ๆ 19 สายพันธุ์

เชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค	เส้นผ่านศูนย์กลางเชื้อราที่แยกได้จากดิน (ซม.)		เส้นผ่านศูนย์กลางเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค (ซม.)		บริเวณยับยั้งของเชื้อราที่แยกได้จากดิน (ซม.)		หมายเหตุ
	วันที่ 4	วันที่ 7	วันที่ 4	วันที่ 7	วันที่ 4	วันที่ 7	
NA 5101	1.7	3.2	4.2	5.5	-	0.3	เชื้อราที่แยกได้จากดิน สร้างบริเวณยับยั้ง 0.3 ซม.
PD 5301	1.3	3.8	3.9	4.7	-	0.5	เชื้อราที่แยกได้จากดิน สร้างบริเวณยับยั้ง 0.5 ซม.
PD 4903	2.0	3.2	3.6	5.3	-	0.5	เชื้อราที่แยกได้จากดิน สร้างบริเวณยับยั้ง 0.5 ซม.
PD 5503	0.8	3.9	3.0	4.8	-	0.3	เชื้อราที่แยกได้จากดิน สร้างบริเวณยับยั้ง 0.3 ซม.
PD 4918	1.7	3.2	2.8	4.3	-	0.1	เชื้อราที่แยกได้จากดิน สร้างบริเวณยับยั้ง 0.1 ซม.
PD 4913	1.5	3.3	3.0	5.3	-	0.4	เชื้อราที่แยกได้จากดิน สร้างบริเวณยับยั้ง 0.4 ซม.

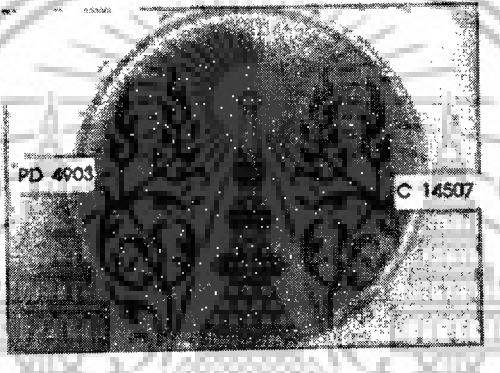


รูปที่ 32 ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดิน C 14507 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค PD 4911 ซึ่งเชื้อราที่แยกได้จากดินสร้างบริเวณยับยั้ง 0.3 เซนติเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 33 ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดิน C 14507 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค PD 4806 ซึ่งเชื้อทั้งคู่ยับยั้งซึ่งกันและกันโดยสร้างบริเวณยับยั้ง



รูปที่ 34 ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดิน C 14507 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค PD 4903 ซึ่งเชื้อราที่แยกได้จากดินสร้างบริเวณยับยั้ง 0.5 เซนติเมตร

จากการทดสอบปฏิสัมพันธ์ของเชื้อรา *Chaetomium globosum* TISTR 3093 จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์ ที่สร้างทั้งเอนไซม์ไคติเนส และโปรติเอสกับเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคชนิดต่าง ๆ 29 สายพันธุ์ พบว่าเชื้อราสายพันธุ์นี้ สามารถยับยั้งเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคได้ โดยมีกลไกควบคุมเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค ในลักษณะการทำลายชีวิต โดยสร้างวงใสซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคสายพันธุ์ PD 5904 และ PD 4903 ได้สูงสุด ให้ขนาดวงใสมากที่สุด เท่ากับ 1.0 เซนติเมตร รองลงมาคือ PD 4908 ให้ขนาดวงใสเท่ากับ 0.9 เซนติเมตร แสดงดังตารางที่ 15 ซึ่งปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราสายพันธุ์ *Chaetomium globosum* TISTR 3093 กับเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค PD 5904, NA 5102 และ PD 5301 แสดงดังรูปที่ 35, 36 และ 37 ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 15 ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราสายพันธุ์ *Chaetomium globosum* TISTR 3093 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคชนิดต่าง ๆ 29 สายพันธุ์

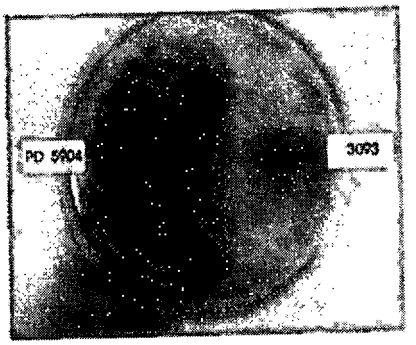
เชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค	เส้นผ่านศูนย์กลางเชื้อราที่แยกได้จากดิน (ซม.)		เส้นผ่านศูนย์กลางเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค (ซม.)		บริเวณยับยั้งของเชื้อราที่แยกได้จากดิน (ซม.)		หมายเหตุ
	วันที่ 4	วันที่ 7	วันที่ 4	วันที่ 7	วันที่ 4	วันที่ 7	
PD 4915	1.1	2.7	4.4	6.0	-	0.3	เชื้อราที่แยกได้จากดิน สร้างบริเวณยับยั้ง 0.3 ซม.
PD 5701	1.2	2.7	3.8	5.4	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์
PD 5904	1.0	3.2	3.4	4.8	-	1.0	เชื้อราที่แยกได้จากดิน สร้างบริเวณยับยั้ง 1.0 ซม.
PD 5602	0.8	2.0	3.2	5.6	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์
PD 4905	1.0	2.7	3.7	6.0	-	0.3	เชื้อราที่แยกได้จากดิน สร้างบริเวณยับยั้ง 0.3 ซม.
PD 4410	1.0	2.4	3.0	6.5	-	0.1	เชื้อราที่แยกได้จากดิน สร้างบริเวณยับยั้ง 1.0 ซม.
PD 5202	0.9	2.4	4.0	6.3	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์
PD 4911	1.2	3.4	3.4	5.6	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์
PD 4806	0.9	2.6	3.2	6.0	0.3	0.4	เชื้อราที่แยกได้จากดิน สร้างบริเวณยับยั้ง 0.4 ซม.
PD 4916	0.9	2.8	3.2	5.4	-	0.8	เชื้อราที่แยกได้จากดิน สร้างบริเวณยับยั้ง 0.8 ซม.
PD 4914	1.7	3.3	3.2	5.1	-	0.6	เชื้อราที่แยกได้จากดิน สร้างบริเวณยับยั้ง 0.6 ซม.
NA 5201	0.8	2.0	4.4	6.0	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์
PD 5102	1.5	2.8	3.8	4.9	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์
NA 5101	1.2	2.6	4.0	5.5	-	0.5	เชื้อราที่แยกได้จากดิน สร้างบริเวณยับยั้ง 0.5 ซม.
PD 5301	1.3	2.6	4.8	6.1	-	0.3	เชื้อราที่แยกได้จากดิน สร้างบริเวณยับยั้ง 0.3 ซม.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

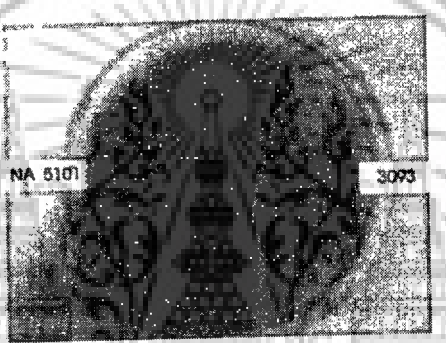
ตารางที่ 15 (ต่อ) ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราสายพันธุ์ *Chaetomium globosum* TISTR 3093 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคชนิดต่าง ๆ 29 สายพันธุ์

เชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค	เส้นผ่านศูนย์กลางเชื้อราที่แยกได้จากดิน (ซม.)		เส้นผ่านศูนย์กลางเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค (ซม.)		บริเวณยับยั้งของเชื้อราที่แยกได้จากดิน (ซม.)		หมายเหตุ
	วันที่ 4	วันที่ 7	วันที่ 4	วันที่ 7	วันที่ 4	วันที่ 7	
PD 6101	1.0	2.8	4.3	5.7	-	0.5	เชื้อราที่แยกได้จากดิน สร้างบริเวณยับยั้ง 0.5 ซม.
PD 4921	1.0	1.5	3.3	4.8	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์
PD 5003	1.0	2.4	4.2	5.4	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์
PD 4903	1.0	2.6	3.9	5.4	-	1.0	เชื้อราที่แยกได้จากดิน สร้างบริเวณยับยั้ง 1.0 ซม.
PD 5503	1.0	3.0	3.9	5.5	-	0.5	เชื้อราที่แยกได้จากดิน สร้างบริเวณยับยั้ง 0.5 ซม.
PD 4918	1.2	1.0	2.8	4.6	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์
PD 4913	0.9	3.1	3.0	5.9	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์
PD 4920	0.9	2.4	3.3	4.7	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์
PD 5801	2.0	3.5	4.0	5.5	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์
PD 5902	1.3	2.4	4.0	4.9	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์
PD 4922	1.4	2.2	3.5	5.2	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์
PD 5004	1.0	2.8	2.9	4.1	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์
PD 4908	1.5	3.0	3.8	5.1	-	0.9	เชื้อราที่แยกได้จากดิน สร้างบริเวณยับยั้ง 0.9 ซม.
PD 5101	0.8	2.5	2.8	5.9	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 35 ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อรา *Chaetomium globosum* TISTR 3093 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค PD 5904 ซึ่งเชื้อรา *C. globosum* TISTR 3093 สร้างบริเวณยับยั้ง 1.0 เซนติเมตร



รูปที่ 36 ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อรา *Chaetomium globosum* TISTR 3093 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค NA 5101 ซึ่งเชื้อรา *C. globosum* TISTR 3093 สร้างบริเวณยับยั้ง 0.5 เซนติเมตร

รูปที่ 37 ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อรา *Chaetomium globosum* TISTR 3093 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค PD 5301 ซึ่งเชื้อรา *C. globosum* TISTR 3093 สร้างบริเวณยับยั้ง 0.3 เซนติเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการทดสอบปฏิสัมพันธ์ของเชื้อรา *Acremonium sp.* TISTR 3283 จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์ ที่สร้างทั้งเอนไซม์ไคติเนส และโปรติเอสกับเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคชนิดต่าง ๆ 24 สายพันธุ์ พบว่าเชื้อราสายพันธุ์นี้ สามารถยับยั้งเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคได้ โดยมีกลไกควบคุมเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค ในลักษณะการแข่งขันและทำลายชีวิต โดยจะเจริญล้ำเข้าไปในเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคคล้ายการเจริญทับเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค ซึ่งเชื้อราสายพันธุ์นี้เจริญล้ำเข้าไปในเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคสายพันธุ์ PD 5102 มากที่สุด เป็นระยะเท่ากับ 0.5 เซนติเมตร และในลักษณะการทำลายชีวิต โดยสร้างวงใส ซึ่งสามารถยับยั้งเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคสายพันธุ์ PD 4914 ได้สูงสุด ให้ขนาดวงใสมากที่สุด เท่ากับ 0.3 เซนติเมตร รองลงมา คือ PD 5701, PD 5202, PD 4806 และ PD 5503 ให้ขนาดวงใสเท่ากับ 0.2 เซนติเมตร แสดงดังตารางที่ 16 ซึ่งปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราสายพันธุ์ *Acremonium sp.* TISTR 3283 กับเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค PD 5602, PD 4916 และ PD 4903 แสดงดังรูปที่ 38, 39 และ 40 ตามลำดับ

ตารางที่ 16 ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราสายพันธุ์ *Acremonium sp.* TISTR 3283 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคชนิดต่าง ๆ 24 สายพันธุ์

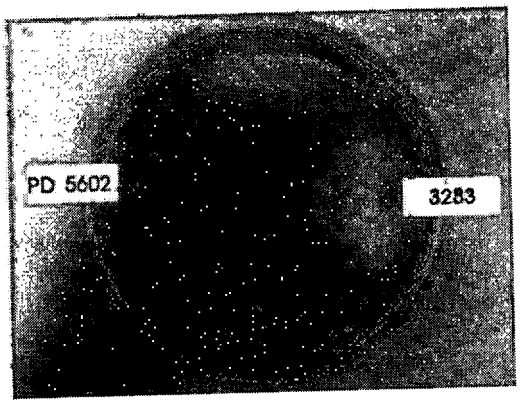
เชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค	เส้นผ่านศูนย์กลางเชื้อราที่แยกได้จากดิน (ซม.)		เส้นผ่านศูนย์กลางเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค (ซม.)		บริเวณยับยั้งของเชื้อราที่แยกได้จากดิน (ซม.)		หมายเหตุ
	วันที่ 4	วันที่ 7	วันที่ 4	วันที่ 7	วันที่ 4	วันที่ 7	
PD 4915	0.6	5.0	2.7	4.0	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์
PD 5701	1.5	3.8	3.1	5.0	-	0.2	เชื้อราที่แยกได้จากดิน สร้างบริเวณยับยั้ง 0.2 ซม.
PD 5904	1.5	1.8	1.5	3.5	-	0.1	เชื้อราที่แยกได้จากดิน สร้างบริเวณยับยั้ง 0.1 ซม.
PD 5602	1.4	3.6	3.9	5.4	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์
PD 4905	0.8	2.3	3.0	5.2	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์
PD 4410	2.0	4.0	3.2	4.5	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

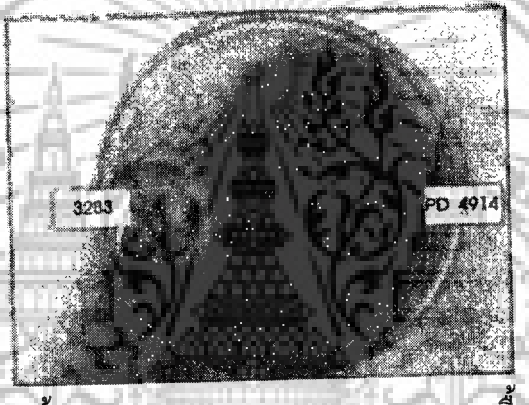
ตารางที่ 16 (ต่อ) ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราสายพันธุ์ *Acremonium sp.* TISTR 3283 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคชนิดต่าง ๆ 24 สายพันธุ์

เชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค	เส้นผ่านศูนย์กลางเชื้อราที่แยกได้จากดิน (ซม.)		เส้นผ่านศูนย์กลางเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค (ซม.)		บริเวณยับยั้งของเชื้อราที่แยกได้จากดิน (ซม.)		หมายเหตุ
	วันที่ 4	วันที่ 7	วันที่ 4	วันที่ 7	วันที่ 4	วันที่ 7	
PD 5202	1.2	3.5	3.1	5.3	-	0.2	เชื้อราที่แยกได้จากดิน สร้างบริเวณยับยั้ง 0.2 ซม.
PD 4911	1.5	1.9	3.0	4.0	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์
PD 4806	1.4	4.5	3.4	4.5	-	0.2	เชื้อราที่แยกได้จากดิน สร้างบริเวณยับยั้ง 0.2 ซม.
PD 4916	0.5	2.3	2.8	5.6	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์
PD 4914	1.1	3.0	3.3	5.0	-	0.3	เชื้อราที่แยกได้จากดิน สร้างบริเวณยับยั้ง 0.3 ซม.
NA 5201	0.5	1.4	1.9	3.1	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์
PA 5102	1.0	3.5	2.9	5.5	-	-	เชื้อราที่แยกได้จากดินเจริญล้ำเข้าไปในเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค 0.5 ซม.
PD 6101	0.9	1.1	4.0	5.9	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์
PD 4921	0.5	0.5	3.3	4.6	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์
PD 5003	1.0	2.8	4.3	6.2	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์
PD 4903	1.2	2.7	4.1	5.9	-	0.3	เชื้อราที่แยกได้จากดิน สร้างบริเวณยับยั้ง 0.3 ซม.
PD 5503	1.2	3.6	4.0	5.4	-	0.2	เชื้อราที่แยกได้จากดิน สร้างบริเวณยับยั้ง 0.2 ซม.
PD 4918	0.7	3.1	3.5	5.7	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์
PD 5801	0.7	1.4	3.3	5.0	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์
PD 5902	1.2	1.6	4.0	5.6	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์
PD 4922	1.4	3.1	3.8	5.9	-	-	เชื้อราที่แยกได้จากดินเจริญล้ำเข้าไปในเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค
PD 5007	0.7	0.8	2.9	4.7	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์
PD 4412	0.5	0.7	3.0	4.1	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์

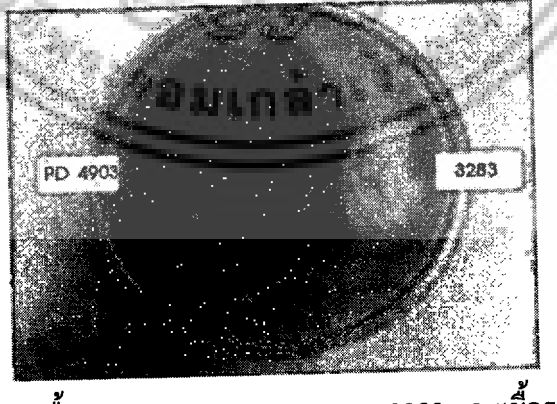
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 38 ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อรา *Acremonium sp.* TISTR 3283 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค PD 5602



รูปที่ 39 ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อรา *Acremonium sp.* TISTR 3283 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค PD 4914 ซึ่งเชื้อ *Acremonium sp.* TISTR 3283 สร้างบริเวณยับยั้ง 0.3 เซนติเมตร



รูปที่ 40 ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อรา *Acremonium sp.* TISTR 3283 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค PD 4903 ซึ่งเชื้อ *Acremonium sp.* TISTR 3283 สร้างบริเวณยับยั้ง 0.3 เซนติเมตร

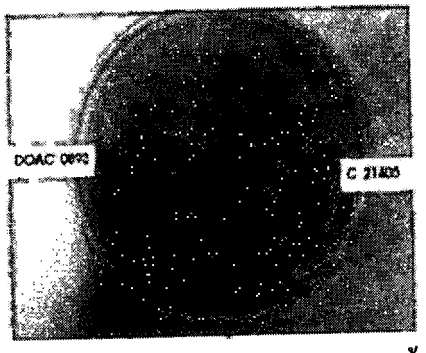
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการทดสอบปฏิสัมพันธ์ของเชื้อราที่แยกได้จากดินที่สร้างทั้งเอนไซม์ไคติเนส และโปรติเอส 9 สายพันธุ์ กับเชื้อราก่อโรคพืชสายพันธุ์ *Fusarium oxysporum* DOAC 0893 ที่นำมาจากกรมวิชาการเกษตร พบว่า เชื้อราที่แยกได้จากดิน C 18402 สามารถยับยั้งเชื้อราก่อโรคพืชได้ โดยเชื้อราที่แยกได้จากดินมีกลไกควบคุมเชื้อราก่อโรค พืชในลักษณะการทำลายชีวิต โดยสร้างวงใสซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราก่อโรคพืชสายพันธุ์ *Fusarium oxysporum* DOAC 0893 ได้สูงสุด ให้ขนาดวงใสมากที่สุด เท่ากับ 0.7 เซนติเมตร รองลงมาคือ C 21405 ให้ขนาดวงใสเท่ากับ 0.2 เซนติเมตร แสดงดังตารางที่ 17 ซึ่งปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดิน C 21405 กับเชื้อราก่อโรคพืชสายพันธุ์ *Fusarium oxysporum* DOAC 0893 แสดงดับรูปที่ 41

ตารางที่ 17 ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อที่แยกได้จากดินชนิดต่าง ๆ 9 สายพันธุ์ และเชื้อราก่อโรคพืชสายพันธุ์ *Fusarium oxysporum* DOAC 0893

เชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค	เส้นผ่านศูนย์กลางเชื้อราที่แยกได้จากดิน (ซม.)		เส้นผ่านศูนย์กลางเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค (ซม.)		บริเวณยับยั้งของเชื้อราที่แยกได้จากดิน (ซม.)		หมายเหตุ
	วันที่ 4	วันที่ 7	วันที่ 4	วันที่ 7	วันที่ 4	วันที่ 7	
M 24404	3.4	2.2	5.4	5.8	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์
C 22301	3.3	3.0	5.7	6.0	-	0.1	เชื้อราที่แยกได้จากดิน สร้างบริเวณยับยั้ง 0.1 ซม.
C 21405	1.9	3.6	1.0	5.2	-	0.2	เชื้อราที่แยกได้จากดิน สร้างบริเวณยับยั้ง 0.2 ซม.
C 18402	1.9	3.3	1.0	5.0	-	0.7	เชื้อราที่แยกได้จากดิน สร้างบริเวณยับยั้ง 0.7 ซม.
M 14303	3.7	4.2	4.5	4.8	-	0.1	เชื้อราที่แยกได้จากดิน สร้างบริเวณยับยั้ง 0.1 ซม.
C 18404	2.7	2.9	5.1	5.9	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์
C 15305	1.2	1.8	6.0	6.2	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์
C 20402	3.6	3.0	4.9	5.6	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์
C 14507	2.8	2.9	5.6	5.3	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 41 ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดิน C 21405 และเชื้อราก่อโรคพืช *Fusarium oxysporum* DOAC 0893 ซึ่งเชื้อราที่แยกได้จากดินสร้างบริเวณยับยั้ง 0.2 เซนติเมตร

จากการทดสอบปฏิสัมพันธ์ของเชื้อราที่แยกได้จากดินที่สร้างทั้งเอนไซม์ไคติเนสและโปรติเอส 8 สายพันธุ์ กับเชื้อราก่อโรคพืช *Sclerotium rolfsii* DOAC 0926 ที่นำมาจากกรมวิชาการเกษตร พบว่าเชื้อราก่อโรคพืช *Sclerotium rolfsii* DOAC 0926 สามารถเจริญทับเชื้อราที่แยกได้จากดินทุกสายพันธุ์ แสดงดังตารางที่ 18 ซึ่งปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดิน C 21405 กับเชื้อราก่อโรคพืชสายพันธุ์ *Sclerotium rolfsii* DOAC 0926 แสดงดังรูปที่ 42

ตารางที่ 18 ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราก่อโรคพืชสายพันธุ์ *Sclerotium rolfsii* DOAC 0926 และเชื้อราที่แยกได้จากดินชนิดต่าง ๆ 8 สายพันธุ์

เชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค	เส้นผ่านศูนย์กลางเชื้อราที่แยกได้จากดิน (ซม.)		เส้นผ่านศูนย์กลางเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค (ซม.)		บริเวณยับยั้งของเชื้อราที่แยกได้จากดิน (ซม.)		หมายเหตุ
	วันที่ 4	วันที่ 7	วันที่ 4	วันที่ 7	วันที่ 4	วันที่ 7	
M 24404	1.5	2.4	7.5	6.6	-	-	เชื้อราก่อโรคพืชเจริญทับเชื้อราที่แยกได้จากดิน
C 22301	2.0	2.6	7.0	6.4	-	-	เชื้อราก่อโรคพืชเจริญทับเชื้อราที่แยกได้จากดิน
C 21405	1.6	3.1	5.0	5.9	-	-	เชื้อราก่อโรคพืชเจริญทับเชื้อราที่แยกได้จากดิน
C 18402	1.3	2.8	5.3	6.2	-	-	เชื้อราก่อโรคพืชเจริญทับเชื้อราที่แยกได้จากดิน
C 18404	2.3	3.2	2.4	3.9	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 18 (ต่อ) ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราก่อโรคพืชสายพันธุ์ *Sclerotium rolfsii* DOAC 0926 และเชื้อราที่แยกได้จากดินชนิดต่าง ๆ 8 สายพันธุ์

เชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค	เส้นผ่านศูนย์กลางเชื้อราที่แยกได้จากดิน (ซม.)		เส้นผ่านศูนย์กลางเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค (ซม.)		บริเวณยับยั้งของเชื้อราที่แยกได้จากดิน (ซม.)		หมายเหตุ
	วันที่ 4	วันที่ 7	วันที่ 4	วันที่ 7	วันที่ 4	วันที่ 7	
C 15305	0.9	1.4	3.2	3.4	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์
C 20402	1.0	1.8	6.0	7.2	-	-	เชื้อราก่อโรคพืชเจริญทับเชื้อราที่แยกได้จากดิน
C 14507	2.1	3.4	5.2	5.6	-	-	เชื้อราก่อโรคพืชเจริญทับเชื้อราที่แยกได้จากดิน

รูปที่ 42 ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดิน C 21405 และเชื้อราก่อโรคพืช *Sclerotium rolfsii* DOAC 0926 ซึ่งเชื้อราก่อโรคพืชเจริญทับเชื้อราที่แยกได้จากดิน

จากการทดลองหาปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อปฏิปักษ์และเชื้อก่อโรคพืช พบว่า เกิดปฏิสัมพันธ์ 2 ลักษณะ คือ การสร้างเอนไซม์มาย่อยสารอาหารทำให้เกิดลักษณะเป็นวงใสรอบโคโลนี และการยับยั้งโดยการเจริญของปฏิปักษ์ทับเชื้อก่อโรค มีความเป็นไปได้ว่าเชื้อปฏิปักษ์เจริญเร็วกว่าเชื้อก่อโรค ส่งผลให้เชื้อก่อโรคเจริญได้น้อยลงหรือหยุดการเจริญ นอกจากนี้เชื้อปฏิปักษ์อาจมีการผลิตสารบางอย่างทำให้เชื้อก่อโรคไม่สามารถเจริญรุกล้ำเข้าไปภายในบริเวณเชื้อปฏิปักษ์ได้ (Elad และคณะ, 1980 และ Tweddell และคณะ, 1983)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อราสาเหตุโรคพืช ลักษณะของเชื้อราทั่วไปจะเป็นเส้นใยคล้ายเส้นด้ายละเอียด เส้นใยแต่ละเส้นมีขนาดเล็กมาก มองด้วยตาเปล่าไม่เห็น จะเห็นได้เมื่อมีการเจริญเป็นกลุ่มก้อนหรือเป็นกลุ่มโคโลนีของเส้นใย เชื้อราสาเหตุโรคพืชส่วนใหญ่สร้างหน่วยของพันธุ์เรียกว่า สปอร์ เพื่อใช้ในการแพร่ระบาดและการมีชีวิตรอดในระบบนิเวศ สปอร์ของเชื้อรามีหน้าที่คล้ายเมล็ดพันธุ์พืช นั่นคือ พร้อมที่จะเจริญและงอก แต่เป็นการเจริญแพร่พันธุ์และงอกได้ในพืช สปอร์เหล่านี้พร้อมที่จะระบาดจากพืชในพื้นที่หนึ่งไปสู่อีกพื้นที่หนึ่ง โดยมีลม น้ำ หรือมนุษย์เป็นสิ่งสำคัญในการพัดพาไป เมื่อสปอร์เหล่านี้ไปสู่พืชพรรณชนิดต่าง ๆ ที่เหมาะสม สปอร์ก็จะเจริญและงอกเข้าไปในพืชโดยการแทงผ่านผิวพืชเข้าไปในพืชได้โดยตรง หรืองอกแล้วแทงผ่านเข้าไปตามแผลที่เกิดขึ้นตามส่วนต่าง ๆ ของพืช หรือเข้าตามช่องเปิดธรรมชาติ เช่น ปากใบ เมื่อเข้าไปแล้วเชื้อราพวกนี้ก็จะมีการสร้างสารพิษ เอนไซม์ หรือสารกระตุ้นต่าง ๆ ทำลายพืชให้ได้รับความเสียหาย เกิดการเปลี่ยนแปลงผิดปกติไป

ในกลุ่มของจุลินทรีย์สาเหตุโรคพืช เชื้อราจัดเป็นสาเหตุที่สำคัญที่ทำความเสียหายให้แก่พืชผลมากที่สุด มีเชื้อรามากกว่า 8,000 ชนิดที่เป็นสาเหตุโรคพืช และมีพืชชั้นสูงและหรือพืชผลทางการเกษตรเกิดโรค เนื่องจากเชื้อราไม่น้อยกว่า 100,000 โรค เชื้อราสามารถแพร่ระบาดไปตามที่ต่าง ๆ ได้โดยติดไปกับซากพืชเป็นโรค เมล็ด ดิน ปุ๋ยคอก หรือวัสดุปลูกต่าง ๆ รวมทั้งแพร่ไปกับน้ำและปลิวไปกับลมได้ดี (http://www.forest.go.th/Ferd/ferdTHAI/pathology.html)

ในกระบวนการควบคุมโรคพืชโดยชีววิธีด้วยการใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์นั้น นอกจากการมีจุลินทรีย์ที่มีคุณภาพและประสิทธิภาพสูงแล้ว รูปแบบและวิธีการใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์นับเป็นปัจจัยสำคัญประการหนึ่งที่จะกำหนดความสำเร็จของการควบคุมโรคพืชโดยชีววิธีด้วยเช่นกัน วิธีการใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่ดีควรเป็นวิธีการที่ปฏิปักษ์ได้ง่าย สะดวก รวดเร็ว สอดคล้องกับวิธีปฏิบัติทางเกษตรกรรม ไม่ส่งผลกระทบต่อความมีชีวิตของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ทั้งในระหว่างหรือหลังการใช้ และต้องสามารถพาจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ไปสู่บริเวณที่เชื้อโรคพืชปรากฏอยู่ หรือบริเวณส่วนของพืชที่เชื้อโรคพืชอาจจะเข้าทำลายได้นอกจากนี้วิธีการใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่เหมาะสม ควรมีส่วนสนับสนุนกิจกรรมต่าง ๆ ของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ได้ เช่น ส่งเสริมการเจริญ การเพิ่มปริมาณ และการเข้าทำลายหรือหยุดยั้งการเจริญของเชื้อโรคพืช ตลอดจนปัจจัยที่ช่วยให้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์มีโอกาสอยู่รอดในสภาพธรรมชาติได้ในปริมาณที่สูงอย่างไรก็ตาม วิธีการใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ควรมุ่งเน้นการใช้เพื่อการป้องกันการเกิดโรคมากกว่าการใช้เพื่อรักษา หรือเพื่อฟื้นฟูสภาพทรุดโทรมของต้นพืชอันเนื่องมาจากโรคพืช ดังนั้นวิธีการใด ๆ ก็ตามที่ช่วยให้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ได้มีโอกาสสัมผัสกับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ส่วนของพืชก่อนที่เชื้อโรคจะเข้าทำลายไม่ว่าพืชจะอยู่ในระยะกล้า ระยะกำลังเจริญเติบโตกำลังให้ผลผลิต จนถึงหลังการเก็บเกี่ยว แล้วจึงนับเป็นวิธีการที่ควรปฏิบัติ (จิรเดช, 2547)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาได้คัดเลือกเชื้อราที่สามารถผลิตเอนไซม์ไคติเนสและโปรติเอส จากดินแหล่งต่าง ๆ จำนวน 12 ไอโซเลต โดยใช้อาหาร CD-medium ที่มีคอลลอยดอลไคตินและหางนำ เป็นแหล่งคาร์บอน และแหล่งไนโตรเจน ตามลำดับ พบว่าสายพันธุ์ที่สามารถผลิตเอนไซม์ไคติเนสและโปรติเอส มีจำนวน 11 ไอโซเลต คือ M 24404, C 22301, C 21405, C 18402, M 14303, C18404, C 15305, C 15304, C 14507, *Chaetomium globosum* TISTR 3093 และ *Acremonium sp.* TISTR 3283 หลังจากนั้นนำเชื้อราปฏิปักษ์ทั้ง 11 ไอโซเลต มาศึกษาปฏิสัมพันธ์กับเชื้อราก่อโรคพืช 30 ไอโซเลต และสายพันธุ์อ้างอิง 2 สายพันธุ์ พบว่าเชื้อราปฏิปักษ์ 11 ไอโซเลตมีกลไกควบคุมเชื้อก่อโรคพืชในลักษณะการแข่งขันและการทำลายชีวิต โดยเชื้อปฏิปักษ์จะเจริญล้ำเข้าไปในเชื้อก่อโรคพืช มีลักษณะคล้ายการเจริญทับเชื้อก่อโรคพืชและสร้างบริเวณยับยั้ง ได้แก่ เชื้อ M 24404, C 21405 และ TISTR No. 3283 และในลักษณะการทำลายชีวิต โดยเชื้อปฏิปักษ์สร้างบริเวณยับยั้งเชื้อก่อโรคพืช ได้แก่ เชื้อ C 22301, C 18402, M 14303, C 18404, C 15305, C 15304, C 14507 และ *Chaetomium globosum* TISTR 3093 ซึ่งมีลักษณะคล้าย *Trichoderma harzianum* ที่ถูกทำให้กลายพันธุ์เพื่อสร้างเอนไซม์โปรติเอสเพิ่มมากขึ้น เพื่อยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Fusarium culmorum* (Andras และคณะ, 2004)

แต่อย่างไรก็ตาม อาจกล่าวได้ว่าในการทำการทดลองขั้นนี้อาจจะยังไม่สามารถสรุปได้อย่างแน่นอนว่าเชื้อราสายพันธุ์ที่ทดสอบมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราก่อโรคพืชได้มากน้อยเพียงไร ซึ่งยังมีอีกหลายปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการยับยั้งเชื้อราก่อโรคพืช แต่งานวิจัยนี้เป็นการทดลองขั้นต้นที่นำเสนอถึงแนววิธีการประยุกต์ใช้ในการควบคุมโรคพืชทางชีวภาพ โดยใช้เชื้อราที่สามารถผลิตเอนไซม์ไคติเนสและโปรติเอส มาผลิตยาปราบศัตรูพืชแทนการใช้สารเคมี ซึ่งมีผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมเป็นอย่างมาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

กัมปนาท ด้วงสงค์ อิศรา คำหอม อันทะไชย ศิรินุช เอี่ยมสะอาด ศิลา ม่วงพลู สมเกียรติ พรพิสุทธิมาศ สมบัติ คงวิทยา ธีรวัฒนา ภารมาตย์ และสุรศักดิ์ ละลอกน้ำ. 2550 การคัดเลือกสายพันธุ์แบคทีเรียที่ผลิตเอนไซม์โปรติเอส. [Online]. เข้าถึงได้จาก : http://www.scisoc.or.th/stt/28/web/content/G_07/G36.htm.

เกรียงไกร พรวิลาศริริม ฉัตรชัย เจริญชุษณะ และนพพล บันลือเขตร์. 2540. การคัดเลือกแบคทีเรียที่ผลิตเอนไซม์ย่อยไคติน. โครงงานพิเศษวิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

จิรเดช แจ่มสว่าง. 2547. การควบคุมโรคผักโดยชีววิธี. ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน. [Online]. เข้าถึงได้จาก : http://www.kmitl.ac.th/hydro.Hydr-Pest/Jiradet.pdf

เชาวนีพร บุญช่วย. 2539. ปัจจัยที่มีผลต่อการสังเคราะห์เอนไซม์ไคติเนสใน *Aeromonas sp.* CS-34 และการศึกษาลักษณะของเอนไซม์ที่แยกบริสุทธิ์. วิทยานิพนธ์ คณะวิทยาศาสตร์ชีวภาพ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

นายนัฐศรันย์ อินพูลใจ. 2550. การแยกและการคัดเลือกจุลินทรีย์ที่ผลิตไคติเนส. ปัญหาพิเศษวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพทางอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. http://www.agro.cmu.ac.th/department/BIOT/PROJECT/42130/4213055.pdf.

ภัทรกร ภูริชินวุฒิ เพชรรัตน์ ธรรมเบญจพล พิศาล ศิริธร วีระศักดิ์ ศักดิ์ศิริรัตน์ และอัศนี ปาจีนบูรวรรณ์. 2547. *Streptomyces* : ความสามารถในการยับยั้งเชื้อรา *Didymella bryoniae* และการสังเคราะห์ hydrolytic enzymes. โครงงานพิเศษ ภาควิชาโรคพืชวิทยา คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

มาลัยพร เชื้อบัณฑิต วีระศักดิ์ ศักดิ์ศิริรัตน์ พิศาล ศิริธร และนิวัฒ เสนาะเมือง. 2545. ความหลากชนิดของเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma spp.* จากแปลงผลิตเมล็ดพันธุ์และศักยภาพในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรค Fusarium wilt ของมะเขือเทศและพืชตระกูลแตง. ภาควิชาโรคพืชวิทยา คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วันทนีย์ อู่วาณิชย์ และจงรัก จารุเนตร. 2541. การควบคุมโรคเหี่ยวของอ้อย. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช และศูนย์วิจัยพืชไร่ระยอง กรมวิชาการเกษตร.

ศิริลาภา สมานมิตร. 2544. การยับยั้งการเจริญเติบโตของราก่อโรคต่อผลลำไยโดยจุลินทรีย์ที่ผลิตไคติเนสและทนอุณหภูมิสูง. วิทยานิพนธ์ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

สุวิตา แสไพศาล วีระศักดิ์ ศักดิ์ศิริรัตน์ และพรเทพ ถนนแก้ว. 2549. การตรวจสอบกิจกรรมของ Extracellular Degrading Enzymes ของเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma spp.* ภาควิชาโรคพืชวิทยา คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น และภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยขอนแก่น

Andras, S', LasZlo, K., Zsuzsanna A., Frence K. and Laszlo M. 2004. Isolation and characterization of protease overproducing mutants of *Trichoderma harzianum. FEMS microbial Letters*. 233, 215-222.

Bae, y.S., and Knudsen, G. R. 2005. Soil microbial biomass influence on growth and biocontrol efficacy of *Trichoderma harzianum. Biol. Control.* 32, 236-242.

Battaglino, R.A., Huergo, M., Pilosof, A.M.R. and Bartholomai, G.B. 1991. Culture requirements for the production of protease by *Aspergillus oryzae* in solid state fermentation. Appl. *Microbiol. Biotechnol.* 35, 292-296.

Carrizales, V. and Jaffe, W. 1986. Solid state fermentation : an appropriate biotechnology for developing countries. *Intersciencia.* 11, 9-15.

Carroad, P.A. and R.a. Tom. 1978 Bioconvertion of shellfish chitin waste : process conception selection of microorganisms. *J. Food. Sci.* 43, 1158-1161.

Correa, T.U., Elango, N., Polacheck, l. and Cabib, E. 1982. Endochitinase, a mannan Associated enzyme from *Saccharomyces cerevisiae. J. Biol. Chem.* 257, 1392-1397.

Deshpande, M.V. 1986. Enzymatic degration of chitin and its biological application. *J. Sci. Ind. Res.* 45, 273-281.

Elad, Y., I. Chet and J. Katan. 1980. Parasitism of *Trichoderma* spp. On *Rhizoctonia solani* and *Sclerotium rolfsii* scanning electron microscopy and fluorescens microscopy. *Phythol.* 73, 85-88.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Elad Y, Kapat A. 1999. The role of *Trichoderma harzianum* protease in the biocontrol of *Botrytis cinerea. Eur. J. Plant Pathol.* 105, 177-189.

Hessentine, C.W. 1987. Solid state fementation and overview. *Int. biodeterior.* 23, 79-89.

Homer. D.W., D.K. Bell and C.A. Jaworki. 1972. Efficacy of *Trichoderma harzianum* as a biocontrol for *Sclerotium rolfsii. Phythol.* 62, 442-447.

Ohtakara, A., Mitsutami, M. and Uchida, Y. 1978. Purification and some properties of Chitinase from *Vibrio sp. J. Ferment. Technol.* 57, 169-173.

Reid, J. D. and Ogrydziak, D. M. 1981. Chitinase-Overproducing Mutant of *Serratia marcescens Appl. And Environ. Microb.* 41, 664-669.

Robberts, W.K. and Selitrennikoff, C.P. 1998. Plant and bacterial chitinases differ in antifungal activity. *J. Gen. Microbiol.* 134, 169-176.

Robbins, P.W., C. Albright, and B. Benfield. 1988. Cloning and expression of a *Streptomyces pilcatus chitinase (chitinase-63) in Escherichia coli. J. Biol. Chem.* 263, 443-447.

Samuels, G.J., 1996. *Trichoderma* : A review of biology and systematic of the genus. *Mycol. Res.* 100, 923-935.

Shaikh, S.A. and Deshpande, M.V. 1993. Chitinolytic enzyme : their contribution to Basic and applied research. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 9, 468-475.

Skujins, P.V. and Chandrasekaren, M. 1998. Utilization of prawn waste for chitinase production by the marine fungus *Beauveria bassiana* by solid state fermentation. *J. Microbiol. Biotechnol.* 14, 655-660.

Smith, R.J. and Grula, E.A. 1983. Chitinase is an inducible enzyme in *Beauveria bassiana. Invertrb. Pathol.* 42, 319-326.

Suresh, PV. And Chandrasekharan, M. 1999. Impact of process parameters on chitinase production by alkalophilic marine *Beauveria bassiana* in solid-state fermentation. *Process Biochem.* 34, 257-267.

Tweddell, Russell J., Suha H. Jabaji-hare and Pierre M. Charest. 1994. Production of Chitinase and β-1, 3-Glucanases by *Stachybotrys elegans*, a Mycoparasite of *Rhizoctonia solani. Appl. Env.Microb.* 60, 489-495.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Wang, H.L., and Hesseltine, C.W. 1965. Studies on the extracellular proteolytic enzymes of *Rhizopus oligosporus*. *Can. J. Microbiol.* 11, 727-732.

http://www.gpo.or.th/rdi/html/microbe.html

http://www.forest.go.th/Ferd/ferdTHAI/pathology.html

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้