

การคัดแยก จัดจำแนก และทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อราที่เจริญบน
เม็ดดินเผาผสมเพอร์ไลต์ที่ใช้แล้วโดยเฟอร์ริกออกไซด์

ISOLATION, IDENTIFICATION AND ANTIFUNGAL
TESTING OF GROWTH FUNGI ON USED POPPERLITE BY
FERRIC OXIDE



โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานปีการศึกษา 2565 อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ISOLATION, IDENTIFICATION AND ANTIFUNGAL
TESTING OF GROWTH FUNGI ON USED POPPERLITE BY
FERRIC OXIDE




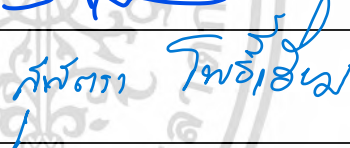
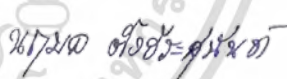
PATARAWADEE AONTUM
PHASINEE BUTWAPI

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF
THE REQUIREMENT FOR
THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE (INDUSTRIAL MICROBIOLOGY)
DEPARTMENT OF BIOLOGY, SCHOOL OF SCIENCE
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้ภายในปีการศึกษา 2022
ACADEMIC YEAR 2022 หากให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงการพิเศษ	การคัดแยก จัดจำแนก และทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อราที่เจริญบนเมล็ดดินเผาสมเพอร์ไลต์ที่ใช้แล้วโดยเฟอร์ริกออกไซด์ Isolation, identification and antifungal testing of growth fungi on used Popperlite by Ferric oxide
ชื่อนักศึกษา	นางสาวภทราวดี อ่อนธรรม รหัสนักศึกษา 62050634 นางสาวภาสินี บุตรวาปี รหัสนักศึกษา 62050637
ปริญญา	วิทยาศาสตร์บัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)
ภาควิชา	ชีววิทยา
ปีการศึกษา	2565
อาจารย์ที่ปรึกษา	ดร.นฤมล ตั้งธีระสุนันท์

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) อนุมัติให้โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม) ประจำปีการศึกษา 2565

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
รศ.ดร.อนุรักษ์ โพธิ์เอี่ยม ประธานกรรมการ	
รศ.ดร.สุพัตรา โพธิ์เอี่ยม กรรมการ	
ดร.นฤมล ตั้งธีระสุนันท์ กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา	

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมีเหตุดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงการพิเศษ	การคัดแยก จัดจำแนก และทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อราที่เจริญบน เม็ดดินเผาผสมเพอร์ไลต์ที่ใช้แล้วโดยเฟอร์ริกออกไซด์ Isolation, Identification and Antifungal Testing of Growth Fungi on used Popperlite by Ferric oxide
ชื่อนักศึกษา	นางสาวภทราวดี อ่อนธรรม รหัสนักศึกษา 62050634 นางสาวภาสินี บุตรวาปี รหัสนักศึกษา 62050637
ปริญญา	วิทยาศาสตร์บัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)
ภาควิชา	ชีววิทยา
ปีการศึกษา	2565
อาจารย์ที่ปรึกษา	ดร.นฤมล ตั้งธีระสุนันท์

บทคัดย่อ

คัดแยก (Isolation) และระบุสายพันธุ์ (Identification) โดยใช้ลักษณะสัณฐานวิทยาเบื้องต้น (Morphology) และลำดับนิวคลีโอไทด์ (DNA sequencing) ในเชื้อราที่เจริญบนเม็ดดินเผาผสมเพอร์ไลต์ (Popperlite) ทั้งหมด 22 ไอโซเลต โดยสามารถระบุสายพันธุ์โดยวิธีการทางสัณฐานวิทยาเบื้องต้นได้ทั้งหมด 15 ไอโซเลต ซึ่งแบ่งออกเป็น 5 สกุล คือ *Fusarium* sp., *Penicillium* sp., *Pestalotiopsis* sp., *Talaromyces* sp. และ *Trichoderma* sp. ส่วนการระบุเชื้อราที่เจริญบนเม็ดดินเผาที่ไม่สามารถระบุได้ด้วยวิธีการทางสัณฐานวิทยาจำนวน 7 ไอโซเลต นั้นนำไปทำการระบุลำดับนิวคลีโอไทด์ โดยเพิ่มปริมาณด้วยเทคนิคพีซีอาร์ (Polymerase chain reaction, PCR) ด้วยคู่มือไพรเมอร์ (Primer) ITS5 และ ITS4 สามารถคาดการณ์ได้ว่า คือ เชื้อรา *Alternaria* sp. (2 ไอโซเลต), *Fusarium* sp., *Simplicium obclatum*, *Ceratobasidium* sp., *Pheaeophaeriopsis* sp. และ *Hortaea werneckii* และได้ศึกษาอัตราการเจริญ (Growth rate) เชื้อราที่ทำการคัดแยกได้ พบว่าไอโซเลตที่เจริญรวดเร็ว 3 อันดับแรก ได้แก่ เชื้อราสกุล *Trichoderma* ไอโซเลต 22-073 ที่มีค่าเฉลี่ยการเจริญอยู่ที่ 75.83 ± 0.76 มิลลิเมตร อัตราการเจริญเฉลี่ยต่อวันอยู่ที่ 22.03 มิลลิเมตรต่อวัน ลำดับถัดมา คือเชื้อราสกุล *Ceratobasidium* ไอโซเลต 22-086 ที่มีค่าเฉลี่ยการเจริญอยู่ที่ 65.67 ± 1.95 มิลลิเมตร อัตราการเจริญเฉลี่ยต่อวันคือ 17.01 มิลลิเมตรต่อวัน และเชื้อราสกุล *Fusarium* ไอโซเลต 22-091 มีค่าเฉลี่ยการเจริญคือ 33.17 ± 1.41 มิลลิเมตร อัตราการเจริญเฉลี่ยต่อวันคือ 10.26 มิลลิเมตรต่อวัน ส่วนไอโซเลตที่มีการเจริญเติบโตได้ช้าที่สุด คือเชื้อราสกุล *H. werneckii* ไอโซเลต 22-104 ซึ่งมีอัตราการเจริญเฉลี่ยคือ 5.20 ± 0.23 มิลลิเมตร อัตราการเจริญเฉลี่ยต่อวันคือ 0.03 มิลลิเมตรต่อวัน จากนั้นได้ศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อรา (Antifungal) ด้วยวิธีการ Poisoned plate โดยใช้สารเฟอร์ริกออกไซด์

(Ferric oxide, Fe_2O_3) ความเข้มข้นร้อยละ 10 พบว่าสารเฟอร์ริกออกไซด์สามารถชะลอการเจริญของเชื้อราบนเมล็ดดินเผาผสมเปอร์ไลต์ได้ 14 ไอโซเลต โดยไอโซเลตที่มีร้อยละการยับยั้งในวันที่ 2 สูงสุด 3 อันดับแรก ได้แก่เชื้อราสกุล *Trichoderma* ไอโซเลต 22-073 มีอัตราการยับยั้งการเจริญเท่ากับร้อยละ 61.11 เชื้อราสกุล *Penicillium* ไอโซเลต 22-098 อัตราการยับยั้งการเจริญเท่ากับร้อยละ 53.87 และเชื้อราสกุล *Penicillium* ไอโซเลต 22-075 มีอัตราการยับยั้งการเจริญเท่ากับร้อยละ 44.75 จากการศึกษาี้แสดงให้เห็นว่าเชื้อราที่เจริญบนเมล็ดดินเผา มีสกุลที่หลากหลาย และผลการศึกษากฎการยับยั้งการเจริญของเชื้อราชี้ให้เห็นว่า เฟอร์ริกออกไซด์สามารถชะลอการเจริญของเชื้อราได้ ซึ่งอาจจะมีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ชนิดอื่นด้วยเช่นกัน

คำสำคัญ : เม็ดดินเผาผสมเปอร์ไลต์ เฟอร์ริกออกไซด์ การยับยั้งการเจริญของเชื้อรา



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title	isolation, identification and antifungal testing of growth fungi on used Popperlite by Ferric oxide	
Students	Miss Patarawadee Aontum	Student ID 62050634
	Miss Phasinee Butwapi	Student ID 62050637
Degree	Bachelor of Science (Industrial Microbiology)	
Department	Biology	
School	Science	
University	King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL)	
Academic Year	2022	
Advisor	Dr.Narumon Tangthirasunun	

Abstract

Isolation, Identification of fungi that growing on Popperlite by morphological and DNA sequencing. A total of twenty-two isolates that only fifteen isolates were identified by morphological method, which were classification to five genera: *Fusarium* sp., *Penicillium* sp., *Pestalotiopsis* sp., *Talaromyces* sp. and *Trichoderma* sp. Then, seven isolates classification by DNA sequencing method, which could not be identified by morphological methods, and polymerase chain reaction (PCR) was used by ITS5 and ITS4 primers, and it was found that they consisted of *Alternaria* sp., *Fusarium* sp., *Simplicium obclatum*, *Ceratobasidium* sp., *Phaeophariopsis* sp. and *Hortaea werneckii*. The growth rate of all fungi was measured. Among the screened fungi, the three isolates with the fastest growth rate were *Trichoderma* sp. 22-073, with an average growth rate is 75.83 ± 0.76 mm, and the average daily growth rate is 22.03 mm per day. Next, *Ceratobasidium* sp. 22-086 with an average growth rate is 65.67 ± 1.95 mm, and the average daily growth rate is 17.01 mm per day. Finally, *Fusarium* sp. 22-091 with an average growth rate is 33.17 ± 1.41 mm, and the average daily growth rate is 10.26 mm per day. Including, *H. werneckii* 22-104 is very slow growth with an average growth rate is 5.20 ± 0.23 , the average daily growth rate is 0.03 mm per day. Next, the inhibitory effect on the growth of fungi was studied by poisoned plate method. A chemical, ferric oxide (Fe_2O_3) was mixed into Potato

dextrose agar (PDA) at final concentration is 10%. The results showed that Ferric oxide was able to slow down the growth of fungi on the testing medium on fourteen isolates, the three isolates with the higher inhibition of growth rate, *Trichoderma* sp. 22-073 with inhibition rate is 61.11%, Next, *Penicillium* sp. 22-098 with inhibition rate is 53%. Last, *Penicillium* sp. 22-075, with inhibition rate is 44.75%. This study shows that fungi growing on Popperlite have a wide variety of genera. And the results of its antifungal activity also suggest that Ferric oxide can delay the growth of fungi which may also have antimicrobial effect on other types of microorganism.

Keywords : Popperlite, Ferric oxide (Fe_2O_3), Antifungal



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงการพิเศษฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี เนื่องมาจากความกรุณา และความร่วมมือของทุก ๆ ท่าน ขอขอบพระคุณ ดร.นฤมล ตั้งธีระสุนันท์ รศ.ดร.สุพัตรา โพธิ์เอี่ยม และ รศ.ดร.อนรรักษ์ โพธิ์เอี่ยม ที่คอยให้คำปรึกษาดูแล ให้ความช่วยเหลือแนะนำแนวทางที่ดี เพื่อปรับปรุงข้อบกพร่องในการจัดทำโครงการพิเศษนี้ และให้ความอนุเคราะห์ในการใช้อุปกรณ์และเครื่องมือที่จำเป็นต่อโครงการพิเศษนี้

ขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.เมตยา กิติวรรณ ที่ให้ความอนุเคราะห์ตัวอย่างเม็ดดินเผาผสมเพอร์ไลต์ เพื่อนำมาใช้ประโยชน์ในโครงการพิเศษนี้

ขอขอบพระคุณพี่ ๆ นักวิทยาศาสตร์ และเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการชีววิทยา ที่ให้ความสะดวกในการเปิดใช้สารเคมีและอุปกรณ์เครื่องมือต่าง ๆ รวมทั้งชี้แนะวิธีการใช้ที่ถูกต้อง

ขอขอบพระคุณพี่ ๆ นักศึกษาปริญญาโท สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ ภายในการดูแลของ รศ.ดร.สุพัตรา โพธิ์เอี่ยม และ ดร.นฤมล ตั้งธีระสุนันท์ ที่แนะนำแนวทางการทำโครงการพิเศษฉบับนี้ รวมทั้งแนะนำวิธีการใช้สารเคมี และอุปกรณ์เครื่องมือที่ถูกต้อง

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณบุพการี และครอบครัวของพวกเรา ที่คอยให้คำปรึกษา เป็นกำลังใจในการจัดทำโครงการพิเศษนี้มาโดยตลอดจนสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ภทราวดี อ่อนธรรม
ภาสินี บุตรวาปี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	ค
กิตติกรรมประกาศ.....	จ
สารบัญ.....	ฉ
สารบัญตาราง.....	ช
สารบัญรูป.....	ฉ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ.....	1
1.2 วัตถุประสงค์.....	2
1.3 ขอบเขตการศึกษา.....	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	2
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	3
2.1 เชื้อรา (Fungi).....	3
2.2 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา (Morphological characteristics).....	3
2.2.1 ลักษณะโคโลนี (Colony morphology).....	3
2.2.2 ลักษณะเส้นใย (Hyphae).....	4
2.2.3 ลักษณะฟรุตติ้งบอดี้ (Fruiting body).....	5
2.2.4 ลักษณะของสปอร์ (Spore) และโคนิเดีย (Conidia).....	6
2.3 ลักษณะทั่วไปของเชื้อราในกลุ่ม Ascomycetes.....	7
2.3.1 เชื้อราสกุล <i>Fusarium</i>	7
2.3.2 เชื้อราสกุล <i>Penicillium</i>	8
2.3.3 เชื้อราสกุล <i>Pestalotiopsis</i>	10
2.3.4 เชื้อราสกุล <i>Trichoderma</i>	11
2.4 เม็ดดินเผาผสมเพอร์ไลต์ (Popperlite).....	12
2.5 เฟอร์ริกออกไซด์ (Ferric Oxid, Fe ₂ O ₃).....	13
2.6 กฤทธิ์การยับยั้งเชื้อรา (Antifungal activity) โดยวิธีการ Poisoned plate.....	14
2.7 การระบุสายพันธุ์โดยใช้การระบุลำดับนิวคลีโอไทด์.....	15
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย.....	18
3.1 เม็ดดินเผาผสมเพอร์ไลต์.....	18
3.2 อุปกรณ์.....	18

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านอื่นๆ
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.3 อาหารเลี้ยงเชื้อรา.....	19
3.4 สารเคมี.....	19
3.5 การคัดแยกเชื้อราจากเมล็ดดินเผาผสมเพอร์ไลต์.....	20
3.6 การระบุสายพันธุ์เชื้อราที่เจริญเติบโตบนเมล็ดดินเผาผสมเพอร์ไลต์ด้วยวิธีการทางสัณฐานวิทยา.....	20
3.7 การระบุสายพันธุ์เชื้อราที่เจริญเติบโตบนเมล็ดดินเผาผสมเพอร์ไลต์ด้วยลำดับนิวคลีโอไทด์.....	21
3.8 การทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อราของเพอร์ริกออกไซด์.....	22
3.9 การวิเคราะห์ทางสถิติ.....	23
บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล.....	24
4.1 การระบุสายพันธุ์เชื้อราที่เจริญเติบโตบนเมล็ดดินเผาผสมเพอร์ไลต์โดยวิธีการทางสัณฐานวิทยา.....	24
4.2 การระบุสายพันธุ์เชื้อราที่เจริญเติบโตบนเมล็ดดินเผาผสมเพอร์ไลต์ด้วยลำดับนิวคลีโอไทด์.....	50
4.3 การทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อราของเพอร์ริกออกไซด์.....	52
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ.....	57
5.1 สรุปผลการวิจัย.....	57
5.2 ข้อเสนอแนะ.....	57
เอกสารอ้างอิง.....	58
ภาคผนวก.....	63
ภาคผนวก ก.....	64
ภาคผนวก ข.....	67
ภาคผนวก ค.....	70
ภาคผนวก ง.....	73
ภาคผนวก จ.....	78

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
3.1 โปรแกรมที่ใช้ในเทคนิคพีซีอาร์.....	20
3.2 สารที่ใช้ในเทคนิคพีซีอาร์.....	22
3.3 สภาวะที่ใช้ในเทคนิคพีซีอาร์.....	22
4.1 ตารางคาดการณ์สกุลของเชื้อราที่สามารถคัดแยกได้จากเมล็ดดินเผาผสมเพอร์ไลต์.....	25
4.2 อัตราการเจริญของเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ในวันที่ 2.....	49
4.3 ผลการเทียบเคียงลำดับเบสในฐานข้อมูล.....	52
4.4 อัตราการเจริญของเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อชุดทดลองที่มีการผสมเพอร์ริกออกไซด์ และอัตราการเจริญของเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อบนชุดควบคุม (PDA) ใน วันที่ 2	53



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
2.1 อาณาจักรฟังไจ.....	3
2.2 ลักษณะรูปแบบของโคโคโคนี.....	4
2.3 ลักษณะของเส้นใยของเชื้อรา.....	5
2.4 ลักษณะของแอสโคคาร์ป.....	5
2.5 รูปร่างของสปอร์หรือโคนิเดีย.....	6
2.6 พื้นผิวของสปอร์หรือโคนิเดีย.....	6
2.7 ลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อราสกุล <i>Fusarium</i>	8
2.8 ลักษณะโคนิเดียของเชื้อราสกุล <i>Fusarium</i>	8
2.9 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อราสกุล <i>Penicillium</i>	9
2.10 ลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อรา <i>Pestalotiopsis anhuiensis</i> (CFCC 54791).....	10
2.11 ลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อรา <i>Trichoderma lentinulae</i>	11
2.12 เม็ดดินเผาผสมเพอร์ไลต์.....	12
2.13 เฟอริกออกไซด์	13
2.14 การทดสอบการเจริญของเชื้อราของชุดควบคุมและชุดทดสอบโดยวิธีการ Poisoned plate.....	15
2.15 ขั้นตอนของเทคนิคพีซีอาร์ (Polymerase chain reaction; PCR).....	16
2.16 แผนผังแสดงตำแหน่ง ITS (Internal Transcribed Spacer).....	17
4.1 ลักษณะลักษณะสัณฐานวิทยาเชื้อราไอโซเลต 22-073.....	26
4.2 ลักษณะลักษณะสัณฐานวิทยาเชื้อราไอโซเลต 22-074.....	27
4.3 ลักษณะลักษณะสัณฐานวิทยาเชื้อราไอโซเลต 22-075.....	28
4.4 ลักษณะลักษณะสัณฐานวิทยาเชื้อราไอโซเลต 22-076.....	29
4.5 ลักษณะลักษณะสัณฐานวิทยาเชื้อราไอโซเลต 22-077.....	30
4.6 ลักษณะลักษณะสัณฐานวิทยาเชื้อราไอโซเลต 22-078.....	31
4.7 ลักษณะลักษณะสัณฐานวิทยาเชื้อราไอโซเลต 22-082.....	32
4.8 ลักษณะลักษณะสัณฐานวิทยาเชื้อราไอโซเลต 22-084.....	33
4.9 ลักษณะลักษณะสัณฐานวิทยาเชื้อราไอโซเลต 22-086.....	34
4.10 ลักษณะลักษณะสัณฐานวิทยาเชื้อราไอโซเลต 22-089.....	35
4.11 ลักษณะลักษณะสัณฐานวิทยาเชื้อราไอโซเลต 22-090.....	36
4.12 ลักษณะลักษณะสัณฐานวิทยาเชื้อราไอโซเลต 22-091.....	37
4.13 ลักษณะลักษณะสัณฐานวิทยาเชื้อราไอโซเลต 22-093.....	38

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้สำหรับใช้ในวงการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านอื่น ๆ
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
4.14 ลักษณะลักษณะสัณฐานวิทยาเชื้อราไอโซเลต 22-096.....	39
4.15 ลักษณะลักษณะสัณฐานวิทยาเชื้อราไอโซเลต 22-097.....	40
4.16 ลักษณะลักษณะสัณฐานวิทยาเชื้อราไอโซเลต 22-098.....	41
4.17 ลักษณะลักษณะสัณฐานวิทยาเชื้อราไอโซเลต 22-099.....	42
4.18 ลักษณะลักษณะสัณฐานวิทยาเชื้อราไอโซเลต 22-100.....	43
4.19 ลักษณะลักษณะสัณฐานวิทยาเชื้อราไอโซเลต 22-101.....	44
4.20 ลักษณะลักษณะสัณฐานวิทยาเชื้อราไอโซเลต 22-102.....	45
4.21 ลักษณะลักษณะสัณฐานวิทยาเชื้อราไอโซเลต 22-103.....	46
4.22 ลักษณะลักษณะสัณฐานวิทยาเชื้อราไอโซเลต 22-104.....	47
4.23 ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีในวันที่ 2 ของเชื้อราที่เจริญบนเมล็ดดินเผาผสม เพอร์ไลต์.....	50
4.24 ผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ (PCR Product) บนแผ่นเจลอิเล็กโตรโฟรีสิส (Gel electrophoresis) ไอโซเลต 22-082, 22-084, 22-093 และ 22-097.....	51
4.25 ผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ บนแผ่นเจลอิเล็กโตรโฟรีสิส ไอโซเลต 22-086, 22-103 และ 22-104.....	51
4.26 การทดสอบโดยวิธีการ Poisoned Plate ที่ระยะเวลา 7 วัน ของเชื้อราไอโซเลต 22-073 ถึง 22-078.....	54
4.27 การทดสอบโดยวิธีการ Poisoned Plate ที่ระยะเวลา 7 วัน ของเชื้อราไอโซเลต 22-082 ถึง 22-100.....	55
4.28 การทดสอบโดยวิธีการ Poisoned Plate ที่ระยะเวลา 7 วัน ของเชื้อราไอโซเลต 22-101 ถึง 22-104.....	56

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ในระยะเวลาที่เกิดการระบาดของโรคที่ก่อให้เกิดปัญหาแก่คนทั่วทั้งโลก ทำให้บางครั้งมีความจำเป็นต้องอยู่ที่บ้านเป็นระยะเวลานาน ๆ ซึ่งอาจเกิดจากคำสั่งของสาธารณสุข หรือต้องกักตัวเพราะมีความเสี่ยงสูงในการติดเชื้อ ดังนั้นเมื่อผู้คนอยู่บ้านเพิ่มมากขึ้น การปลูกต้นไม้จึงเริ่มเป็นงานอดิเรกใหม่ที่เกิดขึ้นในระยะหลังมานี้ เมื่อคนเริ่มที่จะสนใจในการปลูกต้นไม้มากขึ้น การดูแลเอาใจใส่ต้นไม้ถือเป็นอีกหนึ่งปัจจัยหลักที่สำคัญนอกจากการรดน้ำ ใส่ปุ๋ย พรุนดินแล้วนั้น การทำให้กระถางต้นไม้มีความชุ่มชื้นอยู่ตลอดเวลาถือเป็นเรื่องที่สำคัญมากไม่ต่างกัน การจะให้กระถางที่ทำการปลูกต้นไม้ที่มีความชื้นอยู่ตลอดเวลาที่มีหลากหลายวิธี เช่น การผสมดินด้วยกาบมะพร้าวสับ หินภูเขาไฟ (Pumice stone) พีทมอส (Peat moss) สแฟกนัม มอส (Sphagnum moss) และถ่านหุงต้ม (ศิริวิทย์ รุ่งบำรุง, 2562) และเมื่อไม่นานมานี้มีการประยุกต์ใช้เม็ดดินเผา หรือพอปเปอร์ (Popper) ในกระถางต้นไม้เช่นเดียวกัน โดยเม็ดดินเผาที่มีชื่อทางการค้า คือ LECA (Lightweight expanded clay aggregate) นิยมใช้งานอย่างแพร่หลายในทางวิศวกรรมโยธา มีความสามารถในการดูดซับได้ดี (Zukri และคณะ, 2018) โดยเม็ดดินเผาที่มีลักษณะเฉพาะ คือ มีน้ำหนักเบา และพองตัว เป็นผลิตภัณฑ์ที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม สามารถหาซื้อได้ทั่วไป และมีราคาที่ไม่สูงมาก (Amiri และคณะ, 2011)

เม็ดดินเผาที่ผลิตขึ้นจากดินที่มีลักษณะเฉพาะ คือดินที่เกิดการขยายตัวเมื่อได้รับอุณหภูมิสูงที่ประมาณ 1,200 ถึง 1,300 องศาเซลเซียส โดยแก๊สที่อยู่ภายในพยายามหนีออกมาจนเกิดเป็นรูพรุน ซึ่งดินที่มีลักษณะเฉพาะนี้มีน้อยมากในไทย จึงมีการประยุกต์ใช้เศษวัสดุต่าง ๆ เช่น เศษแก้ว เศษซีเมนต์ เช่น ฟางข้าว มาใช้ในการผลิต แต่วัสดุเหล่านี้มีข้อเสีย คือ เมื่อได้รับความร้อนสูงมักทำให้เกิดมลพิษ ดังนั้นจึงมีการประยุกต์ใช้เพอร์ไลต์ (Perlite) ที่มีวงแหวนของน้ำอยู่ในโครงสร้าง ซึ่งเมื่อถูกเผาที่อุณหภูมิสูงแล้ว ทำให้วงแหวนแตก และเกิดการขยายตัวแตกตัวคล้ายพอปคอร์น (Samar และ Saxena, 2016) เกิดเป็นรูพรุน ดังนั้นจึงเรียกเม็ดดินเผาที่มีการผสมเพอร์ไลต์ลงไปในการผลิตนั้นว่า เม็ดดินเผาผสมเพอร์ไลต์ หรือ พอปเปอร์ไลต์ (Popperlite) จากความที่เม็ดดินเผาผสมเพอร์ไลต์นั้นมีรูพรุนที่สูง และมีสภาพน้ำหนักสูง (Johansson, 1997) จึงทำให้เอื้อต่อการเจริญของเชื้อรา (Fungi) ซึ่งหากเชื้อรามีการเจริญเติบโตเป็นจำนวนมากในที่อยู่อาศัย และผู้อยู่อาศัยมีการสูดดมเส้นใย (Hypha) และสปอร์ (Spore) เข้าไปในปอดเป็นจำนวนมาก อาจก่อให้เกิดอันตรายต่ออวัยวะต่าง ๆ ภายในร่างกายได้ (Atkinson และคณะ, 1983.) จากปัญหาที่เกิดขึ้นนี้ทำให้ผู้วิจัยสนใจที่จะทำการศึกษา

ระบุชนิดของเชื้อรา และทดสอบการยับยั้งเชื้อราโดยใช้สารเคมีที่มีชื่อว่า เฟอริกออกไซด์ (Ferric oxide, Fe_2O_3) เพื่อนำไปประยุกต์ใช้ในการเคลือบบนเม็ดดินเผาผสมเพอร์ไลต์ต่อไปในอนาคต ซึ่งหวังว่าสามารถเพื่อป้องกันการเจริญของเชื้อราที่เคยปนเปื้อนบนเม็ดดินเผาผสมเพอร์ไลต์ได้

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งยังมีเหตุผลที่บางสิ่งบางอย่าง และต้องอยู่อย่างนี้เองเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1.2.1 เพื่อคัดแยก และจัดจำแนกเชื้อราที่เจริญบนเมล็ดดินเผาสมเพอร์ไลต์ โดยวิธีการทางสัณฐานวิทยา และลำดับนิวคลีโอไทด์ (DNA sequencing)

1.2.2 เพื่อศึกษาฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของสารเพอร์ริกออกไซด์ โดยวิธีการ Poisoned plate

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

คัดแยกเชื้อราจากเมล็ดดินเผาสมเพอร์ไลต์ ที่ได้รับการอนุเคราะห์จาก ผศ.ดร.เมตยา กิติวรรณ อาจารย์ประจำภาควิชาฟิสิกส์ประยุกต์ ทำการระบุสายพันธุ์เชื้อราที่เจริญเติบโตบนเมล็ดดินเผาสมเพอร์ไลต์ โดยการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา และลำดับนิวคลีโอไทด์ด้วยวิธีพีซีอาร์ (Polymerase chain reaction, PCR) บริเวณ ITS (Internal transcribed spacer) โดยใช้คู่ไพรเมอร์ (Primer) ITS5 และ ITS4 และส่งวิเคราะห์หาลำดับนิวคลีโอไทด์ รวมทั้งทำการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อราที่เจริญบนเมล็ดดินเผาสมเพอร์ไลต์ของสารเพอร์ริกออกไซด์

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 ทราบสายพันธุ์เชื้อราที่เจริญบนเมล็ดดินเผาสมเพอร์ไลต์จากการคัดแยก จำแนก และระบุสายพันธุ์เชื้อราบนเมล็ดดินเผาสมเพอร์ไลต์ โดยวิธีการทางสัณฐานวิทยาเบื้องต้น และการวิเคราะห์หาลำดับนิวคลีโอไทด์

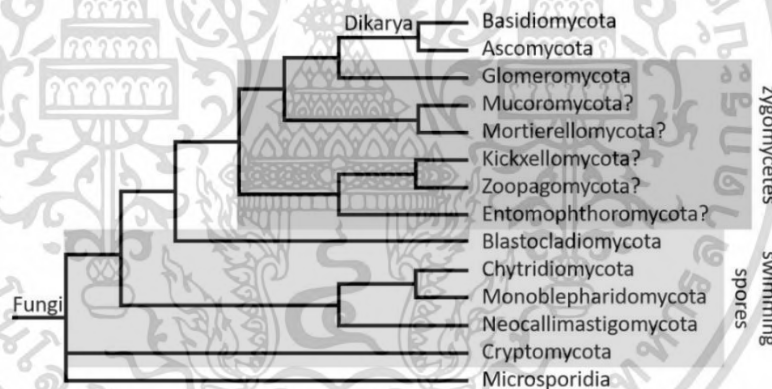
1.4.2 ทราบคุณสมบัติในฤทธิ์การยับยั้งเชื้อราที่เจริญบนเมล็ดดินเผาสมเพอร์ไลต์โดยสารเพอร์ริกออกไซด์ เพื่อนำไปประยุกต์ใช้ในการเคลือบเมล็ดดินเผาสมเพอร์ไลต์ต่อไป

บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 เชื้อรา (Fungi)

เชื้อราเป็นสิ่งมีชีวิตมีรายงานประมาณ 144,000 สายพันธุ์ (Species) เชื้อราเป็นหนึ่งในสิ่งมีชีวิตที่มีการกระจายอย่างกว้างขวางที่สุดในโลก ซึ่งมีความสำคัญด้านสิ่งแวดล้อม และการแพทย์อย่างมาก เชื้อราหลายชนิดมีชีวิตอิสระในดิน หรือน้ำ โดยเชื้อราเป็นสิ่งมีชีวิตยูคาริโอต (Eukaryote) คือ เซลล์มีออร์แกเนลล์ที่มีเยื่อหุ้มเซลล์ และมีนิวเคลียส (www.britannica.com/science/fungus, สืบค้น 15 พ.ค. 2566) โดยเชื้อราแบ่งออกเป็น 7 ไฟลัม (Phylum) ได้แก่ ไคทริดีโอไมโคตา (Chytridiomycota) บลาสโตคลาดิโอไมโคตา (Blastocladiomycota) นีโอคัลลิมาสติโกไมโคตา (Neocallimastigomycota) ไมโครสปอริเดีย (Microsporidia) โกลเมโรไมโคตา (Glomeromycota) เบสิดิโอไมโคตา (Basidiomycota) และแอสโคไมโคตา (Ascomycota) ซึ่งเป็นไฟลัมที่ใหญ่ที่สุด แสดงดังรูปที่ 2.1 (Ahmadjian และคณะ, 2023)



รูปที่ 2.1 อาณาจักรฟังไจ

(ที่มา: Roehl, 2020)

2.2 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา (Morphological characteristics)

เชื้อราเป็นกลุ่มสิ่งมีชีวิตที่ลักษณะโครงสร้าง สี รูปร่าง ที่มีลักษณะเฉพาะแตกต่างกัน โดย การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาสามารถสังเกตได้ ดังนี้

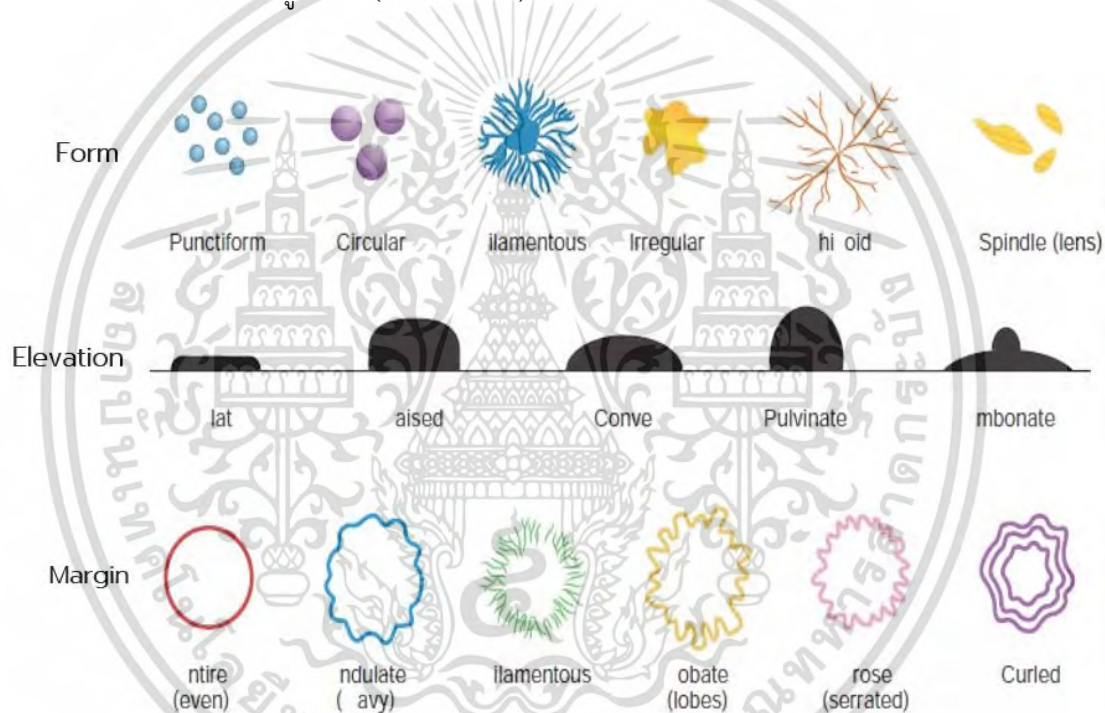
2.2.1 ลักษณะโคโลนี (Colony morphology)

2.2.1.1 ลักษณะรูปร่างของโคโลนี (Colony from) มี 6 ลักษณะ ได้แก่ รูปร่างกลมมีลักษณะเป็นจุดเล็กๆ (Punctiform) รูปร่างกลม (Circular) รูปร่างเส้นสาย (Filamentous) รูปร่างไม่แน่นอน (Irregular) รูปร่างคล้ายราก (Rhizoid) และรูปร่างกระสวย (Pindle) เอกสารนี้เขียนขึ้นเพื่อวัตถุประสงค์ในการศึกษาและเผยแพร่ความรู้เกี่ยวกับเชื้อราและสิ่งมีชีวิตที่เกี่ยวข้องในสาขาชีววิทยาและจุลชีววิทยา โดยใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.1.2 ลักษณะการยกตัวของโคโลนี (Colony elevation) มี 5 ลักษณะ ได้แก่ แบนราบ (Flat) ยกขึ้นจากผิวหน้าอาหาร (Raised) โค้งนูนขึ้นจากผิวหน้าอาหารเล็กน้อย (Convex) โค้งนูนสูงจากผิวหน้าอาหาร (Pulvinate) และโค้งนูนขึ้นจากผิวหน้าอาหารและมีปุ่มตรงกลาง (Umbonate)

2.2.1.3 ลักษณะขอบของโคโลนี (Colony margin) มี 6 ลักษณะ ได้แก่ ขอบเรียบ (Entire) ขอบหยักคล้ายลูกคลื่น (Undulate) ขอบเป็นเส้นสาย (Filiform) ขอบโค้งเว้าคล้ายกลีบดอกไม้ (Lobate) ขอบหยักเป็นฟันปลา (Erose) และขอบหยักขนานกัน (Curled)

2.2.1.4 ลักษณะผิวหน้าของโคโลนี (Colony surface) มี 4 ลักษณะ ได้แก่ ผิวหน้าเรียบ (Smooth) ผิวหน้าเป็นวงแหวนซ้อนกันเป็นชั้น (Concentric) ผิวหน้าเหี่ยวย่น (Wrinkled) และผิวหน้าเกลี้ยงแต่เป็นลูกคลื่น (Contoured)

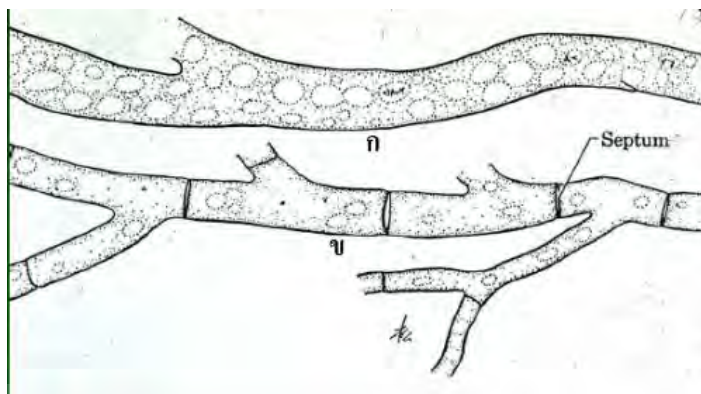


รูปที่ 2.2 ลักษณะรูปแบบของโคโลนี (Colony)
(ที่มา: ค้นจากรฐานข้อมูลออนไลน์ Brainkart.com)

2.2.2 ลักษณะเส้นใย (Hyphae)

เส้นใยของเชื้อราสามารถเจริญออกไปได้อย่างไม่จำกัด โดยเส้นใยถูกแบ่งออกเป็น 2 ประเภท คือ แบบไม่มีผนังกั้น (Nonseptate hyphae หรือ Coenocytic hyphae) มีลักษณะเป็นท่อภายในมีไซโทพลาสซึมและนิวเคลียสที่พบได้ในเชื้อราชั้นต่ำ และแบบมีผนังกั้น (Septate hyphae) ภายในเส้นใยมีผนังกั้น (Septum) เป็นช่วง ๆ (รูปที่ 2.3)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

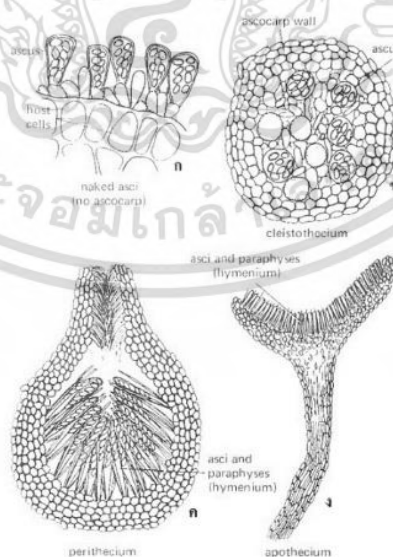


รูปที่ 2.3 ลักษณะของเส้นใย (ก) แบบไม่มีผนังกั้น (Non-septate) (ข) เส้นใยแบบมีผนังกั้น (Septate)

(ที่มา: ดัดแปลงจาก <http://faculty.washington.edu/sr320/?p=3324>)

2.2.3 ลักษณะฟรุตติ้งบอดี้ (Fruiting body)

เชื้อราในไฟลัม Ascomycota มีฟรุตติ้งบอดี้ หรือแอสโคคาร์ป (Ascocarp) หรือเรียกอีกอย่างว่าแอสโคมา (Ascoma) (พหูพจน์: แอสโคมาทา, Ascomata) ซึ่งฟรุตติ้งบอดี้ โดยส่วนใหญ่แล้วประกอบด้วยเส้นใยที่พันกันอย่างแน่นหนา และอาจมีถุงเก็บสปอร์ (Asci) โดยในแต่ละแอสโคคาร์ปประกอบไปด้วย แอสโคสปอร์ (Ascospore) จำนวน 4, 8 หรือมากกว่า โดยทั่วไปแล้วส่วนของแอสโคคาร์ปมีรูปร่างแบบถ้วย (Blow-shaped หรือ Apothecia) รูปร่างกลม (Spherical หรือ Cleistothecia) หรือรูปร่างคล้ายกระดิกน้ำ (Flask-like หรือ Perithecia) ซึ่งปากอาจเปิด หรือปิดก็ได้ (Samson, 2016) (รูปที่ 2.4)

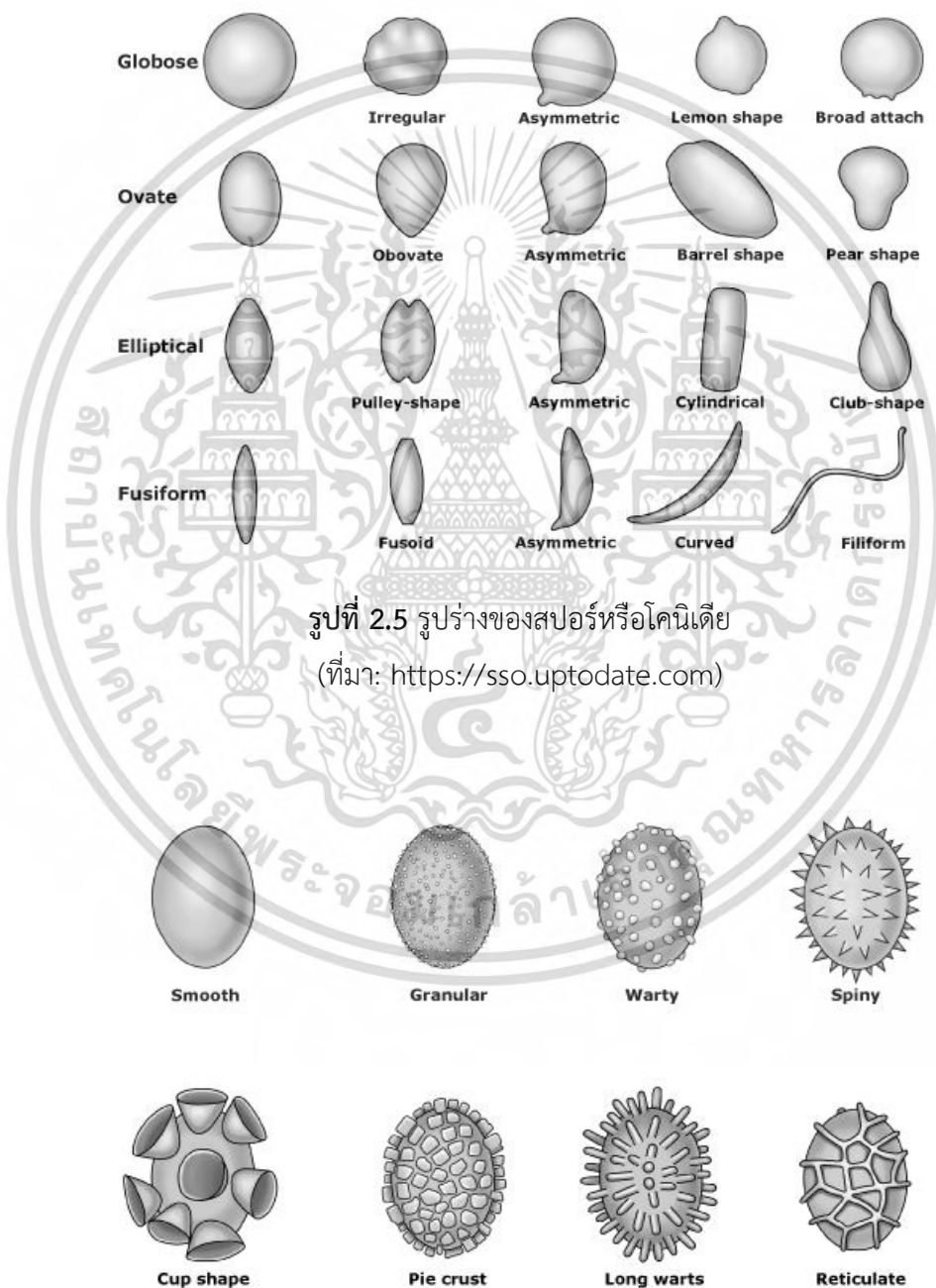


รูปที่ 2.4 ลักษณะของแอสโคคาร์ป (ก) สปอร์แบบเปลือย (ไม่มีแอสโคคาร์ป), (ข) แบบรูปร่างกลม (Cleistothecia), (ค) แบบรูปร่างคล้ายกระดิกน้ำ (Perithecia), (ง) รูปร่างแบบถ้วย (Apothecia)

(ที่มา: ดัดแปลงจาก <http://comenius.susqu.edu/biol/202/fungi/ascomycota/ascomycota>)

2.2.4 ลักษณะของสปอร์ (Spore) และโคนิเดีย (Conidia)

สปอร์ หรือโคนิเดียมีลักษณะรูปร่างหลากหลายแบบ เช่น รูปไข่ (Ovate) รูปทรงกลม (Globose) รูปทรงกระสวย (Fusiform) และรูปวงรี (Elliptical) (รูปที่ 2.5) ซึ่งพื้นผิวของสปอร์ หรือโคนิเดียมีลักษณะหลายแบบ เช่น แบบเรียบ (Smooth) แบบปุ่มปม (Warty) แบบขรุขระ (Granule) แบบหนาม (Spiny) แบบปุ่มถ้วย (Cup shape) แบบหนามยาว (Long warts) แบบแป้งพาย (Pie crust) และแบบร่างแห (Reticulate) (รูปที่ 2.6)



รูปที่ 2.5 รูปร่างของสปอร์หรือโคนิเดีย
(ที่มา: <https://sso.uptodate.com>)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับกา **รูปที่ 2.6** พื้นผิวของสปอร์หรือโคนิเดียให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้ง (ที่มา: <https://www.uptodate.com/contents/image>) ครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3 ลักษณะทั่วไปของเชื้อรากลุ่ม Ascomycetes

2.3.1 เชื้อราสกุล *Fusarium*

อาณาจักร (Kingdom) Fungi

ไฟลัม (Phylum) Ascomycota

คลาส (Class) Sordariomycetes

อันดับ (Order) Hypocreales

วงศ์ (Family) Nectriaceae

สกุล (Genus) *Fusarium*

(Mycobank, สืบค้น 7 พ.ค. 2566)

เชื้อราสกุล *Fusarium* เป็นเชื้อราที่มีการแพร่กระจายไปทั่วโลก โดยในปัจจุบันเชื่อมีจำนวน 1,742 สายพันธุ์ (Index fungorum, สืบค้น 8 พ.ค. 2566) โดยเชื้อราสกุล *Fusarium* เป็นเชื้อราเส้นใยที่มีสีของเส้นใยอยู่ในช่วงตั้งแต่สีขาวไปจนถึงสีชมพู หรือแดง (รูปที่ 2.7) มีการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ (Asexual reproduction) โดยมีการสร้างก้านชูสปอร์ (Conidiophore) ซึ่งในแต่ละสายพันธุ์จะมีลักษณะที่แตกต่างกันไป เชื้อราสกุล *Fusarium* มีการสร้างโคนิเดีย 3 ลักษณะ ได้แก่ มาโครโคนิเดีย (Macroconidia) คือ โคนิเดียที่มีขนาดใหญ่ และมีหลายเซลล์ (รูปที่ 2.8 ข) โดยจะมีรูปร่างและขนาดที่แตกต่างกันไปในแต่ละสายพันธุ์ ไมโครโคนิเดีย (Microconidia) เป็นโคนิเดียที่มีขนาดเล็ก มีเพียงเซลล์เดียว (รูปที่ 2.8 ก) โดยเป็นโคนิเดียที่มีการสร้างจากเส้นใยเหนือผิวอาหาร (Aerial mycelium) และคาร์ไมโดสปอร์ (Chlamydospores) เป็นโคนิเดียแบบไม่อาศัยเพศ มีผนังหนา ประกอบด้วยสารที่มีลักษณะคล้ายไขมัน ใช้ในการปกป้องโคนิเดียในช่วงฤดูหนาว โดยเป็นโคนิเดียที่เชื้อราสกุล *Fusarium* ส่วนใหญ่มีการสร้างขึ้นและมีการแพร่กระจายในดิน โดยผนังด้านนอกของคลาไมโดสปอร์นั้นอาจมีลักษณะเรียบ หรือขรุขระ และสามารถอยู่เป็นกระจุก กระจายตัว หรือเชื่อมต่อกันเป็นสายโซ่ (รูปที่ 2.8 ค) (Microbiologynote, สืบค้น 7 พ.ค. 2566) และพบการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ (Sexual reproduction) หรือระยะเทเลมอร์ฟ (Teleomorph) ในบางสายพันธุ์เท่านั้น (Samuels และคณะ, 2001) เชื้อราสกุล *Fusarium* เป็นเชื้อราที่ก่อโรคพืชที่สำคัญในพืชเศรษฐกิจโลก ส่งผลให้เกษตรกรทั่วโลกเกิดความเสียหายมูลค่าหลายพันล้านดอลลาร์ในแต่ละปี (Aoki และคณะ, 2014) โดยเฉพาะในพืชประเภทธัญญาหาร ซึ่งสามารถก่อโรคในมนุษย์ และสัตว์หากมีการบริโภคเข้าไป (Microbenotes, สืบค้น 7 พ.ค. 2566) นอกจากนั้นแล้วเชื้อราสกุล *Fusarium* ยังเป็นเชื้อราฉวยโอกาสที่ก่อโรคในมนุษย์ เช่นก่อโรคในกระเจตตา และเล็บ เป็นต้น ในขณะที่เดียวกันเชื้อราสกุล *Fusarium* สามารถสร้างสารพิษในรูปของสารพิษเมตาบอไลต์ทุติยภูมิ ซึ่งอาจก่อให้เกิดอันตรายต่ออาหาร และสุขภาพของมนุษย์ (Marasas และคณะ, 1984)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.7 ลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อราสกุล *Fusarium*
(ที่มา : Fonseca-Guerra และคณะ, 2022)



รูปที่ 2.8 ลักษณะโคนิเดียของเชื้อราสกุล *Fusarium* (ก) Microconidia (ข) Macroconidia
(ค) Chlamydospores
(ที่มา : ดัดแปลงจาก Okungbowa และคณะ, 2014)

2.3.2 เชื้อราสกุล *Penicillium*

อาณาจักร Fungi

ไฟลัม Ascomycota

คลาส Eurotiomycetes

อันดับ Eurotiales

วงศ์ Aspergillaceae

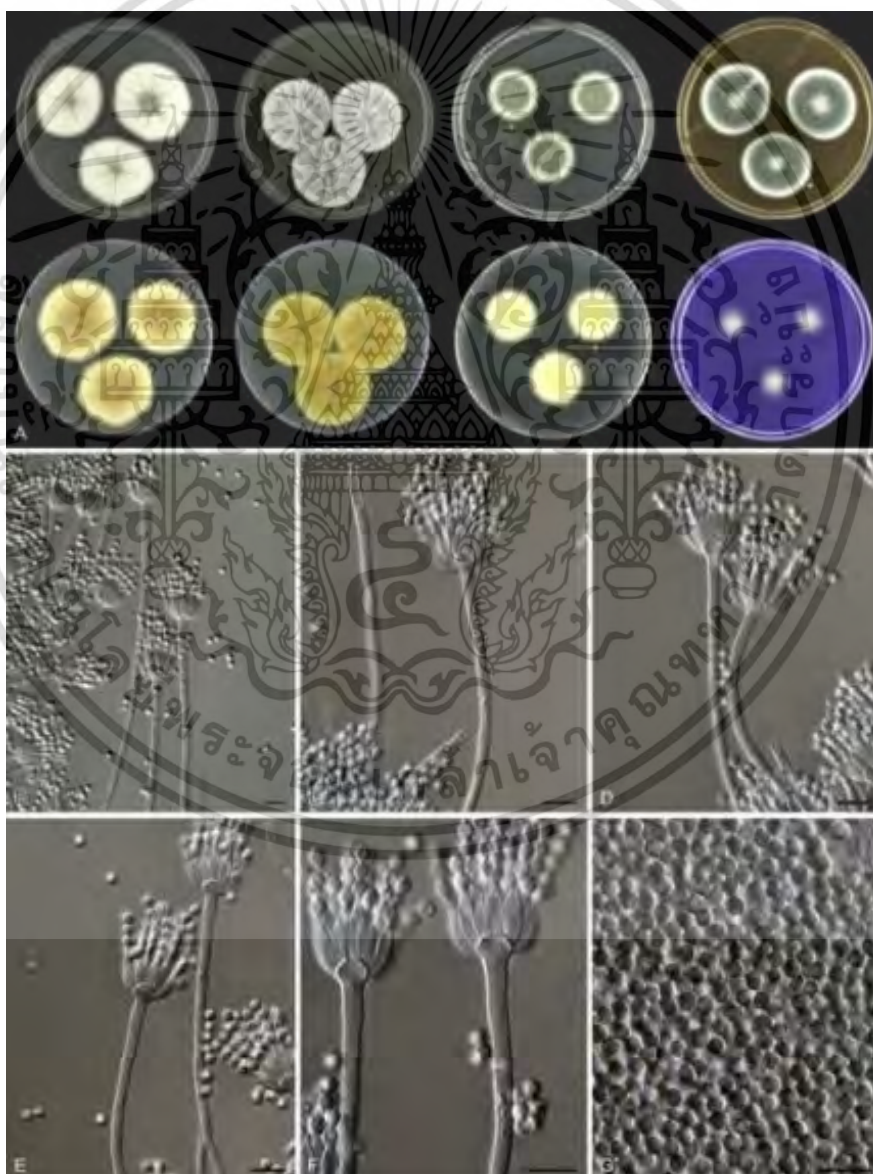
สกุล *Penicillium*

(Mycobank, สืบค้น 7 พ.ค. 2566)

เชื้อราสกุล *Penicillium* ถูกพบรายงานครั้งแรกในปี ค.ศ. 1809 โดยนักมานุษยวิทยาชาวเยอรมัน ชื่อ Heinrich Link (Tsang, 2018) ปัจจุบันเชื้อราสกุลนี้มีทั้งหมด 1,364 สายพันธุ์ (Index Fungorum, 2022) มีการสืบพันธุ์แบบทั้งอาศัยเพศ และไม่อาศัยเพศ โดยมีลักษณะของ

โคนิดิโอฟอร์ที่มีกิ่งก้านที่คล้ายไม้กวาด โคนินเดียมีลักษณะกลม และเป็นเซลล์เดี่ยวเกิดขึ้นที่ปลายของไฟอาไลด์ (Phialides) และเซลล์ที่เกิดขึ้นใหม่มาเรียงต่อกันเป็นโซ่ ซึ่งโคนินเดียมีลักษณะเฉพาะในแต่ละสายพันธุ์ ส่วนใหญ่มีสีเขียว และโปร่งใส โคลนินของเชื้อราสกุล *Penicillium* มีลักษณะเป็นสีขาวเมื่อยังอ่อน และเปลี่ยนเป็นสีเขียว สีเทา สีเหลือง และสีชมพูเมื่อเริ่มแก่ (Visagie และคณะ, 2014) (รูปที่ 2.9)

เชื้อราสกุล *Penicillium* มีบทบาทสำคัญในการใช้ย่อยสลายสารอินทรีย์ต่างๆ หลากหลายสายพันธุ์ ถูกนำมาใช้ในระดับอุตสาหกรรมเพื่อผลิตเอนไซม์ และนิยมใช้ในการผลิตยาปฏิชีวนะ (Antibiotics) ซึ่งมีความสำคัญในทางการแพทย์เป็นอย่างมาก โดยพบตามแหล่งอาศัยที่หลากหลาย เช่น ดิน ซากพืช ซากสัตว์ และอากาศ (Visagie และคณะ, 2014)



รูปที่ 2.9 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อราสกุล *Penicillium*
 เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นับว่าได้ออกไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 (ที่มา : Houbraken และคณะ, 2014)
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแบบส่งเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.3 เชื้อราสกุล *Pestalotiopsis*

อาณาจักร Fungi

ไฟลัม Ascomycota

คลาส Sordariomycetes

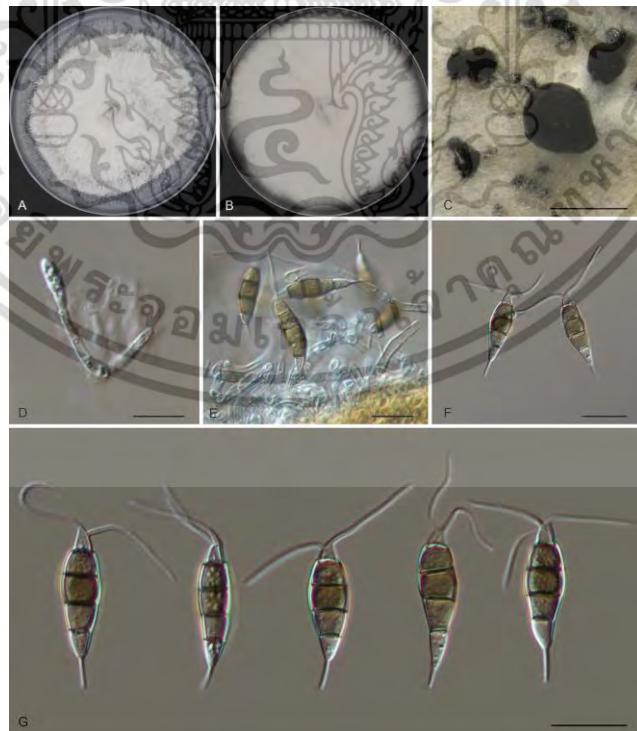
อันดับ Amphisphaeriales

วงศ์ Sporocadaceae

สกุล *Pestalotiopsis*

(Mycobank, สืบค้น 7 พ.ค. 2566)

เชื้อราสกุล *Pestalotiopsis* ค้นพบโดยแพทย์ชาวอิตาลีชื่อ Fortunato Pestalozza (Burkhardt และ Lotte, 2022) ซึ่งเชื้อราสกุลนี้สามารถระบุลักษณะได้อย่างง่ายจากการสร้างโคนิเดียรูปพระจันทร์เสี้ยวที่มีผนังกัน โดยมียางค์ (Appendages) ที่ปลายด้านใดด้านหนึ่ง หรือปลายทั้งสองด้าน (Liu และคณะ, 2019) มีการสร้างโคนิดีโอมาทา (Conidiomata) แบบคนโท (Acervuli) หรือแบบจาน (Pycnidia) โดยส่วนมากสามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า ซึ่งอยู่ในรูปของมวลสปอร์ที่มีสีดำ หรือสีน้ำตาล (Nag Rag, 1993) เชื้อราสกุล *Pestalotiopsis* เป็นเชื้อราก่อโรคในพืชที่สำคัญ โดยเฉพาะโรคใบจุด (Leaf spot diseases) (Jiang และคณะ, 2022) และยังเป็นเชื้อราประเภทเอนโดไฟท์ (Endophyte) ที่พบได้ทั่วไป และมีการสร้างสารเคมีเมตาบอไลต์ที่หลากหลาย (Maharachchikumbura และคณะ, 2011) (รูปที่ 2.10)



รูปที่ 2.10 ลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Pestalotiopsis anhuiensis* (CFCC 54791)
 เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ของสำนักงานหอการค้าแห่งชาตินครราชสีมา โดยผู้จัดทำหนังสือเรียนนี้ดำเนินการค้า
 ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแบบไปเผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาตของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.4 เชื้อราสกุล *Trichoderma*

อาณาจักร Fungi

ไฟลัม Ascomycota

คลาส Sordariomycetes

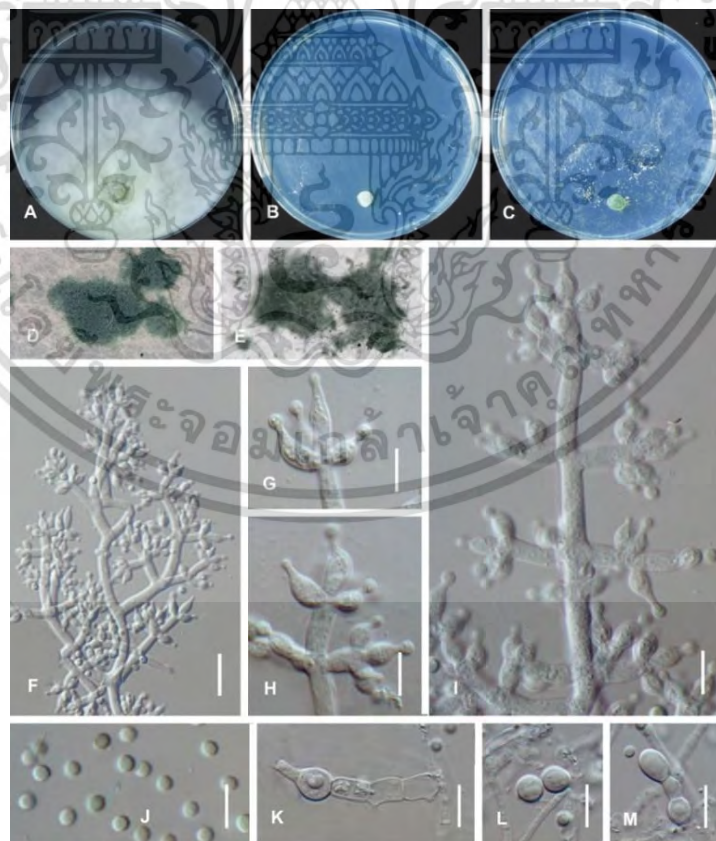
อันดับ Hypocreales

วงศ์ Hypocreaceae

สกุล *Trichoderma*

(Mycobank, สืบค้น 7 พ.ค. 2566)

เชื้อรา *Trichoderma* เป็นเชื้อราที่เป็นปรสิตสำหรับเชื้อราชนิดอื่น ๆ โดยดำรงชีวิตอยู่ในดิน อาศัยแหล่งอินทรีย์วัตถุเป็นแหล่งอาหาร เจริญได้รวดเร็วบนอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยเชื้อราจะสร้างเส้นใยสีขาว และผลิตโคโคนิเดีย หรือสปอร์รวมเป็นกลุ่มสีขาว เมื่อเจริญเติบโตเต็มที่จึงเปลี่ยนเป็นสีเขียวเข้ม และมีความสามารถในการเป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อราอื่นที่เป็นสาเหตุของโรคพืชหลายชนิด (ทวีทรัพย์ และกัญชลิลา, 2561) โดยเชื้อราสกุล *Trichoderma* ส่วนใหญ่ไม่มีระยะการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ โดยมีการสร้างสปอร์แบบไม่อาศัยเพศแทน ซึ่งการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศของเชื้อราสกุล *Trichoderma* จัดอยู่ในเชื้อราสกุล *Hypocrea* (Kirk และคณะ, 2008) (รูปที่ 2.11)



รูปที่ 2.11 ลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Trichoderma lentinulae*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์สำหรับโครงการศึกษาเท่านั้น เมื่อผู้ดูแลเห็นชอบให้เผยแพร่ขึ้นด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอยู่ภายใต้เงื่อนไขของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
(ที่มา : Gu และคณะ, 2020)

2.4 เม็ดดินเผาผสมเพอร์ไลต์ (Popperlite)

เม็ดดินเผาหรือพอปเปอร์ (Popper) (รูปที่ 2.12) มีชื่ออย่างเป็นทางการคือ Lightweight Expanded Clay Aggregate (LECA) มีการนำไปใช้อย่างแพร่หลายทั้งในทางด้านวิศวกรรมธรณีวิทยา และใช้ในการบำบัดน้ำเสีย โดยนำไปใช้ในการดูดซับไอออนของธาตุต่าง ๆ ที่ก่อให้เกิดการเน่าเสียของน้ำ (Amiri และคณะ, 2011) เม็ดดินเผาที่มีลักษณะที่เด่น คือ ผิวภายนอกและภายในที่มีรูพรุน และมีน้ำหนักเบา เม็ดดินเผานำไปใช้งานทางธรณีวิทยาส่วนใหญ่มีขนาด 10-25 หรือ 0-25 มิลลิเมตร มีความสามารถในการดูดซับน้ำได้ประมาณ 36% (Zukri และคณะ, 2018) นอกจากนี้แล้วเม็ดดินเผายังถูกนำมาประยุกต์ใช้ในด้านเกษตรกรรม โดยนำมาโรยหน้ากระถางต้นไม้เพื่อกักเก็บความชุ่มชื้นไว้ในดิน (PSU broadcast, 2021)

เนื่องจากการผลิตเม็ดดินเผานั้น ในต่างประเทศจะใช้ดินที่มีเฉพาะที่เมื่อได้รับความร้อนสูง แล้วจะเกิดเป็นรูพรุน ซึ่งดินชนิดดังกล่าวไม่พบในประเทศไทย จึงเกิดการประยุกต์ใช้ดินที่สามารถพบได้ในประเทศไทย เช่น ดินขาว เป็นต้น ซึ่งเมื่อนำดินขาวมาผลิตเป็นเม็ดดินเผา และผสมเพอร์ไลต์ (Perlite) ที่เป็นดินภูเขาไฟ และมีรูพรุนสูงเข้าไป จึงทำให้เม็ดดินมีความคงตัวสูงมาก โดยในขั้นตอนการผลิตนั้น เพอร์ไลต์มีลักษณะที่มีวงแหวนของน้ำอยู่ในโครงสร้าง เมื่อถูกเผาที่อุณหภูมิสูง วงแหวนจะแตก และเกิดการขยายตัวแตกตัวคล้ายพอปคอร์น แล้วเกิดเป็นรูพรุน (Samar และ Saxena, 2016) จึงเรียกว่าพอปเปอร์ และเนื่องจากการผสมเพอร์ไลต์ลงไปเม็ดดินเผาด้วยจึงเรียกว่าพอปเปอร์ไลต์ (Popperlite)

การใช้งานเม็ดดินเผาผสมเพอร์ไลต์ นั้นสามารถทำได้หลากหลาย คือ การผสมลงไปดิน เพื่อให้ดินมีความคงตัวมากขึ้น และสามารถทำให้อากาศเข้าไปยังรากพืชได้เนื่องจากการมีรูพรุน รวมถึงใช้โรยบริเวณผิวหน้าของกระถาง และใช้ในการปลูกพืชไฮโดรโปนิกส์ (PSU broadcast, 2021)

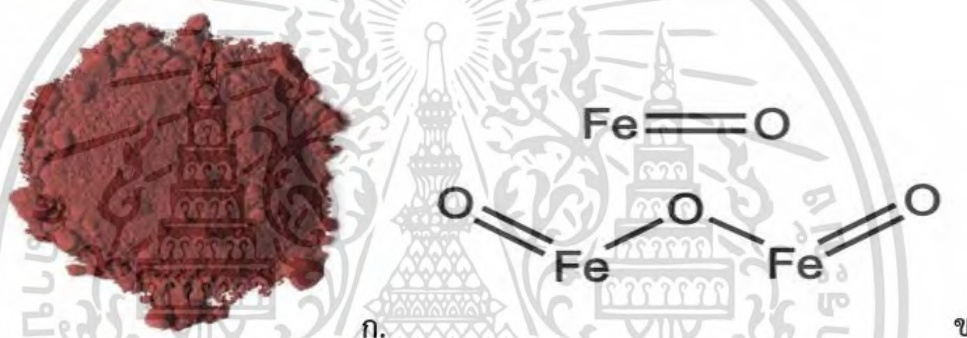


รูปที่ 2.12 เม็ดดินเผาผสมเพอร์ไลต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อผู้ใดเห็นหน้าไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5 เฟอริกออกไซด์ (Ferric oxide, Fe₂O₃) หรือไอออน(III) ออกไซด์ (Iron(III) Oxide)

เฟอริกออกไซด์ เป็นสารประกอบประเภทอนินทรีย์ (Inorganic compound) ที่มีสูตรโมเลกุลคือ Fe₂O₃ (รูปที่ 2.13) ซึ่งจัดเป็นหนึ่งในสามชนิดหลัก ๆ ของสารประกอบประเภทเหล็ก ในแร่ที่เรียกว่า เฮมาไทต์ (Hematite) และมักรู้จักกันในนามของสนิม โดยในทางเคมีนั้นถือว่าสนิมนั้นไม่ดีต่อวัสดุ เฟอริกออกไซด์นั้นเป็นที่ถือว่าเป็นวัสดุสำคัญที่ใช้ในอุตสาหกรรม เช่น อุตสาหกรรมสี หมึก และสารเคลือบ อุตสาหกรรมเครื่องสำอาง ใช้เป็นสารป้องกันแสง UV ใช้ในงานทันตกรรม เป็นวัตถุดับหลักในกาลาไมน์ (Calamine) ใช้เป็นสารเคลือบชั้นสุดท้ายในงานเครื่องประดับ และใช้เป็นแม่เหล็กในแถบแม่เหล็ก และนอกจากนั้นเฟอริกออกไซด์ยังมีความอันตรายต่อร่างกาย เพราะหากสูดดมธาตุเหล็กเข้าไปสามารถทำให้เกิดการระคายเคืองต่อระบบทางเดินอาหาร และปอด (NCBI, 2023)



รูปที่ 2.13 เฟอริกออกไซด์ (ก) ลักษณะของเฟอริกออกไซด์ (ข) โครงสร้างทางเคมี

(ที่มา: <https://noahchemicals.com/blog/difference-between-ferrous-and-ferric-oxide/>)

จากการทำการทดลองของ Parveen และคณะ (2018) ซึ่งได้ทำการเตรียม ระบุ และศึกษาฤทธิ์การยับยั้งเชื้อราของอนุภาคนาโนของไอออนออกไซด์ หรือเฟอริกออกไซด์โดยทำการรีดิวซ์ (Reduce) สารแทนนิน (Tannic) โดยในการศึกษาฤทธิ์การยับยั้งเชื้อรานั้น ได้ทำการศึกษากับเชื้อรา *Trichothecium roseum*, *Cladosporium herbarum*, *P. chrysogenum*, *Alternaria alternata* และ *Aspergillus niger* โดยการศึกษาการยับยั้งการงอกของสปอร์ และศึกษาโซนยับยั้งการเจริญ (Zone of Inhibition) โดยวิธีการ Agar well diffusion พบว่าในการการศึกษการยับยั้งการงอกของสปอร์โดยเฟอริกออกไซด์นั้น สามารถยับยั้ง *T. roseum* ได้ร้อยละ 87.74 ตามด้วย *C. herbarum* ที่ร้อยละ 84.89 ในส่วนของโซนยับยั้งการเจริญนั้น *P. chrysogenum* เกิดโซนยับยั้ง 28.67 มิลลิเมตร *A. niger* เกิดโซนยับยั้ง 26.33 มิลลิเมตร *T. roseum* เกิดโซนยับยั้ง 22.67 มิลลิเมตร *A. alternata* เกิดโซนยับยั้ง 21.33 มิลลิเมตร และ *C. herbarum* เกิดโซนยับยั้ง 18.00 มิลลิเมตร ต่อมาในการศึกษาของ Sriramulu และคณะ (2020) ได้ทำการศึกษาฤทธิ์การยับยั้งแบคทีเรีย และฤทธิ์การยับยั้งเชื้อราในอนุภาคนาโนของไอออนออกไซด์ ที่สังเคราะห์ได้จากสารสกัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ของศูนย์เพื่อการศึกษาทางไกล ไม่นับค่าใด ๆ ที่ปรากฏในเอกสารนี้หากมีความผิดพลาดประการใดขออภัยไว้ก่อน

จาก *Aegle marmelos* ที่ได้ทำการศึกษาฤทธิ์การยับยั้งเชื้อรา *F. solani* ที่คัดแยกได้จากดินบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Sabouraud dextrose agar (SDA) ด้วยวิธีการ Discs diffusion โดยทำการทดสอบการยับยั้งเชื้อราของ ไอรอนออกไซด์เทียบกับ Fluconazole ผลคือ ไอรอนออกไซด์เกิดโซนยับยั้ง 12 ± 0.53 มิลลิเมตร และ Fluconazole เกิดโซนยับยั้งที่ 7 ± 0.38 มิลลิเมตร

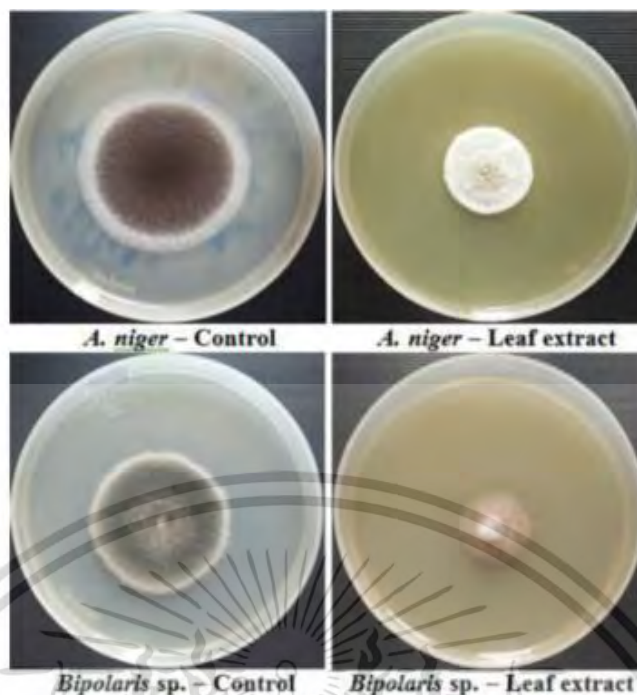
2.6 ฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อรา (Antifungal activity) โดยวิธีการ Poisoned plate

วิธี Poisoned plate เป็นการทดสอบที่ผสมสารทดสอบกับอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีความเข้มข้นที่แตกต่างกัน เพื่อทำให้เกิดความเป็นพิษในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อใช้ในการทดสอบการเจริญของเส้นใยเชื้อรา (กัลทิมา, 2554) โดยสารทดสอบจะถูกเติมลงไปโดยตรงในอาหารแข็งที่ยังไม่แข็งที่ความเข้มข้นสุดท้าย และทำการผสมจนเข้ากัน จากนั้นจึงทำการเทอาหารลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ (Petri dishes) แล้วทำการย้ายชิ้นส่วนของเส้นใยเชื้อราที่ใช้ในการทดสอบที่มีขนาดขนาด 2 ถึง 5 มิลลิเมตร โดยนำมาวางไว้ ณ จุดกึ่งกลางของจานอาหารเลี้ยงเชื้อ หลังจากนั้นจึงทำการบ่มที่สภาวะที่เหมาะสมสำหรับเชื้อราที่ทำการทดสอบ วัดขนาดโคโลนีของเชื้อราที่เจริญบนอาหารทดสอบ เทียบกับชุดควบคุม โดยฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของสารทดสอบ (Balouiri และคณะ, 2016) สามารถคำนวณได้จากสูตร

$$\text{ฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญ (ร้อยละ)} = \frac{\text{ขนาดโคโลนีของชุดควบคุม} - \text{ขนาดโคโลนีของชุดทดสอบ}}{\text{ขนาดโคโลนีของชุดควบคุม}} \times 100$$

จากรายงานของ Dahal และ Shrestha (2018) พบว่า ได้มีการทำการทดสอบ *F. oxysporum* เป็นเชื้อก่อโรคในดินซึ่งพบได้ทั่วไปในดิน โดยใช้วิธี Poisoned plate เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของสารฆ่าเชื้อราโดยใช้สารทดสอบการยับยั้งเชื้อรา 3 ชนิด คือ คาร์เบนดาซิม (Carbendazim) ร้อยละ 50 WP คลอโรทาโลนิล (Chlorothalonil) ร้อยละ 75 WP ไดเทนเอ็ม 45 (Dithane-M45) ร้อยละ 75 WP ผสมลงไปกับอาหาร PDA ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน 3 ระดับ คือ 100, 150 และ 200 ppm จากนั้น วัดเส้นผ่านศูนย์กลางของเส้นใยเชื้อรา โดยเทียบกับค่าการเจริญเติบโตกับชุดควบคุม คือ เชื้อรา *F. oxysporum* บริสุทธิ์ที่ทำการเลี้ยงบนอาหาร PDA ที่ไม่มีการผสมสารทดสอบลงไป ต่อมาในการศึกษาของ Sabana และคณะ (2018) ได้ทำการศึกษาฤทธิ์การยับยั้งเชื้อราโดยวิธีการ Poisoned plate จาก *Geophila repens* (L.) I. M. Johnst. (Rubiaceae) พบว่าฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของ *A. niger* และ *Bipolaris* sp. อยู่ที่มากกว่าร้อยละ 50 ของการยับยั้งการเจริญ (รูปที่ 2.14)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

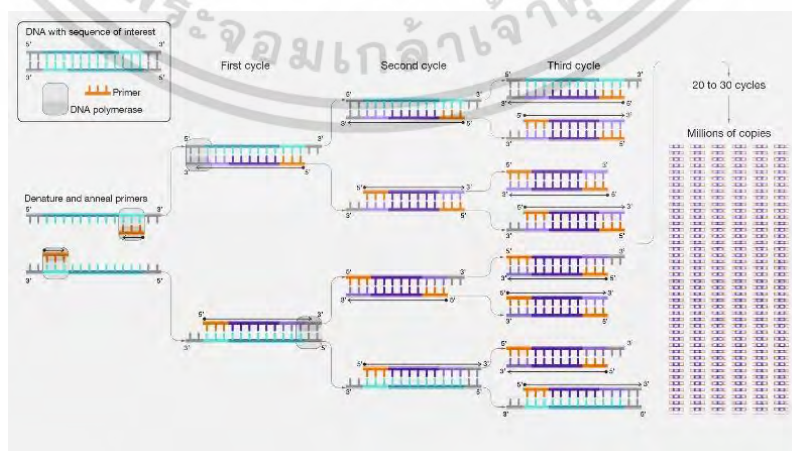


รูปที่ 2.14 การทดสอบการเจริญของเชื้อราของชุดควบคุมและชุดทดสอบโดยวิธี Poisoned plate (ที่มา: Sabana และคณะ, 2018)

2.7 การระบุสายพันธุ์โดยใช้ลำดับนิวคลีโอไทด์ (DNA Sequencing)

การระบุสายพันธุ์ด้วยลำดับนิวคลีโอไทด์ ซึ่งเป็นหนึ่งในวิธีการทางโมเลกุล มีการนำมาใช้ควบคู่กับลักษณะทางสัณฐานวิทยาในการจำแนก หรือระบุสายพันธุ์ของเชื้อรา เนื่องจากโดยทั่วไปเชื้อราถูกจัดเป็นกลุ่มสิ่งมีชีวิตที่มีความหลากหลาย ลักษณะทางสัณฐานวิทยาจึงสามารถเปลี่ยนแปลงไปตามสภาพแวดล้อม ดังนั้นจึงยากต่อการจำแนกสายพันธุ์ ซึ่งวิธีการระบุสายพันธุ์ด้วยการระบุลำดับนิวคลีโอไทด์สามารถช่วยให้การจำแนกสายพันธุ์ของเชื้อราที่ยากต่อการระบุสายพันธุ์ซึ่งมีความซับซ้อนออกจากกันอย่างมีประสิทธิภาพ (มัลลิกา, 2557) เริ่มทำการระบุสายพันธุ์โดยการระบุลำดับนิวคลีโอไทด์ด้วยการสกัดดีเอ็นเอ ซึ่งมีหลากหลายวิธี เช่น วิธีการ CTAB ซึ่งเป็นวิธีการที่มีการใช้อย่างแพร่หลาย ทั้งในด้านของงานเนื้อเยื่อพืช และรวมถึงงานทางด้านเชื้อราด้วย ซึ่งวิธีการ CTAB เป็นวิธีการที่ง่าย ค่าใช้จ่ายในการดำเนินการไม่สูงมากนัก แต่มีข้อเสีย คือ ในการปฏิบัติใช้ระยะเวลาานและปริมาณงานที่ได้ต่ำ มีหลายขั้นตอนที่ต้องใช้ความระมัดระวัง มีการสัมผัสกับสารเคมีอันตราย (Zymoresearch, 2022) ดังนั้นในปัจจุบันจึงมีการพัฒนาวิธีในการสกัดดีเอ็นเอขึ้น เพื่อให้เกิดความสะดวก และรวดเร็ว เช่น วิธีการสกัดดีเอ็นเอที่รวดเร็ว และง่าย (Rapid and simple method) ซึ่งเป็นวิธีที่มีเอกลักษณ์ โดยในการทำการสกัดดีเอ็นเอ นั้น จะใช้เพียงปลายของส่วนไมซีเลียมเพียงเล็กน้อยเท่านั้น และไม่มีการใช้ไนโตรเจนเหลว (Liquid nitrogen) หรือเครื่องมือและอุปกรณ์อื่น ๆ ในการทำให้ผนังเซลล์ของเชื้อราแตก โดยในการสกัดดีเอ็นเอด้วยวิธีนี้นั้น มีการใช้วัสดุและอุปกรณ์ที่น้อย มีวิธีการทำที่ง่าย รวดเร็ว และประหยัดค่าใช้จ่ายเมื่อเทียบกับวิธีการในการสกัดดีเอ็นเอแบบต่าง ๆ ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

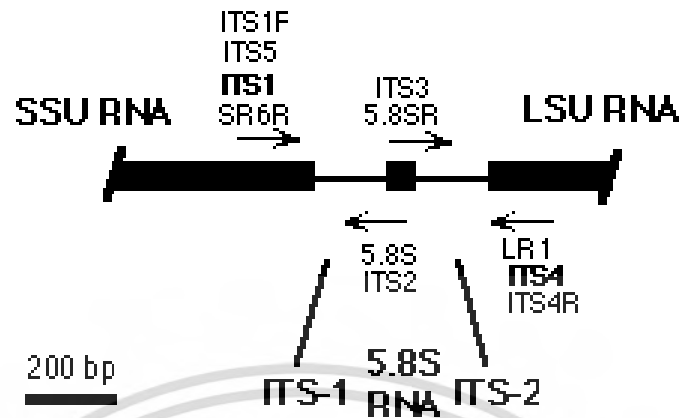
(Tangthirasunun และ Poeaim, 2022) ซึ่งดีเอ็นเอ (DNA) เป็นแหล่งข้อมูลทางพันธุกรรมของสิ่งมีชีวิตโดยอาศัยการเก็บในรูปแบบของรหัสพันธุกรรม และสามารถเพิ่มจำนวนได้โดยการจำลองตัวเองมีหลากหลายวิธี จากนั้นนำดีเอ็นเอมาทำการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิคพีซีอาร์ (Polymerase chain reaction, PCR) ซึ่งเป็นวิธีที่ใช้ในห้องปฏิบัติการทั่วไปและถูกนำมาใช้ในหลายด้าน เช่น ทางชีววิทยา การแพทย์ หรือนิเวศวิทยาบางสาขา (Yourgenome, 2021) ซึ่งหลักการในการจำลองตัวของดีเอ็นเอ (DNA replication) มี 3 ขั้นตอน โดยเริ่มจากการแยกดีเอ็นเอเกลียวคู่ออกจากกันให้เป็นสายเดี่ยว (Denaturation) ซึ่งเป็นการใช้ความร้อนทำให้เกิดการเสียสภาพ โดยการทำลายพันธะไฮโดรเจน ซึ่งเป็นการแยกดีเอ็นเอแม่แบบที่มีเบสคู่สมจับเป็นดีเอ็นเอสายคู่ (Double stranded DNA) ให้เป็นดีเอ็นเอสายเดี่ยว (Single stranded DNA) ขั้นตอนต่อมา คือ การจับของดีเอ็นเอแม่แบบกับไพรเมอร์ (Annealing) ซึ่งไพรเมอร์ 2 ชนิด เกิดการเข้าจับกับดีเอ็นเอแม่แบบที่เป็นเบสคู่สมบนดีเอ็นเอสายเดี่ยว ซึ่งในสิ่งมีชีวิตจะมีเอนไซม์ที่มีชื่อว่า ไพรเมส (Primase) เป็นตัวสร้างอาร์เอ็นเอไพรเมอร์ขึ้น และขั้นตอนสุดท้าย คือ การสังเคราะห์ดีเอ็นเอสายใหม่ต่อจากไพรเมอร์ (Extension) ซึ่งมีเอนไซม์ดีเอ็นเอพอลิเมอเรส (DNA polymerase) ทำหน้าที่ช่วยในการเชื่อมต่อนิวคลีโอไทด์ที่ปลาย 3'-OH ของไพรเมอร์ โดยทำ 3 ขั้นตอนดังกล่าวซ้ำหลาย ๆ รอบ (Joshi และคณะ, 2011) (รูปที่ 2.15) โดยตำแหน่งที่นิยมนำมาทำการระบุชนิดของเชื้อรา คือ ตำแหน่ง Internal transcribed spacer (ITS) เพราะสามารถพบได้ในเชื้อราทุกชนิด โดยตำแหน่ง ITS1-5.8S-ITS2 นั้นมีไพรเมอร์ที่สามารถเข้าจับได้หลายชนิด (รูปที่ 2.16) ซึ่งในเชื้อราแต่ละชนิดมีขนาดที่แตกต่างกัน อยู่ในช่วงประมาณ 500-900 คู่เบส โดยพบว่าตำแหน่ง ITS คือตำแหน่งที่ลำดับนิวคลีโอไทด์มีความผันแปรทางพันธุกรรมสูง (Variation) เหมาะสมในการจัดจำแนกความแตกต่างระดับสกุล หรือสายพันธุ์ของเชื้อราบางชนิด นอกจากนี้ยังพบว่าในตำแหน่งนี้มีจำนวนซ้ำ (Copy number) ของชุด rDNA (Ribosomal DNA) ที่สูง ซึ่งทำให้เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้ง่ายในวิธีการทำพีซีอาร์ จากตัวอย่างที่มีปริมาณดีเอ็นเอเล็กน้อย (มัลลิกา, 2557)



รูปที่ 2.15 ขั้นตอนของเทคนิคพีซีอาร์ (Polymerase chain reaction; PCR)

เอกสารนี้เป็นเอกสารสงวนลิขสิทธิ์ ห้ามนำไปเผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาต
 (ที่มา: <https://www.genome.gov/genetics-glossary/Polymerase-Chain-Reaction>)

ITS primers



Primers for routine sequencing are shown in **bold**

รูปที่ 2.16 แผนผังแสดงตำแหน่ง ITS (Internal Transcribed Spacer) ของ rDNA (Ribosomal DNA) โดยกล่องทึบดำแทนหน่วยย่อยของไรโบโซม ลูกศรแทนตำแหน่งของ PCR และไพรเมอร์ตามลำดับ

(ที่มา: <http://home.psu.ac.th/~4823002/Molecular ITS.htm>)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 เม็ดดินเผาสมเพอร์ไลต์

เม็ดดินเผาสมเพอร์ไลต์ที่มีการเจริญของเชื้อราได้รับการอนุเคราะห์จาก ผศ.ดร.เมตยา กิติวรรณ อาจารย์ประจำภาควิชาฟิสิกส์ประยุกต์

3.2 อุปกรณ์

3.2.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงและศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา

- 3.2.1.1 จานเพาะเลี้ยงเชื้อ (Petri dish/Culture plate)
- 3.2.1.2 เข็มเขี่ยเชื้อ (Needle)
- 3.2.1.3 กระจกสไลด์และแผ่นปิด (Slide and Cover slip)
- 3.2.1.4 กระบอกลม (Cylinder)
- 3.2.1.5 แท่งแก้วคนสาร (Glass rod)
- 3.2.1.6 ช้อนตักสาร (Spatula)
- 3.2.1.7 ปีกเกอร์ (Beaker)
- 3.2.1.8 ขวดดูแรน (Duran Bottle)
- 3.2.1.9 กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ (Stereomicroscope)
- 3.2.1.10 กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (Light-microscope)
- 3.2.1.11 เครื่องชั่งสารดิจิตอล (Electronics balance scale)
- 3.2.1.12 ตู้ปลอดเชื้อ (Biological safety cabinet)
- 3.2.1.13 ตะเกียงแอลกอฮอล์ (Alcohol burner)
- 3.2.1.14 ดิจิตัลเวอร์เนียคาลิเปอร์ (Digital vernier caliper)

3.2.2 อุปกรณ์ที่ใช้ในการสกัดดีเอ็นเอ

- 3.2.2.1 หลอดไมโครเซ็นติฟิวจ์ (Microcentrifuge tube) ขนาด 1.5 มิลลิลิตร
- 3.2.2.2 เครื่องดูดจ่ายสารละลายอัตโนมัติ (Micropipette)
- 3.2.2.3 ทิป (Tip)
- 3.2.2.4 เครื่องปั่นเหวี่ยงตะกอนสาร (Centrifuge)
- 3.2.2.5 เครื่องปั่นเหวี่ยงตะกอนสารขนาดเล็ก (Spin down centrifuge)
- 3.2.2.6 ฮีตบ็อกซ์ (Heat box)

3.2.3 อุปกรณ์ที่ใช้ในเทคนิคพีซีอาร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ของศูนย์วิจัยเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น ยกเว้นหากมีเหตุที่จำเป็นจริงๆ และต้องขออนุญาตจากศูนย์วิจัยทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- 3.2.3.1 เครื่องเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม (PCR thermal cycler)

3.2.4 อุปกรณ์ที่ใช้ในเทคนิคเจลอิเล็กโตรโฟรีสิส (Gel electrophoresis)

3.2.4.1 ชุดอะกาโรสเจลอิเล็กโตรโฟรีสิส (Agarose gel electrophoresis)

3.2.4.2 เครื่องวิเคราะห์ภาพเจลด้วยแสงอัลตราไวโอเล็ต (UV transilluminator)

3.3 อาหารเลี้ยงเชื้อรา

3.3.1 Potato Dextrose Agar (PDA)

3.3.2 Water Agar (WA)

3.4 สารเคมี

3.4.1 สารเคมีในการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อรา

3.4.1.1 น้ำกลั่นปลอดเชื้อ (Sterilize Distilled Water)

3.4.1.2 แลคโตฟีนอล (Lactophenol) บริษัท HiMedia Laboratory (สาธารณรัฐ

อินเดีย)

3.4.1.3 แอลกอฮอล์ ความเข้มข้น 70% (70% Ethanol)

3.4.1.4 แอลกอฮอล์ ความเข้มข้น 95% (95% Ethanol)

3.4.2 สารเคมีที่ใช้ในการสกัดดีเอ็นเอ

3.4.2.1 สารละลายบัฟเฟอร์ทริสกรดเอทิลีนไดเอมีนเตตระอะซิติก (Tris-ethylene diamine tetra acetic acid, TE buffer)

3.4.3 สารเคมีที่ใช้ในเทคนิคพีซีอาร์

3.4.3.1 น้ำกลั่นบริสุทธิ์ (Deionized water)

3.4.3.2 ดิวอกซีนิวคลีโอไทด์ (2'-Deoxynucleoside 5'-triphosphate, dNTPs) ความเข้มข้น 100 มิลลิโมลาร์ บริษัท Invitrogen (สหรัฐอเมริกา)

3.4.3.3 ไพรมเมอร์ (Primer) (ตามตารางที่ 3.1)

3.4.3.4 สารละลายบัฟเฟอร์พีซีอาร์ ความเข้มข้น 10 เท่า (10× Standard *Taq* reaction buffer)

3.4.3.5 เอนไซม์ *Taq* DNA polymerase บริษัท New England BioLabs (สหราชอาณาจักร)

3.4.4 สารเคมีที่ใช้ในเทคนิคเจลอิเล็กโตรโฟรีสิส

3.4.4.1 อะกาโรสเจล (Agarose gel) บริษัท Vivantis (สาธารณรัฐมาเลเซีย)

3.4.4.2 เครื่องหมายดีเอ็นเอ ขนาด 100 คู่เบส (DNA ladder VC 100 bp) บริษัท Vivantis (สาธารณรัฐมาเลเซีย)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่ 3.4.4.3 สารละลายบัฟเฟอร์ทริสกรดบอเรตเอทิลีนไดเอมีนเตตระอะซิติก (Tris-borate ethylene diamine tetra acetic acid, TBE buffer) ของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.4.4 เอทิดียมโบรไมด์ (Ethidium bromide, $C_{21}H_{20}BrN_3$)

3.4.4.5 สีย้อมดีเอ็นเอ ความเข้มข้น 3 เท่า (3x Gel loading dye) บริษัท New England Biolabs (สหราชอาณาจักร)

3.4.5 สารเคมีที่ใช้ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา

3.4.5.1 เฟอร์ริกออกไซด์ (Ferric oxide, Fe_2O_3) บริษัท เซอร์นิค อินเตอร์เนชันแนล จำกัด (ราชอาณาจักรไทย)

ตารางที่ 3.1 ไพรเมอร์ที่ใช้ในเทคนิคพีซีอาร์ (PCR)

ไพรเมอร์	ลำดับเบส	ขนาดเบส (คู่เบส)
ITS 5 (F, ฟอว์เวิร์ส)	5'GGA AGT AAA AGT CGT AAC AAG G 3'	22
ITS 4 (R, รีเวิร์ส)	5'TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC 3'	20

3.5 การตัดแยกเชื้อราจากเมล็ดดินเผาผสมเพอร์ไลต์

ทำการแยกเชื้อราจากเมล็ดดินเผา ที่มีการเจริญของเชื้อราที่สามารถสังเกตเห็นได้ด้วยตาเปล่า ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Water agar (WA) ที่มีการเติมยาปฏิชีวนะ Amoxicillin เพื่อยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย บ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3 วัน เมื่อครบระยะเวลาบ่มแล้ว ตัดที่ปลายของเส้นใย (Hyphae tip) อาจทำการสังเกตปลายเส้นใยของเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ ย้ายส่วนขึ้นวุ้นที่ทำการตัดลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato dextrose agar (PDA) บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน (Torres-Calzada, และคณะ 2013)

3.6 การระบุสายพันธุ์เชื้อราที่เจริญเติบโตบนเมล็ดดินเผาผสมเพอร์ไลต์ด้วยวิธีการทางสัณฐานวิทยา

ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อราโดยการสังเกตลักษณะของโคโลนี ได้แก่ ผิวหน้า (Surface) ขอบ (Margin) รูปร่าง (Form) การยกตัว (Elevation) สีของโคโลนีด้านหน้า และด้านหลังของจานอาหารเลี้ยงเชื้อ (Color) การสร้างสารสีในอาหารเลี้ยงเชื้อ (Pigment) การหลั่งสารออกมาบนผิวหน้าโคโลนี (Exudate) และทำการศึกษาเส้นใย (Hypha) และโคนิเดีย (Conidia) โดยทำการศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง โดยเขียนส่วนของไมซีเลียม (Mycelium) ลงบนกระจกสไลด์ (Slide) ทำการย้อมด้วยสี Lactophenol (Alsohaili และ Bani-Hasan, 2018)

และทำการศึกษาอัตราการเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA บนจานอาหารเลี้ยงเชื้อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 90 มิลลิเมตร โดยทำการย้ายเชื้อราจากจานอาหาร PDA ที่มีอายุไม่เกิน 3 วันลงบนจุดกึ่งกลางของจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีอาหาร PDA โดยใช้ที่เจาะ (Cork borer) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง

5 มิลลิเมตร เจาะบริเวณขอบของโคโลนี ทำการทดลองซ้ำ 3 ซ้ำ บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง และทำการวัดไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ขนาดโคลนีนีทุก ๆ 2 วัน จนครบ 4 วัน โดยทำการวัดขนาดเส้นผ่านของโคลนีนีในแนวแกน X และ แกน Y โดยใช้ดิจิทัลเวอร์เนียคาลิปเปอร์ พร้อมทั้งบันทึกค่าที่วัดได้ และนำไปวิเคราะห์ทางสถิติ

3.7 การระบุสายพันธุ์เชื้อราที่เจริญเติบโตบนเมล็ดดินเผาผสมเพอร์ไลต์ด้วยลำดับนิวคลีโอไทด์

3.7.1 การสกัดดีเอ็นเอ (DNA Extraction) โดยวิธีการ Rapid DNA Extraction (Tangthira-sunun และ Poeaim, 2022)

เชื้อราไอโซเลตที่ไม่สามารถระบุสายพันธุ์ด้วยวิธีการทางสัณฐานวิทยาได้จำนวน 7 ไอโซเลต ถูกนำไปเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เป็นเวลา 5 ถึง 7 วัน ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นทำการเฉียไม่ซีเลียมลงในหลอดไมโครเซ็นติพีวักขนาด 1.5 มิลลิลิตร ที่มีบัฟเฟอร์ Tris-EDTA (TE) ที่มีค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 8 ปริมาตร 50 ไมโครลิตร นำหลอดไปบ่มในฮีตบ็อกซ์ที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที แล้วนำไปบ่มต่อที่ -80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 13,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 1 นาที สามารถเก็บรักษาดีเอ็นเอที่ถูกสกัดแล้ว โดยการเก็บไว้ในอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส จนกว่าจะใช้งาน

3.7.2 การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยเทคนิคพีซีอาร์ (Polymerase chain reaction, PCR)

สภาวะต่าง ๆ ในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยเทคนิคพีซีอาร์นั้นขึ้นกับไพรเมอร์ที่ใช้ โดยไพรเมอร์ที่ใช้คือ ITS5 และ ITS4 (ตารางที่ 3.1) โดยสารที่ใช้ในปฏิกิริยา และปริมาตรของสารแสดงในตารางที่ 3.2 สภาวะที่ใช้ในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอแสดงในตารางที่ 3.3 แล้วนำไปทำการตรวจสอบคุณภาพโดยใช้เทคนิคเจลอิเล็กโตรโฟรีซิส ทำการเตรียมเจลอะกาโรสความเข้มข้นร้อยละ 1 และใช้ Ladder VC 100 คู่เบส เป็นตัวเปรียบเทียบขนาดของดีเอ็นเอ ทำการรันโดยใช้บัฟเฟอร์ 0.5x TBE ด้วยแรงเคลื่อนไฟฟ้า 100 โวลต์ 30 นาที จากนั้นนำเจลที่ได้ไปทำการย้อมด้วยเอทีเดียมโบรไมด์ เป็นเวลา 10 นาที และในน้ำกลั่น 5 นาที แล้วนำไปอ่านผลที่เครื่องวิเคราะห์ภาพเจลด้วยแสงอัลตราไวโอเล็ต ซึ่งแถบของดีเอ็นเอเกิดการเรืองแสงขึ้นมาให้เห็นได้ บันทึกภาพที่ได้ แล้วนำผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ส่งวิเคราะห์ลำดับเบส (DNA sequencing) โดยใช้เทคนิค Barcode-tagged sequencing (BTSeq) ที่บริษัท CELEMICS, Inc. (สาธารณรัฐเกาหลี) แล้วนำข้อมูลที่ผ่านการวิเคราะห์ไปทำการตรวจสอบและแก้ไขด้วยโปรแกรม BioEdit version 7.2.5 จากนั้นนำข้อมูลลำดับเบสที่ได้ไปเทียบ (Alignment) เปรียบเทียบหาค่าความคล้ายคลึง (Identity) ผ่านโปรแกรม BLAST (Basic local alignment search tool) ในฐานข้อมูล GenBank NCBI (National center for biotechnology information) (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3.2 สารที่ใช้ในเทคนิคพีซีอาร์

สารที่ใช้	ความเข้มข้นของ สารละลายที่เตรียมไว้ สำหรับใช้งาน	ความเข้มข้นของ สารละลายที่ใช้ใน ปฏิกิริยาพอลิเมอเรส	ปริมาตร (ไมโครลิตร)
ดีเอ็นเอ			2.0
สารละลายบัฟเฟอร์ PCR	10 เท่า	1 เท่า	2.5
dNTPs	1.25 มิลลิโมลาร์	0.2 มิลลิโมลาร์	4.0
ไพรเมอร์ ITS5	20 พิโคโมล	0.8 พิโคโมล	1.0
ไพรเมอร์ ITS4	20 พิโคโมล	0.8 พิโคโมล	1.0
เอนไซม์ <i>Taq</i> polymerase	5000 หน่วย ต่อมิลลิลิตร	1 หน่วย	0.2
น้ำกลั่น			14.3
ปริมาตรสุทธิ			25.0

ตารางที่ 3.3 สภาวะที่ใช้ในเทคนิคพีซีอาร์ของคู่ไพรเมอร์ ITS4 และ ITS 5 (Tangthirasunun และคณะ, 2014)

ขั้นตอน	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	เวลา
Initial denaturation	94	5 นาที
denaturation	94	35 รอบ } 30 วินาที
annealing	50	
Extension	72	
Final Extension	72	
Cool down	4	-

3.8 การทดสอบยับยั้งการเจริญของเชื้อรา (Antifungal activity) ของเพอร์ริกออกไซด์

ทำการเลี้ยงเชื้อราโดยทำการย้ายเชื้อราลงบนอาหาร PDA บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน เพื่อเตรียมเชื้อเริ่มต้น (Starter) ซึ่งการทดลองวิธี Poisoned plate ทำได้โดยผสมสารเพอร์ริกออกไซด์ 100 กรัม (ร้อยละ 10) ลงไปในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที แล้วนำไปเทใส่จานอาหารเลี้ยงเชื้อขนาด 90 มิลลิเมตร รองจนผิวหน้าของอาหารแห้ง และแข็ง ใช้นิ้วชี้เจาะขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตรที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว เจาะที่โคโลนีของเชื้อราที่มีอายุ 3 วัน จากนั้นไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นำไปวางที่จุดกึ่งกลางของจานเลี้ยงเชื้อ ทำการวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีของเชื้อราบนอาหารที่มีสารทดสอบ เทียบกับชุดควบคุมบน PDA จากนั้นนำค่าที่ได้ไปวิเคราะห์ผลทางสถิติ

3.9 การวิเคราะห์ทางสถิติ

ข้อมูลจำนวน 3 ซ้ำ จะถูกนำไปคิดค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard Deviation, SD) แล้วนำเสนอออกมาในรูปของ $\bar{x} \pm SD$ ข้อมูลที่ได้จะถูกนำไปทดสอบรวม (Omnibus test) โดยใช้ ANOVA เพื่อตรวจสอบว่าค่าที่ได้มีความแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 หรือไม่ หากแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญข้อมูลจะถูกนำไปเปรียบเทียบความแตกต่างด้วยการทดสอบของ Tukey โดยใช้โปรแกรม SPSS เวอร์ชัน 29.0.0.0 (241)



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

4.1 การระบุสายพันธุ์เชื้อราที่เจริญเติบโตบนเมล็ดดินเผาผสมเพอร์ไลต์โดยวิธีการทาง สัณฐานวิทยา

สามารถคัดแยกเชื้อราได้ทั้งหมด 22 ไอโซเลต จากเมล็ดดินเผาผสมเพอร์ไลต์ ซึ่งแบ่งเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่สามารถคาดการณ์สกุล (Genus) ได้ด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยาเบื้องต้นจำนวน 15 ไอโซเลต ซึ่งแบ่งออกเป็น 5 สกุล คือ *Fusarium* sp., *Penicillium* sp., *Pestalotiopsis* sp., *Talaromyces* sp. และ *Trichoderma* sp. (ตารางที่ 4.1) และกลุ่มที่ไม่สามารถคาดการณ์สกุลได้ ด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยาเบื้องต้น โดยมีจำนวน 7 ไอโซเลต จึงถูกนำไประบุสายพันธุ์โดยใช้ลำดับ นิวคลีโอไทด์ต่อไป

โดยมีความสอดคล้องกับรายงานของ Elghareb (2021) ได้ทำการคัดแยกเชื้อราจากวัสดุ เครื่องปั้นดินเผา จาก Tell Atrib ใน Qalyubia, ประเทศอียิปต์ ซึ่งจากการทำการศึกษาพบเชื้อรา สกุล *Aspergillus* และ *Penicillium* ที่มีการเจริญบนเครื่องปั้นดินเผาโบราณ เช่นเดียวกับการศึกษา ของ Wang และคณะ (2021) ที่ได้ทำการวิเคราะห์ และควบคุมเชื้อราที่ตรวจพบได้บนพื้นผิวของ เครื่องปั้นดินเผาในสุสานของราชวงศ์อื่น พบว่าเชื้อราที่พบส่วนใหญ่อยู่ในไฟลัม Ascomycota แล้วยัง พบ Basidiomycota และ Mucoromycota ซึ่งได้ทำการสังเกตลักษณะสัณฐานวิทยาของโคโลนีของ เชื้อราที่พบบนผิวของเครื่องปั้นดินเผาบางส่วน พบ *P. aurantiogriseum* และ *A. flavus* เช่นเดียวกับในการศึกษานี้ที่สามารถคัดแยกเชื้อราจากเมล็ดดินเผาผสมเพอร์ไลต์ โดยพบเชื้อราสกุล *Penicillium* และ *Talaromyces* ซึ่งเชื้อราสกุล *Talaromyces* เป็นระยะสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ ของ *Penicillium* ต่อมาในรายงานของ Maharachchikumbura (2011) ที่ได้ระบุว่าเชื้อราสกุล *Pestalotiopsis* เป็นเชื้อราที่มีที่อยู่อาศัยใน พืชที่ติดโรค ดิน ภาชนะปลูกและวัสดุปูพื้น ซึ่ง สอดคล้องในการศึกษานี้ ที่สามารถพบเชื้อราสกุล *Pestalotiopsis* จากเมล็ดดินเผาผสมเพอร์ไลต์ที่ใช้ เป็นวัสดุโปรยหน้าดิน รวมทั้งมีรายงานของ Sande (2014) ที่พบว่าเชื้อราสกุล *Trichoderma* เป็น เชื้อราที่พบมากที่สุดในดิน และบ่อยครั้งสามารถคัดแยกได้จากดินในป่าหรือดินบริเวณพื้นที่ทำ การเกษตร รวมถึงบางครั้งก็พบว่าเชื้อราสกุล *Trichoderma* สามารถเจริญบนเชื้อราชนิดอื่น ๆ ได้ ด้วยเช่นกัน ดังนั้นจากแหล่งที่พบเชื้อราสกุลนี้ได้หลากหลายในดิน ซึ่งเมล็ดดินเผาผสมเพอร์ไลต์นั้นทำ มาจากดิน และนำมาประยุกต์ใช้โดยมีการสัมผัสโดยตรงกับดินเพาะปลูก จึงอาจทำให้เกิดโอกาสจาก เชื้อราสกุล *Trichoderma* เจริญเมล็ดดินเผาผสมเพอร์ไลต์ได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.1 ตารางคาดการณ์สกุลของเชื้อราที่สามารถคัดแยกได้จากเมล็ดดินเผาผสมเพอร์ไลต์

ไอโซเลต	สกุลที่คาดการณ์	วิธีที่ใช้คาดการณ์สกุล
22-073	<i>Trichoderma</i> sp.	สัณฐานวิทยา
22-074	<i>Pestalotiopsis</i> sp.	สัณฐานวิทยา
22-075	<i>Penicillium</i> sp.	สัณฐานวิทยา
22-076	<i>Penicillium</i> sp.	สัณฐานวิทยา
22-077	<i>Penicillium</i> sp.	สัณฐานวิทยา
22-078	<i>Penicillium</i> sp.	สัณฐานวิทยา
22-082	<i>Alternaria</i> sp.	สัณฐานวิทยา
22-084	<i>Fusarium</i> sp.	ลำดับนิวคลีโอไทด์
22-086	<i>Ceratobasidium</i> sp.	ลำดับนิวคลีโอไทด์
22-089	<i>Fusarium</i> sp.	สัณฐานวิทยา
22-090	<i>Penicillium</i> sp.	สัณฐานวิทยา
22-091	<i>Fusarium</i> sp.	สัณฐานวิทยา
22-093	<i>Alternaria</i> sp.	ลำดับนิวคลีโอไทด์
22-096	<i>Penicillium</i> sp.	สัณฐานวิทยา
22-097	<i>Simplicium obclacatum</i>	ลำดับนิวคลีโอไทด์
22-098	<i>Penicillium</i> sp.	สัณฐานวิทยา
22-099	<i>Penicillium</i> sp.	สัณฐานวิทยา
22-100	<i>Talaromyces</i> sp.	สัณฐานวิทยา
22-101	<i>Penicillium</i> sp.	สัณฐานวิทยา
22-102	<i>Penicillium</i> sp.	สัณฐานวิทยา
22-103	<i>Phaeosphaeriopsis</i> sp.	ลำดับนิวคลีโอไทด์
22-104	<i>Hortaea werneckii</i>	ลำดับนิวคลีโอไทด์

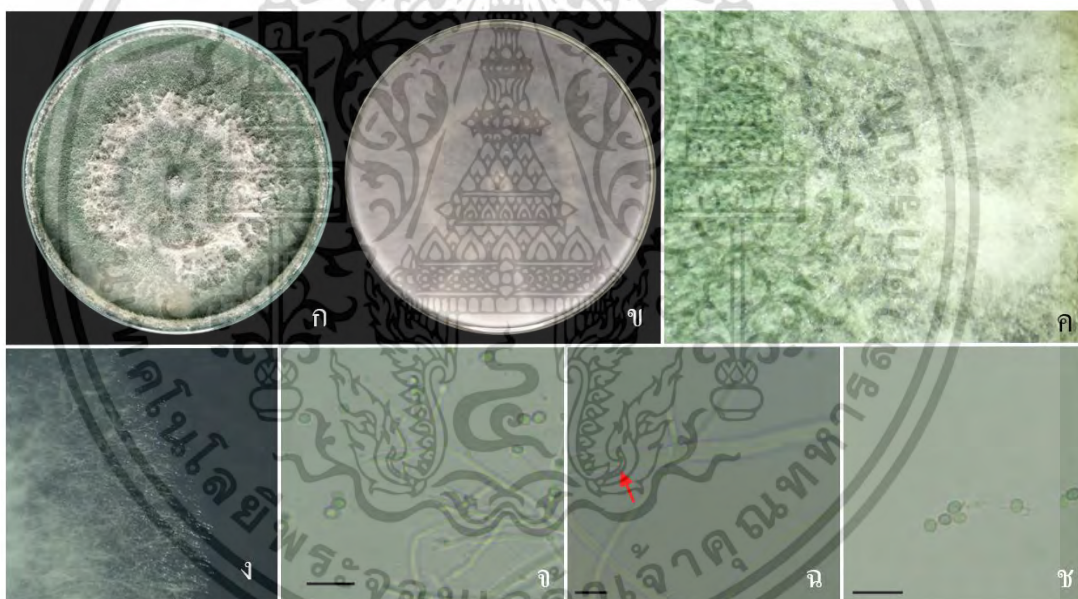
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไอโซเลต 22-073

ลักษณะของโคโลนีบนผิวหน้าอาหาร PDA (รูปที่ 4.1 ก และ ข) เจริญโดยมีลักษณะผิวหน้าของโคโลนี (Colony surface) เป็นขรุขระ (Rough) มีรูปร่างของโคโลนี (Colony form) เป็นแบบวงกลม (Circular) การยกตัวของโคโลนี (Colony elevation) มีลักษณะยกขึ้นจากผิวหน้าของอาหาร (Raised) ขอบโคโลนี (Colony margin) ภายใต้อุปกรณ์จุลทรรศน์แบบสเตอริโอ (Stereomicroscope) มีลักษณะหยักเป็นซี่ไม่สม่ำเสมอ (Erose) (รูปที่ 4.1 ง) กลุ่มของเส้นใย (Mycelium) มีสีขาว พบกลุ่มของสปอร์ (Spores) สีเขียวกระจายอยู่ทั่วโคโลนี (รูปที่ 4.1 ค)

เมื่อนำโคโลนีมาศึกษาใต้อุปกรณ์จุลทรรศน์แบบใช้แสง (Light-microscope) พบก้านชูสปอร์ (Conidiophore) (รูปที่ 4.1 ฉ) และพบโคนิเดีย (Conidia) ลักษณะกลมสีเขียวกระจายอยู่ทั่วไป (รูปที่ 4.1 ช) เส้นใยมีลักษณะที่มีผนังกัน (Septate hyphae) (รูปที่ 4.1 ฉ) ดังนั้นสามารถคาดการณ์สกุลเชื้อรา คือ *Trichoderma*

โดยมีอัตราการเจริญบนอาหาร PDA ในวันที่ 2 เท่ากับ 75.83 ± 0.76 มิลลิเมตร (ตารางที่ 4.2)



รูปที่ 4.1 แสดงลักษณะเชื้อราไอโซเลต 22-073 (ก-ข) เพาะเลี้ยงบนอาหาร PDA (ค) ผิวหน้าโคโลนีภายใต้อุปกรณ์จุลทรรศน์แบบสเตอริโอ (ง) ขอบโคโลนีภายใต้อุปกรณ์จุลทรรศน์แบบสเตอริโอ (จ) ก้านชูสปอร์ (ฉ) เส้นใยแบบมีผนังกัน (ช) โคนิเดีย

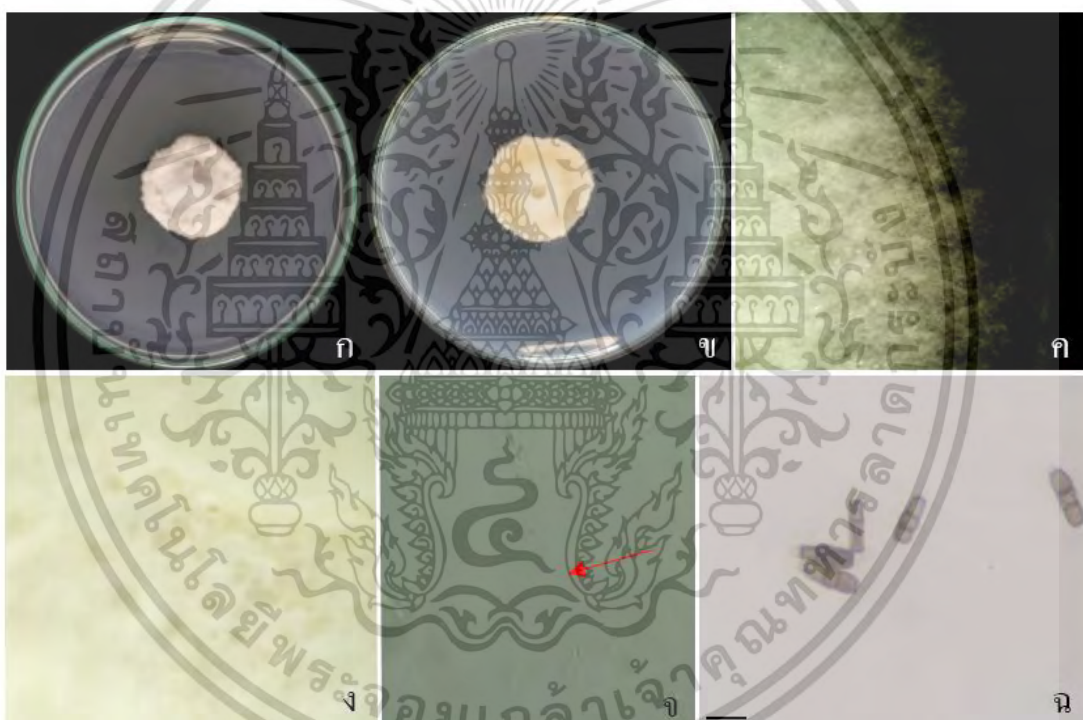
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไอโซเลต 22-074

ลักษณะของโคโลนีบนผิวหน้าอาหาร PDA (รูปที่ 4.2 ก และ ข) มีรูปร่างของโคโลนีเป็นแบบไม่แน่นอน (Irregular) ขอบโคโลนีภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ มีลักษณะหยักเป็นซี่แบบฟันปลา (รูปที่ 4.2 ค) เจริญโดยมีลักษณะผิวหน้าของโคโลนีเป็นแบบขรุขระ โคโลนีมีการยกตัวขึ้นจากผิวหน้าอาหาร กลุ่มของเส้นใยมีสีขาว (รูปที่ 4.2 ง) พบกลุ่มของสปอร์สีดำกระจายอยู่บนบางส่วนของโคโลนี

เมื่อนำโคโลนีมาศึกษาใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงพบกลุ่มของเส้นใยที่มีผนังกัน โคโรเนียมีลักษณะมีผนังกันและมีรยางค์ (Appendage) (รูปที่ 4.2 ฉ) ไม่พบก้านชูสปอร์ ดังนั้นจึงสามารถคาดการณ์สกุลเชื้อรา คือ *Pestalotiopsis*

โดยมีอัตราการเจริญบนอาหาร PDA ในวันที่ 2 เท่ากับ 26.83 ± 0.21 มิลลิเมตร (ตารางที่ 4.2)



รูปที่ 4.2 แสดงลักษณะเชื้อราไอโซเลต 22-074 (ก-ข) เพาะเลี้ยงบนอาหาร PDA (ค) ขอบโคโลนีภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ (ง) ผิวหน้าโคโลนีภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ (จ) เส้นใย (ฉ) โคโรเนีย

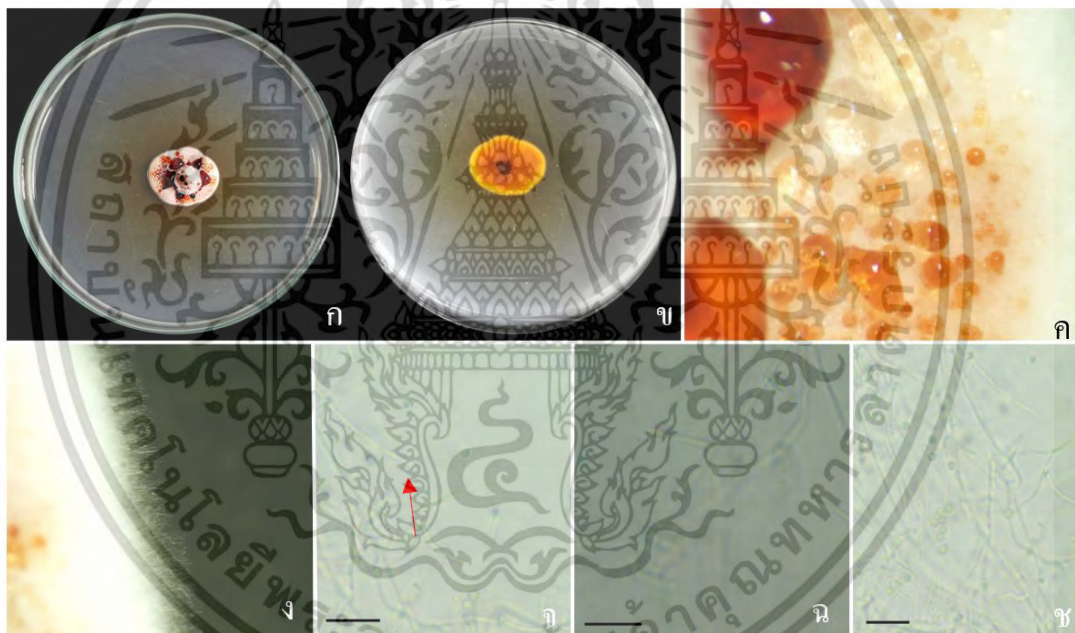
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไอโซเลต 22-075

ลักษณะของโคโลนีบนผิวหน้าอาหาร PDA (รูปที่ 4.3 ก และ ข) เจริญโดยมีลักษณะผิวหน้าของโคโลนีเป็นแบบขรุขระ (รูปที่ 4.3 ค) มีรูปร่างของโคโลนีไม่แน่นอน (รูปที่ 4.3 ก) การยกตัวของโคโลนีมีลักษณะเป็นแบบเรียบไปกับอาหารเลี้ยงเชื้อ ขอบโคโลนีภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ มีลักษณะเป็นแบบหยักเป็นซี่ฟันปลา (รูปที่ 4.3 ง) กลุ่มของเส้นใยมีสีขาว (รูปที่ 4.3 จ) มีการสร้างสารสี (Pigment) สีเหลืองบนผิวของอาหารเลี้ยงเชื้อ และมีการหลั่งสารสี (Exudate) ออกมาภายนอกโคโลนี สีส้มแดง (รูปที่ 4.3 ค)

เมื่อนำโคโลนีมาศึกษาใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงพบ โคนิเดียมีลักษณะกลม (รูปที่ 4.3 ข) และพบก้านชูสปอร์ (Conidiophore) ลักษณะคล้ายไม้กวาด (รูปที่ 4.3 ฉ) ดังนั้นสามารถคาดการณ์สกุลเชื้อรา คือ *Penicillium*

โดยมีอัตราการเจริญบนอาหาร PDA ในวันที่ 2 เท่ากับ 8.57 ± 0.29 มิลลิเมตร (ตารางที่ 4.2)



รูปที่ 4.3 แสดงลักษณะเชื้อราไอโซเลต 22-075 (ก-ข) เพาะเลี้ยงบนอาหาร PDA (ค) ผิวหน้าโคโลนีภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ (ง) ขอบโคโลนีภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ (จ) กลุ่มของเส้นใย (ฉ) ก้านชูสปอร์ (ข) โคนิเดีย

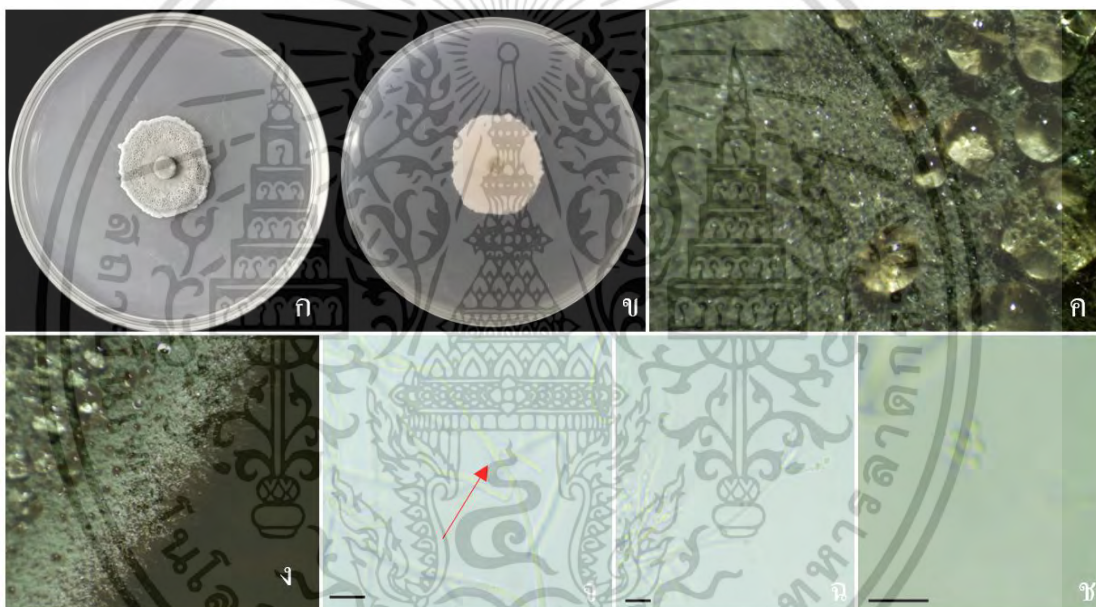
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไอโซเลต 22-076

ลักษณะของโคโลนีบนผิวหน้าอาหาร PDA (รูปที่ 4.4 ก และ ข) เจริญโดยผิวหน้าของโคโลนีมีลักษณะเป็นผงคล้ายแป้ง (Powdery) (รูปที่ 4.4 ค) มีรูปร่างของโคโลนีไม่แน่นอน (รูปที่ 4.4 ก) การยกตัวของโคโลนีมีลักษณะเรียบไปกับผิวของอาหาร (Flat) ขอบโคโลนีภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ มีลักษณะโค้งเว้าคล้ายกลีบดอกไม้ (Lobate) (รูปที่ 4.4 ง) กลุ่มของเส้นใยมีสีเขียว กลุ่มของสปอร์บนผิวหน้าโคโลนีมีสีเขียว (รูปที่ 4.4 ค)

เมื่อนำโคโลนีมาศึกษาใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงพบ เส้นใยมีผนังกัน (รูปที่ 4.4 จ) พบก้านชูสปอร์ลักษณะคล้ายไม้กวาด (รูปที่ 4.4 ฉ) โคนิเดียมีลักษณะกลมสีเขียว และมีลักษณะโปร่งใส (รูปที่ 4.4 ช) ดังนั้นสามารถคาดการณ์สกุลเชื้อรา คือ *Penicillium*

โดยมีอัตราการเจริญบนอาหาร PDA ในวันที่ 2 เท่ากับ 10.83 ± 1.21 มิลลิเมตร (ตารางที่ 4.2)



รูปที่ 4.4 แสดงลักษณะเชื้อราไอโซเลต 22-076 (ก-ข) เพาะเลี้ยงบนอาหาร PDA (ค) ผิวหน้าโคโลนีภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ (ง) ขอบโคโลนีภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ (จ) กลุ่มของเส้นใย (ฉ) ก้านชูสปอร์ (ช) โคนิเดีย

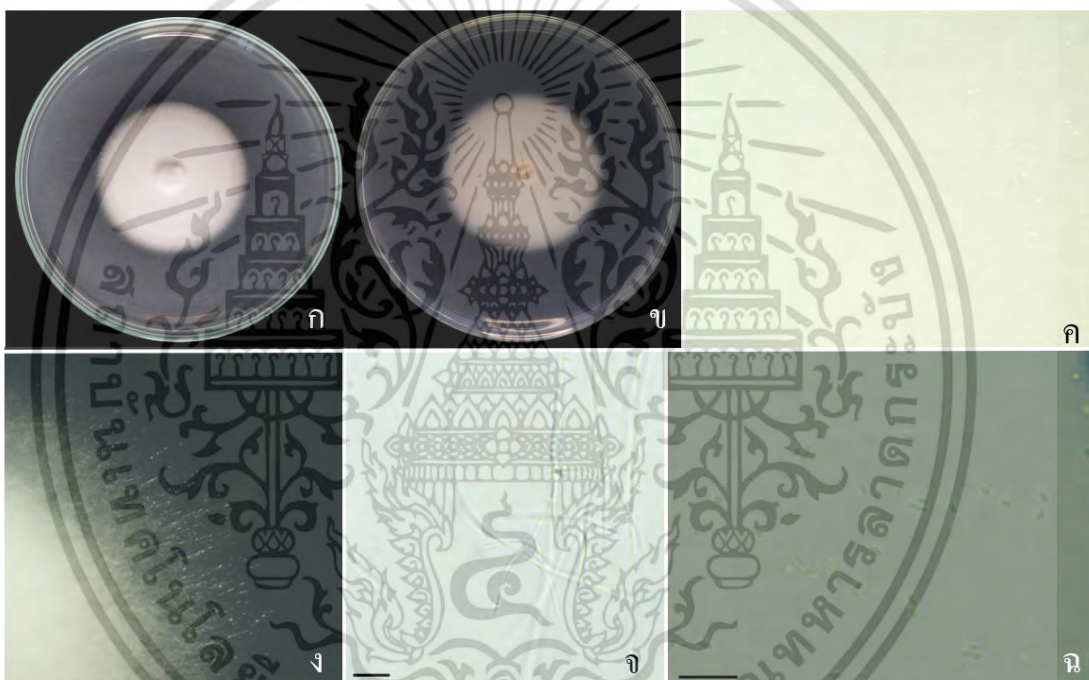
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไอโซเลต 22-077

ลักษณะของโคโลนีบนผิวหน้าอาหาร PDA (รูปที่ 4.5 ก และ ข) เจริญโดยมีลักษณะผิวหน้าของโคโลนีเป็นวงซ้อนกันเป็นชั้น (Concentric) และมีลักษณะเป็นผกคล้ายแป้ง มีรูปร่างของโคโลนีเป็นแบบขอบเรียบ (Entire) (รูปที่ 4.5 ก) โคโลนีมีการยกตัวแบบโค้งนูนขึ้นจากผิวหน้าของอาหาร และมีปุ่มตรงกลาง (Umbonate) ขอบโคโลนีภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ มีลักษณะเป็นซี่แบบไม้สมร่าเสมอ (รูปที่ 4.5 ง) กลุ่มของเส้นใยมีสีขาว (รูปที่ 4.5 ค)

เมื่อนำโคโลนีมาศึกษาใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงพบ โคนิเดียมีลักษณะกลมรี (รูปที่ 4.5 ฉ) ดังนั้นสามารถคาดการณ์สกุลเชื้อรา คือ *Penicillium*

โดยมีอัตราการเจริญบนอาหาร PDA ในวันที่ 2 เท่ากับ 10.58 ± 0.53 มิลลิเมตร (ตารางที่ 4.2)



รูปที่ 4.5 แสดงลักษณะเชื้อราไอโซเลต 22-077 (ก-ข) เพาะเลี้ยงบนอาหาร PDA (ค) ผิวหน้าโคโลนีภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ (ง) ขอบโคโลนีภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ (จ) กลุ่มของเส้นใย (ฉ) โคนิเดีย

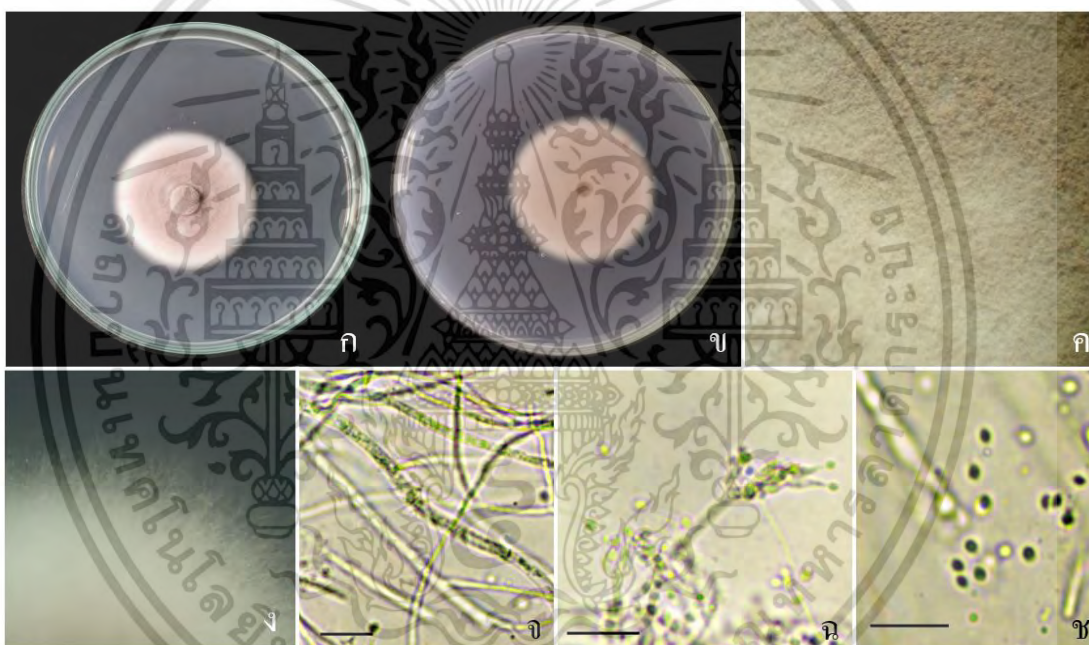
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไอโซเลต 22-078

ลักษณะของโคโลนีบนผิวหน้าอาหาร PDA (รูปที่ 4.6 ก และ ข)เจริญโดยมีลักษณะผิวหน้าของโคโลนี เป็นวงซ้อนกันเป็นชั้น และมีลักษณะเป็นผงคล้ายแปง (รูปที่ 4.6 ค) มีรูปร่างของโคโลนีเป็นแบบกลม (รูปที่ 4.6 ก) การยกตัวของโคโลนีมีลักษณะเรียบ ขอบโคโลนีภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ มีลักษณะหยาบเป็นซี่ไม่สม่ำเสมอ (รูปที่ 4.6 ง) กลุ่มของเส้นใยมีสีเขียว (รูปที่ 4.6 จ) กลุ่มของสปอร์มีสีม่วงอมชมพู (รูปที่ 4.6 ค)

เมื่อนำโคโลนีมาศึกษาใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงพบ พบเส้นใยที่มีผนังกัน (รูปที่ 4.6 จ) ก้านชูสปอร์ที่มีลักษณะคล้ายไม้กวาด (รูปที่ 4.6 ฉ) โคนิเดียมีลักษณะกลม (รูปที่ 4.6 ช) ดังนั้นสามารถคาดการณ์สกุลเชื้อรา คือ *Penicillium*

โดยมีอัตราการเจริญบนอาหาร PDA ในวันที่ 2 เท่ากับ 14.23 ± 0.18 มิลลิเมตร (ตารางที่ 4.2)



รูปที่ 4.6 แสดงลักษณะเชื้อราไอโซเลต 22-078 (ก-ข) เพาะเลี้ยงบนอาหาร PDA (ค) ผิวหน้าโคโลนีภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ (ง) ขอบโคโลนีภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ (จ) กลุ่มของเส้นใย (ฉ) ก้านชูสปอร์ (ช) โคนิเดีย

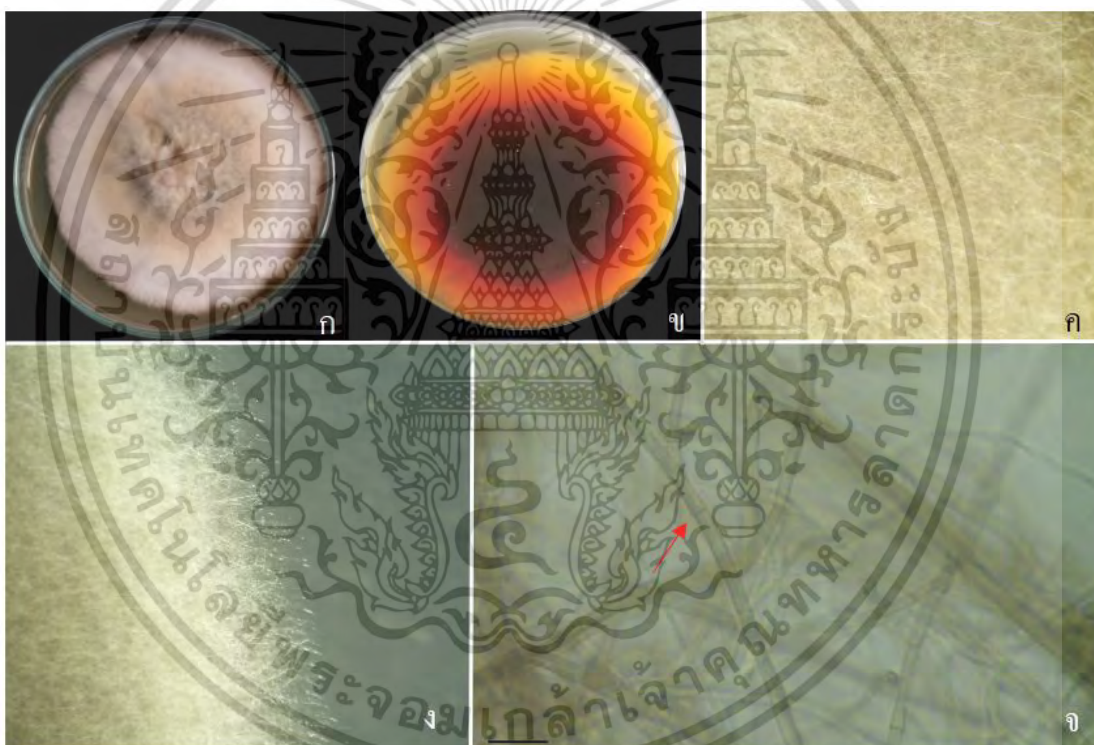
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไอโซเลต 22-082

ลักษณะของโคโลนีบนผิวหน้าอาหาร PDA (รูปที่ 4.7 ก และ ข) เจริญโดยมีลักษณะผิวหน้าของโคโลนีเป็นวงแหวนซ้อนกันเป็นชั้น มีรูปร่างของโคโลนีมีลักษณะกลม (รูปที่ 4.7 ก) การยกตัวของโคโลนีมีลักษณะโค้งนูนขึ้นจากผิวหน้าของอาหาร และมีปุ่มอยู่ตรงกลาง ขอบโคโลนีภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ มีลักษณะหยักเป็นซี่ไม่สม่ำเสมอ (รูปที่ 4.7 ง) กลุ่มของเส้นใยมีสีน้ำตาล (รูปที่ 4.7 ค)

เมื่อนำโคโลนีมาศึกษาใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงพบเส้นใยแบบมีผนังกัน (รูปที่ 4.7 จ) ไม่พบก้านชูสปอร์ และโคนิเดีย จึงไม่สามารถคาดการณ์ด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยาได้ ดังนั้นจึงนำไปทำการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ต่อไป

โดยมีอัตราการเจริญบนอาหาร PDA ในวันที่ 2 เท่ากับ 27.65 ± 0.35 มิลลิเมตร (ตารางที่ 4.2)



รูปที่ 4.7 แสดงลักษณะเชื้อราไอโซเลต 22-082 (ก-ข) เพาะเลี้ยงบนอาหาร PDA (ค) ผิวหน้าโคโลนีภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ (ง) ขอบโคโลนีภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ (จ) กลุ่มของเส้นใย

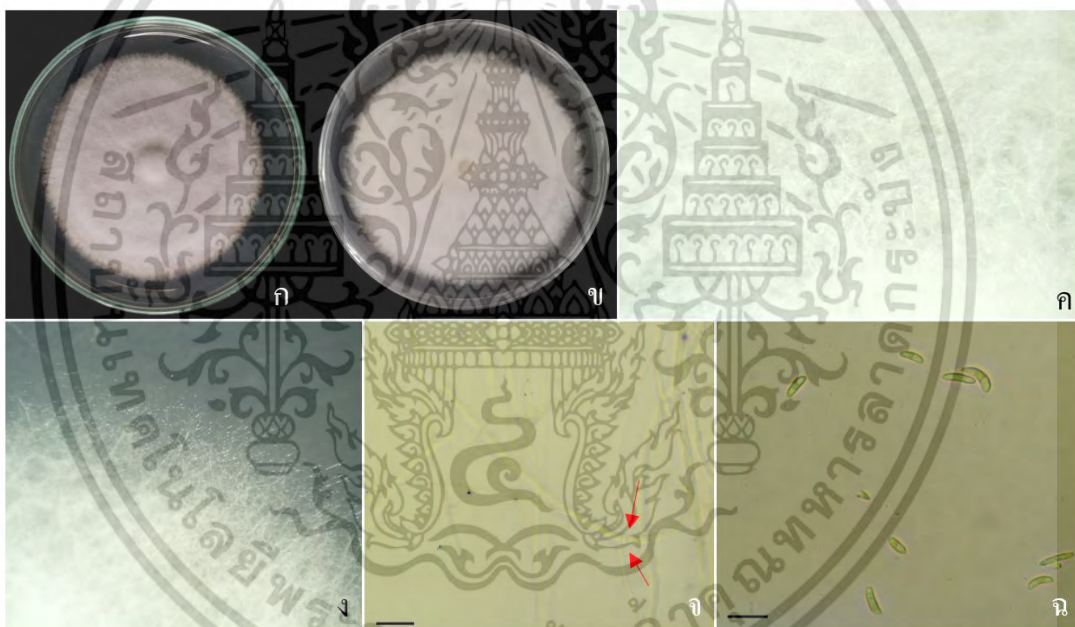
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไอโซเลต 22-084

ลักษณะของโคโลนีบนผิวหน้าอาหาร PDA (รูปที่ 4.8 ก และ ข) เจริญโดยมีลักษณะผิวหน้าของโคโลนีเป็นแบบผิวหน้าขรุขระ มีรูปร่างของโคโลนีเป็นแบบกลม (รูปที่ 4.8 ก) การยกตัวของโคโลนีมีลักษณะโค้งนูนขึ้นจากผิวหน้าของอาหาร และมีปุ่มอยู่ตรงกลาง ขอบโคโลนีภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอมีลักษณะเป็นเส้นสาย (Filamentous) (รูปที่ 4.8 ง) กลุ่มของเส้นใยมีสีขาว (รูปที่ 4.8 ค)

เมื่อนำโคโลนีมาศึกษาใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง พบเส้นใยมีลักษณะแบบมีผนังกัน (รูปที่ 4.8) โคนิเดียมีลักษณะเป็นแบบกึ่งพระจันทร์เสี้ยว (Semi-fusiform) (รูปที่ 4.8 ฉ) ไม่พบก้านชูสปอร์ จึงไม่สามารถคาดการณ์ด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยาได้ ดังนั้นจึงนำไปทำการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ต่อไป

โดยมีอัตราการเจริญบนอาหาร PDA ในวันที่ 2 เท่ากับ 23.02 ± 0.75 มิลลิเมตร (ตารางที่ 4.2)



รูปที่ 4.8 แสดงลักษณะเชื้อราไอโซเลต 22-084 (ก-ข) เพาะเลี้ยงบนอาหาร PDA (ค) ผิวหน้าโคโลนีภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ (ง) ขอบโคโลนีภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ (จ) กลุ่มของเส้นใย (ฉ) โคนิเดีย

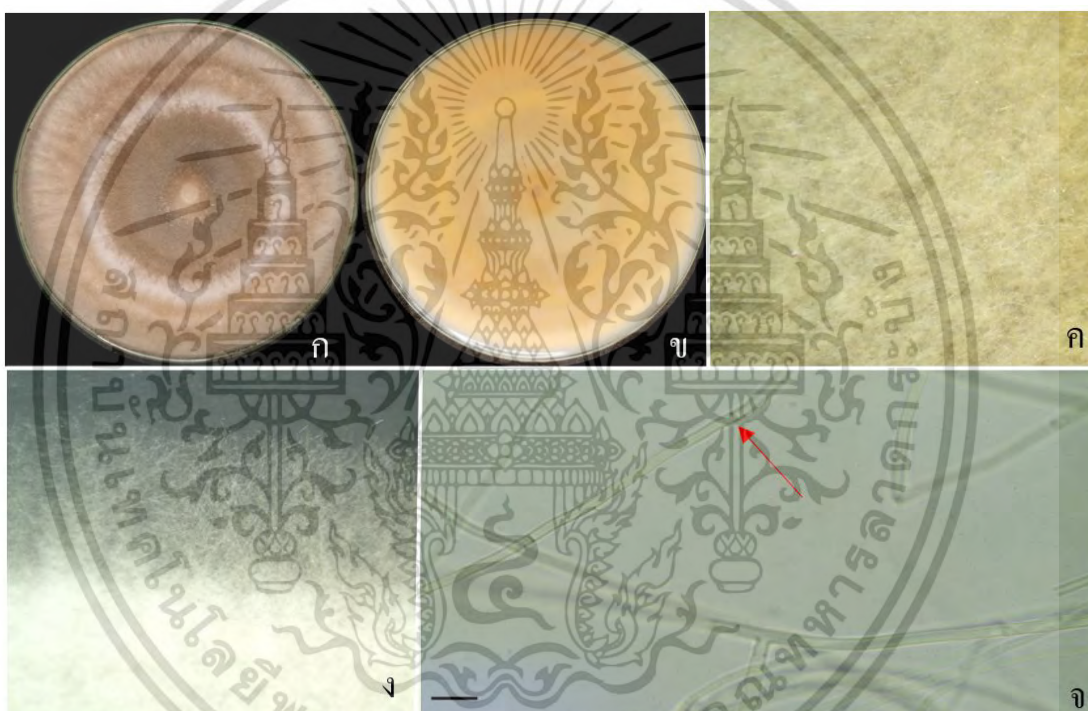
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไอโซเลต 22-086

ลักษณะของโคโลนีบนผิวหน้าอาหาร PDA (รูปที่ 4.9 ก และ ข) เจริญโดยมีลักษณะผิวหน้าเป็นแบบซ้อนกันเป็นวง (รูปที่ 4.9 ค) มีรูปร่างของโคโลนีเป็นแบบกลม (รูปที่ 4.9 ก) การยกตัวของโคโลนีมีลักษณะเป็นเรียบไปกับผิวหน้าของอาหาร ขอบโคโลนีภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ มีลักษณะเป็นขอบเรียบ (รูปที่ 4.9 ง) กลุ่มของเส้นใยมีสีน้ำตาล (รูปที่ 4.9 ค)

เมื่อนำโคโลนีมาศึกษาใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงพบเส้นใยมีแบบมีผนังกัน (รูปที่ 4.9 จ) ไม่พบก้านชูสปอร์ และโคนิเดีย จึงไม่สามารถคาดการณ์ด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยาได้ ดังนั้นจึงนำไปทำการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ต่อไป

โดยมีอัตราการเจริญบนอาหาร PDA ในวันที่ 2 เท่ากับ 65.67 ± 1.95 มิลลิเมตร (ตารางที่ 4.2)



รูปที่ 4.9 แสดงลักษณะเชื้อราไอโซเลต 22-086 (ก-ข) เพาะเลี้ยงบนอาหาร PDA (ค) ผิวหน้าภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ (ง) ขอบโคโลนีภายใต้กล้องโคโลนีภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ (จ) เส้นใย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไอโซเลต 22-089

ลักษณะของโคโลนีบนผิวหน้าอาหาร PDA (รูปที่ 4.10 ก และ ข) เจริญโดยผิวหน้าของโคโลนีมีลักษณะมีรูปร่างขรุขระ รูปร่างของโคโลนีเป็นแบบกลม (รูปที่ 4.10 ก) การยกตัวของโคโลนีมีลักษณะมีลักษณะโค้งนูนขึ้นจากผิวหน้าของอาหาร และมีปุ่มอยู่ตรงกลาง ขอบโคโลนีภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ มีลักษณะเป็นซี่หยักไม่สม่ำเสมอ (รูปที่ 4.10 ง) กลุ่มของเส้นใยมีสีขาว (รูปที่ 4.10 ค)

เมื่อนำโคโลนีมาศึกษาใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง พบเส้นใยไม่มีผนังกัน (รูปที่ 4.10 จ) โคโรนเดียมีลักษณะพระจันทร์เสี้ยว (Fusiform) (รูปที่ 4.10 ฉ) ดังนั้นสามารถคาดการณ์สกุลเชื้อรา คือ *Fusarium*

โดยมีอัตราการเจริญบนอาหาร PDA ในวันที่ 2 เท่ากับ 35.23 ± 0.42 มิลลิเมตร (ตารางที่ 4.2)



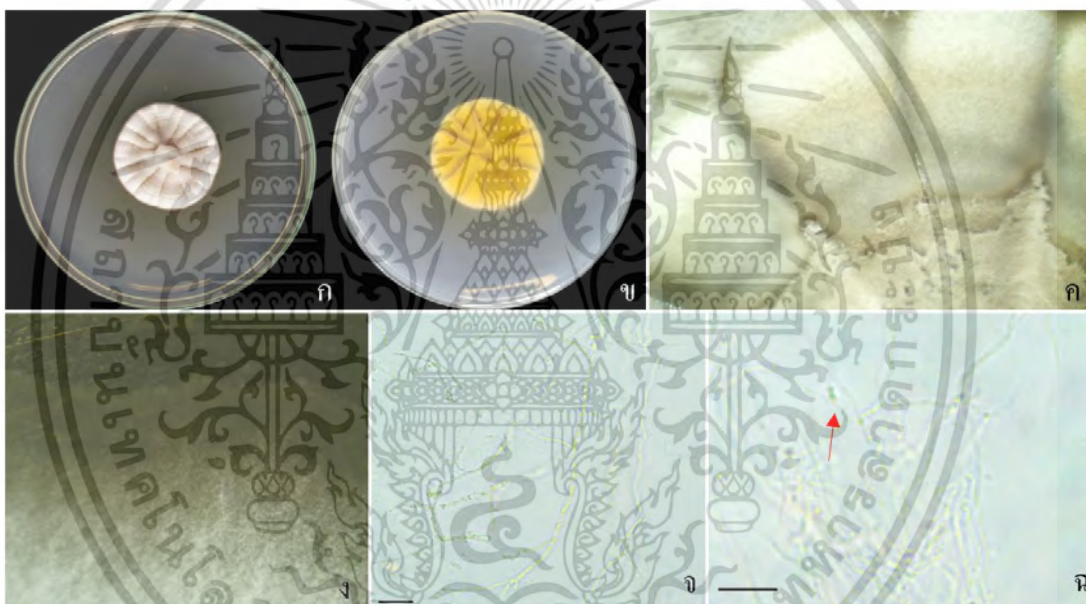
รูปที่ 4.10 แสดงลักษณะเชื้อราไอโซเลต 22-089 (ก-ข) เพาะเลี้ยงบนอาหาร PDA (ค) ผิวหน้าโคโลนีภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ (ง) ขอบโคโลนี ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ (จ) กลุ่มของเส้นใย (ฉ) โคโรนเดีย

ไอโซเลต 22-090

ลักษณะของโคโลนีบนผิวหน้าอาหาร PDA (รูปที่ 4.11 ก และ ข) เจริญโดยมีลักษณะผิวหน้าของโคโลนีเป็นแบบบumpy (Wrinkled) (รูปที่ 4.11 ค) มีรูปร่างของโคโลนีเป็นแบบกลม (รูปที่ 4.11 ก) การยกตัวของโคโลนีมีลักษณะเป็นเรียบ ขอบโคโลนีภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ มีลักษณะโค้งเว้าเล็กน้อย (Undulate) (รูปที่ 4.11 ง) กลุ่มของเส้นใยมีสีขาวยิ่งเทา (รูปที่ 4.11 ค) มีการปล่อยสารสีเหลืองออกสู่อากาศเลี้ยงเชื้อ ทำให้อาหารเลี้ยงเชื้อเกิดการเปลี่ยนสี (รูปที่ 4.11 ก)

เมื่อนำโคโลนีมาศึกษาใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงพบ โคนิเดียมีลักษณะกลม (รูปที่ 4.11 ฉ) ดังนั้นสามารถคาดการณ์สกุลเชื้อรา คือ *Penicillium*

โดยมีอัตราการเจริญบนอาหาร PDA ในวันที่ 2 เท่ากับ 11.73 ± 0.92 มิลลิเมตร (ตารางที่ 4.2)



รูปที่ 4.11 แสดงลักษณะเชื้อราไอโซเลต 22-090 (ก-ข) เพาะเลี้ยงบนอาหาร PDA (ค) ผิวหน้าโคโลนีภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ (ง) ขอบโคโลนี ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ (จ) กลุ่มของเส้นใย (ฉ) โคนิเดีย

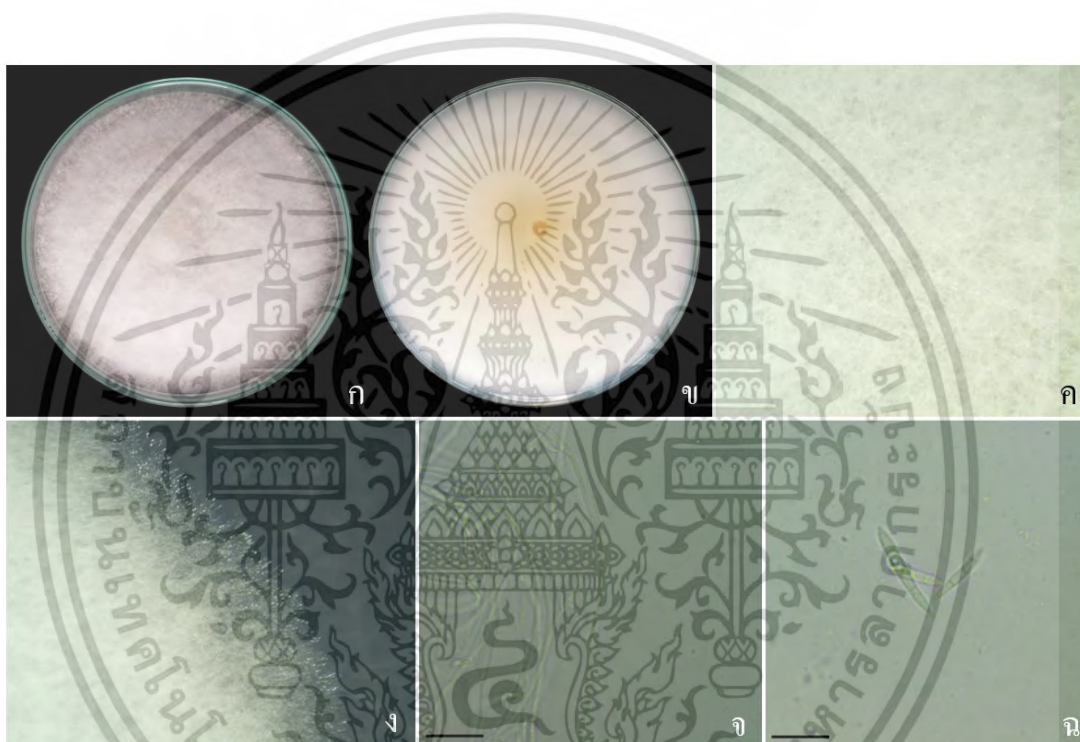
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไอโซเลต 22-091

ลักษณะของโคโลนีบนผิวหน้าอาหาร PDA (รูปที่ 4.12 ก และ ข) เจริญโดยมีลักษณะผิวหน้าของโคโลนีเป็นแบบขรุขระ มีรูปร่างของโคโลนีเป็นแบบกลม (รูปที่ 4.12 ก) การยกตัวของโคโลนีมีลักษณะโค้งนูนจากผิวหน้า และมีปุ่มตรงกลาง ขอบโคโลนีภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ มีลักษณะขอบเรียบ (รูปที่ 4.12 ง) กลุ่มของเส้นใยมีสีขาว (รูปที่ 4.12 ค)

เมื่อนำโคโลนีมาศึกษาใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงพบ พบสปอร์มีลักษณะเป็นพระจันทร์เสี้ยว (รูปที่ 4.12 ฉ) ดังนั้นสามารถคาดการณ์สกุลเชื้อรา คือ *Fusarium*

โดยมีอัตราการเจริญบนอาหาร PDA ในวันที่ 2 เท่ากับ 33.17 ± 1.41 มิลลิเมตร (ตารางที่ 4.2)



รูปที่ 4.12 แสดงลักษณะเชื้อราไอโซเลต 22-091 (ก-ข) เพาะเลี้ยงบนอาหาร PDA (ค) ผิวหน้าโคโลนีภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ (ง) ขอบโคโลนี ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ (จ) กลุ่มของเส้นใย (ฉ) โคนิเดีย

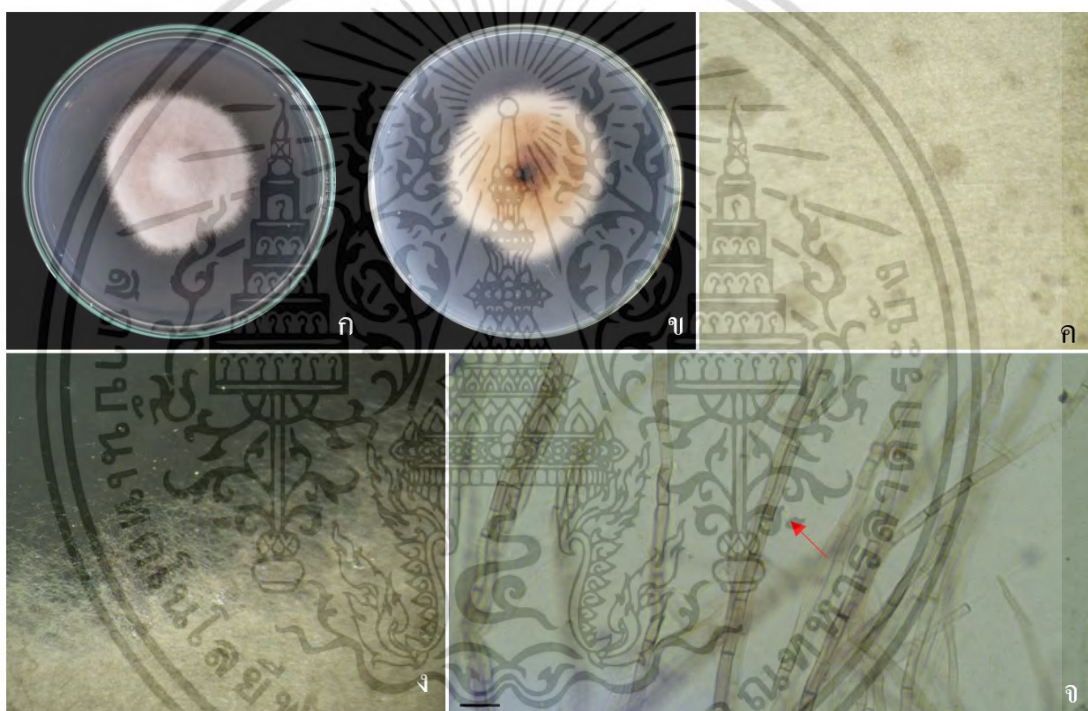
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไอโซเลต 22-093

ลักษณะของโคโลนีบนผิวหน้าอาหาร PDA (รูปที่ 4.13 ก และ ข) เจริญโดยมีลักษณะผิวหน้าเป็นแบบเรียบ (Smooth) มีรูปร่างของโคโลนีเป็นแบบกลม (รูปที่ 4.13 ก) การยกตัวของโคโลนีมีลักษณะโค้งนูนจากผิวหน้าของอาหารเล็กน้อย (Convex) ขอบโคโลนีภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ มีลักษณะโค้งเว้าเล็กน้อย (รูปที่ 4.13 ง) กลุ่มของเส้นใยมีเทา (รูปที่ 4.13 ค)

เมื่อนำโคโลนีมาศึกษาใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงพบ เส้นใยเป็นแบบมีผนังกันน้ำน้ำตาล (รูปที่ 4.13 จ) ซึ่งไม่พบโคนิเดีย และก้านชูสปอร์ จึงไม่สามารถคาดการณ์ด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยาได้ ดังนั้นจึงนำไปทำการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ต่อไป

โดยมีอัตราการเจริญบนอาหาร PDA ในวันที่ 2 เท่ากับ 19.60 ± 1.77 มิลลิเมตร (ตารางที่ 4.2)



รูปที่ 4.13 แสดงลักษณะเชื้อราไอโซเลต 22-093 (ก-ข) เพาะเลี้ยงบนอาหาร PDA (ค) ผิวหน้าโคโลนีภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ (ง) ขอบโคโลนี ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ (จ) กลุ่มของเส้นใย (ฉ) โคนิเดีย

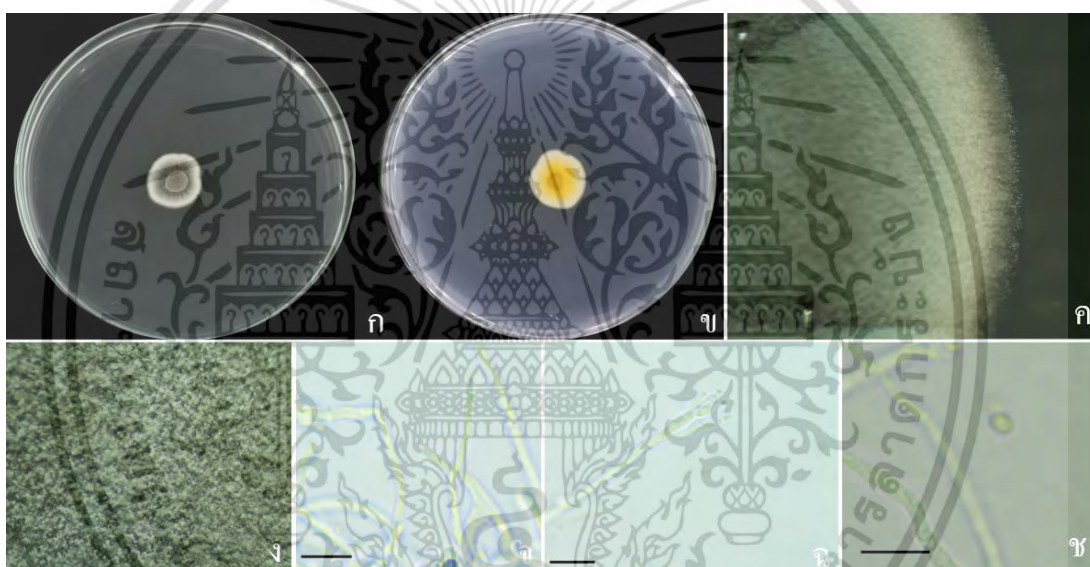
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไอโซเลต 22-096

ลักษณะของโคโลนีบนผิวหน้าอาหาร PDA (รูปที่ 4.14 ก และ ข) เจริญโดยมีลักษณะผิวหน้าของโคโลนีเป็นผงคล้ายแป้ง (รูปที่ 4.14 ง) มีรูปร่างของโคโลนีเป็นแบบไม่แน่นอน (รูปที่ 4.14 ก) การยกตัวของโคโลนีมีลักษณะเป็น ขอบโคโลนีภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ มีลักษณะโค้งนูนจากผิวหน้า และมีปุ่มตรงกลาง (รูปที่ 4.14 ค) กลุ่มของเส้นใยมีสีขาว (รูปที่ 4.14 จ) กลุ่มของสปอร์มีสีเขียวเข้ม (รูปที่ 4.14 ง) สร้างสารสีเหลืองถึงส้มในอาหารเลี้ยงเชื้อ (รูปที่ 4.14 ค)

เมื่อนำโคโลนีมาศึกษาใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง พบเส้นใยแบบมีผนังกัน (รูปที่ 4.14 จ) พบก้านชูสปอร์ลักษณะคล้ายไม้กวาด (รูปที่ 4.14 ฉ) และโคนิเดียมีลักษณะกลม (รูปที่ 4.14 ช) ดังนั้นสามารถคาดการณ์สกุลเชื้อรา คือ *Penicillium*

โดยมีอัตราการเจริญบนอาหาร PDA ในวันที่ 2 เท่ากับ 9.32 ± 0.27 มิลลิเมตร (ตารางที่ 4.2)



รูปที่ 4.14 แสดงลักษณะเชื้อราไอโซเลต 22-098 (ก-ข) เพาะเลี้ยงบนอาหาร PDA (ค) ผิวหน้าโคโลนีภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ (ง) ขอบโคโลนีภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ (จ) กลุ่มของเส้นใย (ฉ) ก้านชูสปอร์ (ช) โคนิเดีย

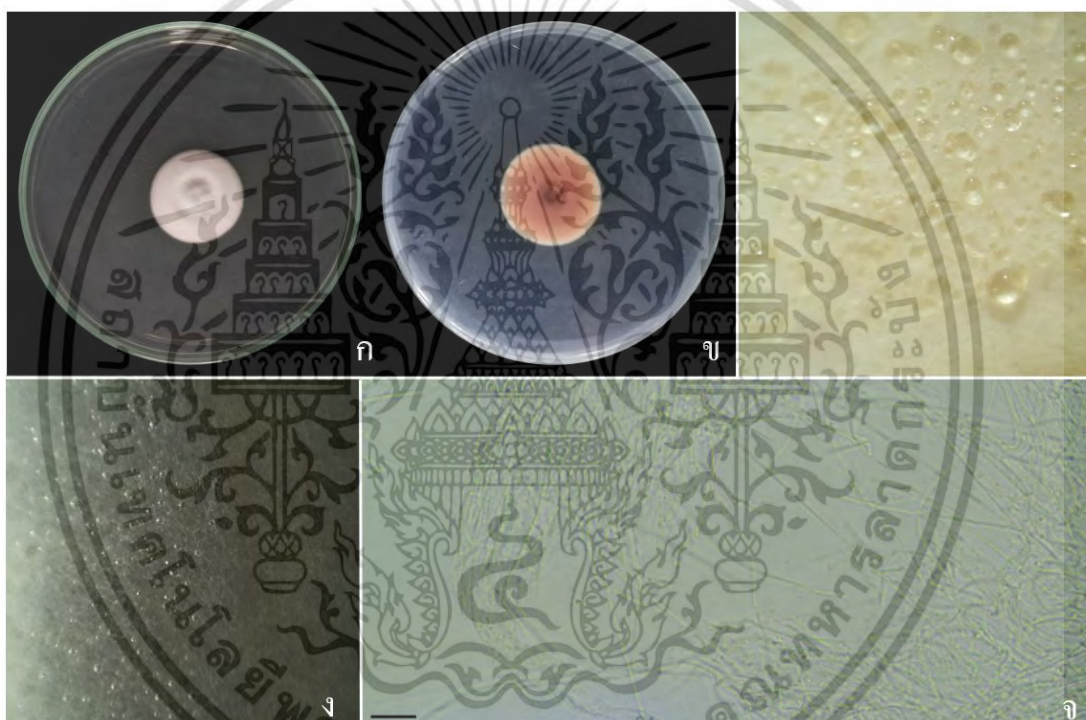
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไอโซเลต 22-097

ลักษณะของโคโลนีบนผิวหน้าอาหาร PDA (รูปที่ 4.15 ก และ ข) เจริญโดยมีลักษณะผิวหน้าของโคโลนีแบบเรียบ (รูปที่ 4.15 ค) มีรูปร่างของโคโลนีเป็นแบบกลม (รูปที่ 4.15 ก) การยกตัวของโคโลนีมีลักษณะเป็นแบบยกตัวขึ้นจากผิวหน้าอาหาร ขอบโคโลนีภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ มีลักษณะขอบโค้งเว้ามาก (Lobate) (รูปที่ 4.15 ง) กลุ่มของเส้นใยมีสีขาว (รูปที่ 4.15 จ)

เมื่อนำโคโลนีมาศึกษาใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงพบเส้นใยที่มีขนาดเล็ก (รูปที่ 4.15 จ) ที่ไม่มีผนังกัน ไม่พบก้านชสปอร์และโคนิเดีย จึงไม่สามารถคาดการณ์ด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยาได้ ดังนั้นจึงนำไปทำการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ต่อไป

โดยมีอัตราการเจริญบนอาหาร PDA ในวันที่ 2 เท่ากับ 11.32 ± 0.15 มิลลิเมตร (ตารางที่ 4.2)



รูปที่ 4.15 แสดงลักษณะเชื้อราไอโซเลต 22-097 (ก-ข) เพาะเลี้ยงบนอาหาร PDA (ค) ผิวหน้าโคโลนีภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ (ง) ขอบโคโลนีภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ (จ) กลุ่มของเส้นใย

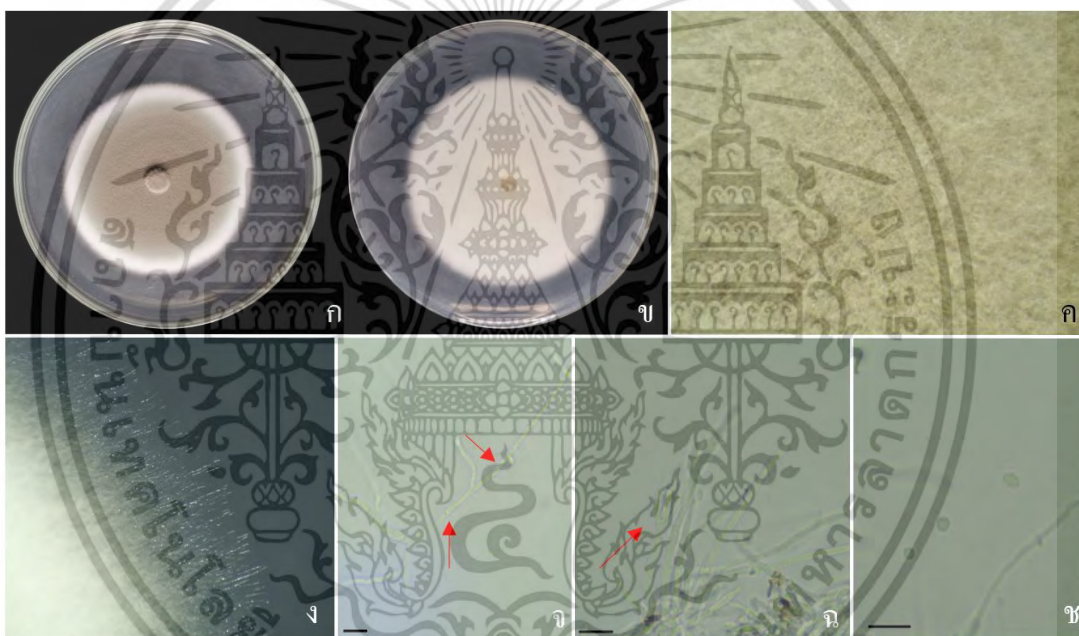
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไอโซเลต 22-098

ลักษณะของโคโลนีบนผิวหน้าอาหาร PDA (รูปที่ 4.16 ก และ ข) เจริญโดยมีลักษณะผิวหน้าของโคโลนีเป็นแบบเรียบ มีรูปร่างของโคโลนีเป็นแบบกลม (รูปที่ 4.16 ก) การยกตัวของโคโลนีมีลักษณะเป็นโค้งนูนจากผิวหน้า และมีปุ่มตรงกลาง ขอบโคโลนีภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ มีลักษณะเป็นเส้นสาย (รูปที่ 4.16 ง) กลุ่มของเส้นใยมีสีขาว กลุ่มของสปอร์บนผิวหน้าของโคโลนีมีสีเทาสมน้ำตาล (รูปที่ 4.16 ค)

เมื่อนำโคโลนีมาศึกษาใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง พบเส้นใยมีผนังกัน (รูปที่ 4.16 จ) ก้านชูสปอร์ที่มีลักษณะคล้ายไม้กวาด (รูปที่ 4.16 ฉ) โคนิเดียมีลักษณะกลมสีเขียว (รูปที่ 4.16 ช) ดังนั้นสามารถคาดการณ์สกุลเชื้อรา คือ *Penicillium*

โดยมีอัตราการเจริญบนอาหาร PDA ในวันที่ 2 เท่ากับ 11.78 ± 0.29 มิลลิเมตร (ตารางที่ 4.2)



รูปที่ 4.16 แสดงลักษณะเชื้อราไอโซเลต 22-098 (ก-ข) เพาะเลี้ยงบนอาหาร PDA (ค) ผิวหน้าโคโลนีภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ (ง) ขอบโคโลนีภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ (จ) กลุ่มของเส้นใย (ฉ) ก้านชูสปอร์ (ช) โคนิเดีย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไอโซเลต 22-099

ลักษณะของโคโลนีบนผิวหน้าอาหาร PDA (รูปที่ 4.17 ก และ ข) เจริญโดยมีลักษณะผิวหน้าของโคโลนีเป็นเรียบ มีรูปร่างของโคโลนีเป็นแบบกลม (รูปที่ 4.17 ก) การยกตัวของโคโลนีมีลักษณะเป็นเรียบไปกับผิวหน้าของอาหาร ขอบโคโลนีภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอมีลักษณะเป็นขอบเรียบ (รูปที่ 4.17 ง) กลุ่มของเส้นใยมีสีขาว กลุ่มของสปอร์บนโคโลนีมีสีน้ำตาลเทา (รูปที่ 4.17 ค)

เมื่อนำโคโลนีมาศึกษาใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง พบเส้นใยมีลักษณะเป็นแบบมีผนังกัน (รูปที่ 4.17 จ) ก้านชูสปอร์ที่มีลักษณะคล้ายไม้กวาด (รูปที่ 4.17 ฉ) และโคนิเดียที่มีลักษณะกลมสีเขียวและโปร่งใส (รูปที่ 4.17 ช) ดังนั้นสามารถคาดการณ์สกุลเชื้อรา คือ *Penicillium*

โดยมีอัตราการเจริญบนอาหาร PDA ในวันที่ 2 เท่ากับ 14.94 ± 0.67 มิลลิเมตร (ตารางที่ 4.2)



รูปที่ 4.17 แสดงลักษณะเชื้อราไอโซเลต 22-099 (ก-ข) เพาะเลี้ยงบนอาหาร PDA (ค) ผิวหน้าโคโลนีภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ (ง) ขอบโคโลนีภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ (จ) กลุ่มของเส้นใย (ฉ) ก้านชูสปอร์ (ช) โคนิเดีย

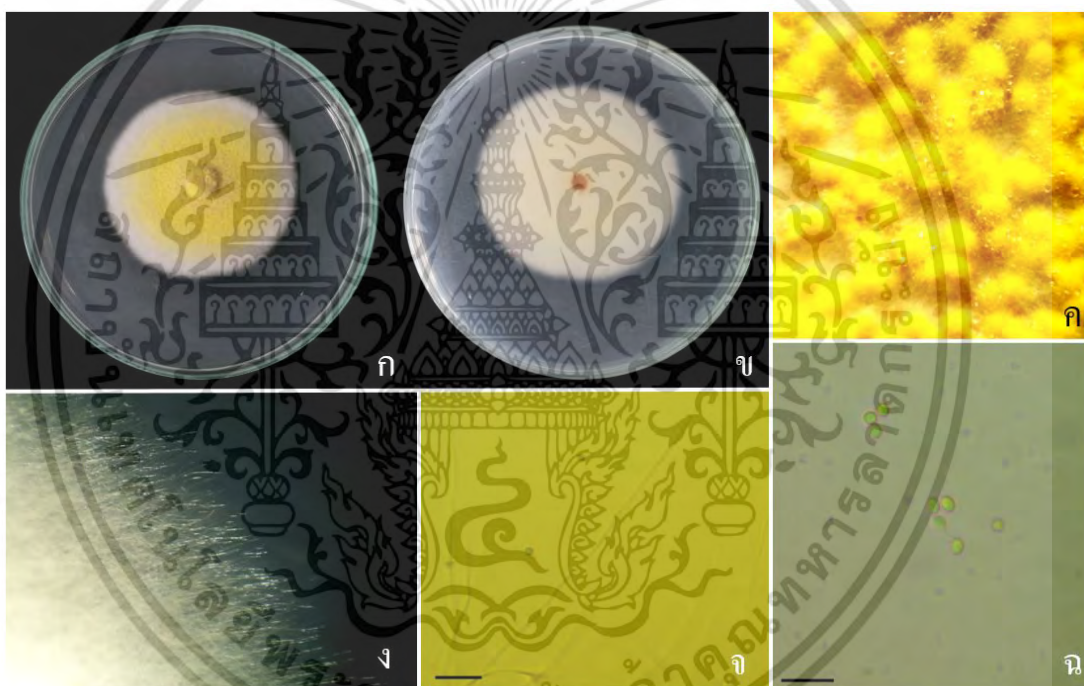
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไอโซเลต 22-100

ลักษณะของโคโลนีบนผิวหน้าอาหาร PDA (รูปที่ 4.18 ก และ ข) เจริญโดยมีลักษณะผิวหน้าของโคโลนีเป็นวงแหวนซ้อนกันเป็นชั้น มีรูปร่างของโคโลนีกลม (รูปที่ 4.18 ก) การยกตัวของโคโลนีมีลักษณะแบนราบไปกับผิวหน้าของอาหาร ขอบโคโลนีภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอมีลักษณะหยักเป็นซี่ไม่สม่ำเสมอ (รูปที่ 4.18 ง) กลุ่มของเส้นใยมีสีขาว มีแอสโคคาร์ป (Ascocarp) สีเหลืองกระจายอยู่ทั่วทั้งโคโลนี (รูปที่ 4.18 ค)

เมื่อนำโคโลนีมาศึกษาใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง พบเส้นใยมีลักษณะแบนไม่มีผนังกัน (รูปที่ 4.18 จ) สปอร์มีลักษณะกลมสีเขียวโปร่งแสง (รูปที่ 4.18 ฉ) พบแอสโคคาร์ปแบบคลิสโททีเซียม ดังนั้นสามารถคาดการณ์สกุลเชื้อรา คือ *Talaromyces*

โดยมีอัตราการเจริญบนอาหาร PDA ในวันที่ 2 เท่ากับ 16.73 ± 0.60 มิลลิเมตร (ตารางที่ 4.2)



รูปที่ 4.18 แสดงลักษณะเชื้อราไอโซเลต 22-100 (ก-ข) เพาะเลี้ยงบนอาหาร PDA (ค) ผิวหน้าโคโลนีภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ (ง) ขอบโคโลนีภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ (จ) กลุ่มของเส้นใย (ฉ) โคนิเดีย

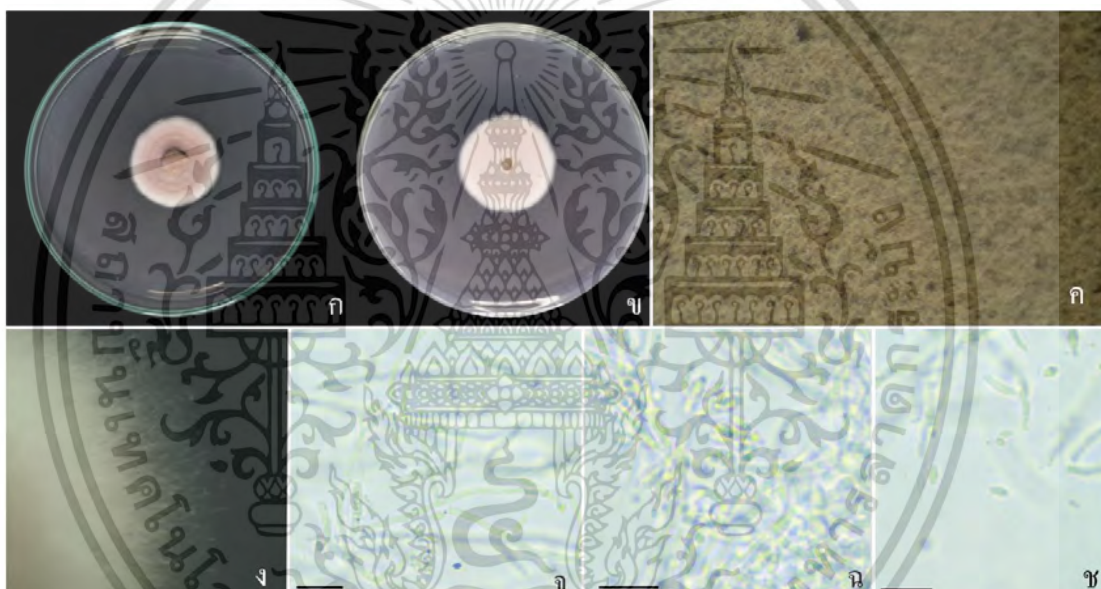
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไอโซเลต 22-101

ลักษณะของโคโลนีบนผิวหน้าอาหาร PDA (รูปที่ 4.19 ก และ ข) เจริญโดยมีลักษณะผิวหน้าของโคโลนีเป็นแบบวงแหวนซ้อนกันเป็นชั้น และมีลักษณะเป็นผงคล้ายแป้ง มีรูปร่างของโคโลนีกลม (รูปที่ 4.19 ก) การยกตัวของโคโลนีมีลักษณะเป็นแบบแบนราบ ขอบโคโลนีภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ มีลักษณะเป็นเส้นสาย (รูปที่ 4.19 ง) กลุ่มของเส้นใยมีสีขาว กลุ่มของสปอร์บนผิวหน้าโคโลนีมีสีม่วงเข้ม (รูปที่ 4.19 ค)

เมื่อนำโคโลนีมาศึกษาใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง พบเส้นใยเป็นแบบมีผนังกัน (รูปที่ 4.19 จ) ก้านชูสปอร์มีลักษณะคล้ายไม้กวาด (รูปที่ 4.19 ฉ) และ โคนิเดียมีลักษณะกลม (รูปที่ 4.19 ซ) ดังนั้นสามารถคาดการณ์สกุลเชื้อรา คือ *Penicillium*

โดยมีอัตราการเจริญบนอาหาร PDA ในวันที่ 2 เท่ากับ 10.43 ± 0.40 มิลลิเมตร (ตารางที่ 4.2)



รูปที่ 4.19 แสดงลักษณะเชื้อราไอโซเลต 22-101 (ก-ข) เพาะเลี้ยงบนอาหาร PDA (ค) ผิวหน้าโคโลนีภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ (ง) ขอบโคโลนีภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ (จ) กลุ่มของเส้นใย (ฉ) ก้านชูสปอร์ (ซ) โคนิเดีย

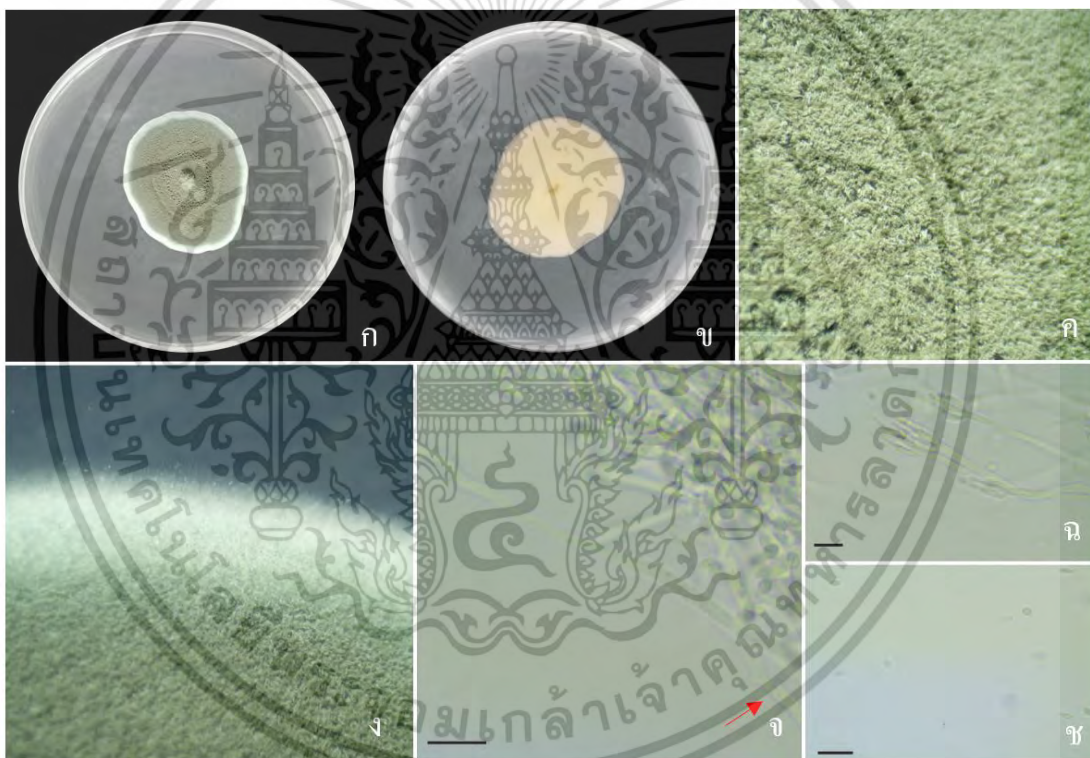
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไอโซเลต 22-102

ลักษณะของโคโลนีบนผิวหน้าอาหาร PDA (รูปที่ 4.20 ก และ ข) เจริญโดยมีลักษณะผิวหน้าของโคโลนีเป็นแบบเรียบ และมีลักษณะเป็นผกคล้ายแป้ง (รูปที่ 4.20 ค) มีรูปร่างของโคโลนีเป็นแบบไม่แน่นอน (รูปที่ 4.20 ก) การยกตัวของโคโลนีมีลักษณะเป็นโค้งนูนจากผิวหน้าอากาศเล็กน้อย ขอบโคโลนีภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ มีลักษณะขอบเรียบ (รูปที่ 4.20 ง) กลุ่มของเส้นใยมีสีเขียว กลุ่มของสปอร์มีสีเขียว (รูปที่ 4.20 ค)

เมื่อนำโคโลนีมาศึกษาใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงพบ เส้นใยมีลักษณะที่มีผนังกัน (รูปที่ 4.20 จ) พบก้านชูสปอร์ลักษณะคล้ายไม้กวาด (รูปที่ 4.20 ฉ) โคนิเดียมีลักษณะกลมสีเขียว (รูปที่ 4.20 ช) ดังนั้นสามารถคาดการณ์สกุลเชื้อรา คือ *Penicillium*

โดยมีอัตราการเจริญบนอาหาร PDA ในวันที่ 2 เท่ากับ 12.67 ± 0.23 มิลลิเมตร (ตารางที่ 4.2)



รูปที่ 4.20 แสดงลักษณะเชื้อราไอโซเลต 22-102 (ก-ข) เพาะเลี้ยงบนอาหาร PDA (ค) ผิวหน้าโคโลนีภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ (ง) ขอบโคโลนีภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ (จ) กลุ่มของเส้นใย (ฉ) ก้านชูสปอร์ (ช) โคนิเดีย

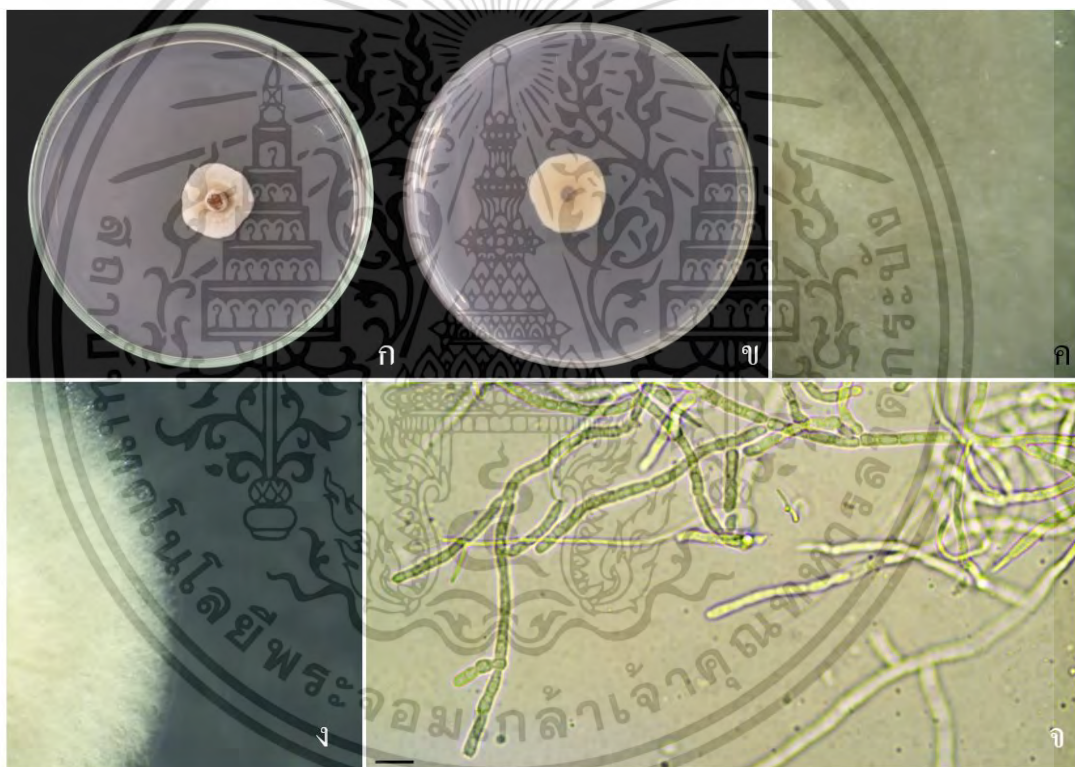
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไอโซเลต 22-103

ลักษณะของโคโลนีบนผิวหน้าอาหาร PDA (รูปที่ 4.21 ก และ ข) เจริญโดยมีลักษณะผิวหน้าของโคโลนีเป็นวงแหวนซ้อนกันเป็นชั้น มีรูปร่างของโคโลนีเป็นแบบไม่แน่นอน (รูปที่ 4.21 ก) การยกตัวของโคโลนีมีลักษณะเป็นโค้งนูนขึ้นจากผิวหน้าอาหารเล็กน้อย ขอบโคโลนีภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอมีลักษณะหยักเป็นซี่ไม่สม่ำเสมอ (รูปที่ 4.21 ง) โดยกลุ่มของเส้นใยมีสีครีมอ่อน (รูปที่ 4.21 ค)

เมื่อนำโคโลนีมาศึกษาใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงพบเส้นใยที่มีผนังกัน (รูปที่ 4.21 จ) ซึ่งไม่พบก้านชูสปอร์ และโคนิเดีย จึงไม่สามารถคาดการณ์ด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยาได้ ดังนั้นจึงนำไปทำการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ต่อไป

โดยมีอัตราการเจริญบนอาหาร PDA ในวันที่ 2 เท่ากับ 9.35 ± 0.29 มิลลิเมตร (ตารางที่ 4.2)



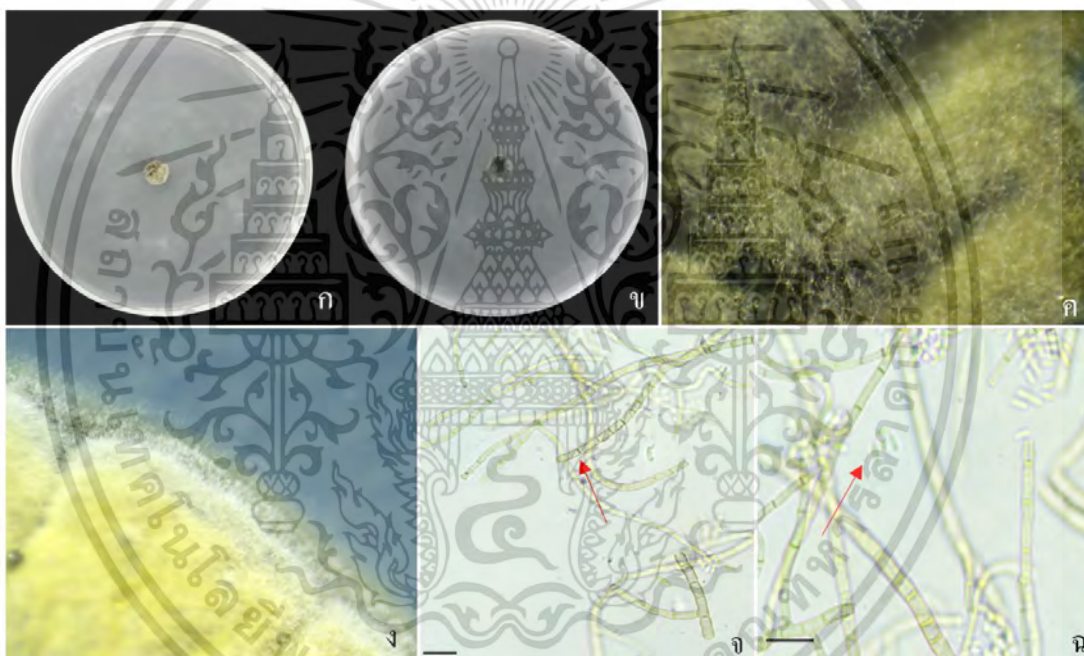
รูปที่ 4.21 แสดงลักษณะเชื้อราไอโซเลต 22-103 (ก-ข) เพาะเลี้ยงบนอาหาร PDA (ค) ผิวหน้าโคโลนีภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ (ง) ขอบโคโลนีภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ (จ) กลุ่มของเส้นใย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไอโซเลต 22-104

ลักษณะของโคโลนีบนผิวหน้าอาหาร PDA (รูปที่ 4.22 ก และ ข) เจริญโดยมีลักษณะผิวหน้าของโคโลนีเป็นแบบเหี่ยวยุบ (รูปที่ 4.22 ค) รูปร่างของโคโลนีมีลักษณะไม่แน่นอน (รูปที่ 4.22 ก) การยกตัวของโคโลนีมีลักษณะเป็นยกขึ้นจากผิวหน้าของอาหาร และมีการเจริญลงไปในอาหารเลี้ยงเชื้อ (Growth into medium) ขอบโคโลนีภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ มีลักษณะเรียบ (รูปที่ 4.22 ง) กลุ่มของเส้นใยมีสีเขียวเข้ม (รูปที่ 4.22 ค)

เมื่อนำโคโลนีมาศึกษาใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง พบเส้นใยมีลักษณะเป็นแบบมีผนังกัน (รูปที่ 4.22 จ) โคนิเดียมีลักษณะเป็นวงรี (Eliptical) (รูปที่ 4.22 ฉ) ไม่พบก้านชูสปอร์ จึงไม่สามารถคาดการณ์ด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยาได้ ดังนั้นจึงนำไปทำการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ต่อไป โดยมีอัตราการเจริญบนอาหาร PDA ในวันที่ 2 เท่ากับ 5.27 ± 0.23 มิลลิเมตร (ตารางที่ 4.2)



รูปที่ 4.22 แสดงลักษณะเชื้อราไอโซเลต 22-104 (ก-ข) เพาะเลี้ยงบนอาหาร PDA (ค) ผิวหน้าโคโลนีภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ (ง) ขอบโคโลนีภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ (จ) เส้นใยแบบมีผนังกัน (ฉ) โคนิเดีย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการวัดขนาดโคโลนีของเชื้อราที่เจริญบนเม็ดดินเผาผสมเพอร์ไลต์ทั้ง 22 ไอโซเลตบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ทุก 2 วัน จนครบเวลา 4 วัน (ภาคผนวก ข, ตารางที่ 1) พบว่าเชื้อราที่เจริญบนเม็ดดินเผาผสมเพอร์ไลต์ส่วนใหญ่มีอัตราการเจริญที่รวดเร็ว และมีบางไอโซเลตที่มีอัตราการเจริญที่ค่อนข้างช้า เนื่องจากในวันที่ 4 บางไอโซเลตมีการเจริญจนเต็มจานเพาะเลี้ยง ซึ่งอาจก่อให้เกิดความคาดเคลื่อนได้ ดังนั้นจึงใช้ผลการเจริญในวันที่ 2 ตามตารางที่ 4.2 และรูปที่ 4.23 เป็นตัวเปรียบเทียบผลการศึกษา โดยมีรายละเอียดดังนี้

เชื้อราที่เจริญบนเม็ดดินเผาผสมเพอร์ไลต์ที่มีอัตราการเจริญใน 2 วัน ที่รวดเร็ว 3 อันดับแรก ได้แก่ ไอโซเลต 22-073 ที่มีค่าเฉลี่ยของเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีอยู่ที่ 75.83 ± 0.76 มิลลิเมตร อัตราการเจริญเฉลี่ยต่อวันอยู่ที่ 22.03 มิลลิเมตรต่อวัน ไอโซเลต 22-086 ที่มีค่าเฉลี่ยของเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีอยู่ที่ 65.67 ± 1.95 มิลลิเมตร อัตราการเจริญเฉลี่ยต่อวันคือ 17.01 มิลลิเมตรต่อวัน ไอโซเลต 22-091 มีค่าเฉลี่ยของเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีคือ 33.17 ± 1.41 มิลลิเมตร อัตราการเจริญเฉลี่ยต่อวันคิดเป็น 10.26 มิลลิเมตรต่อวัน และไอโซเลตที่มีการเจริญเติบโตช้ามาก คือ ไอโซเลต 22-104 โดยค่าเฉลี่ยการเจริญมีค่าเท่ากับ 5.27 ± 0.23 อัตราการเจริญเฉลี่ยต่อวันคือ 0.03 มิลลิเมตรต่อวัน (ตารางที่ 4.2 รูปที่ 4.23)

จากงานวิจัยของ Gabiatti และคณะ (2006) ที่ได้ทำการศึกษาวัดอัตราการเจริญของเชื้อราเพื่อใช้ในการบำบัดทางชีวภาพระบุว่า เชื้อราสกุล *Penicillium* ที่ทำการเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ระบุว่าอัตราการเจริญของเชื้อราสกุล *Penicillium* อยู่ที่ 0.069 มิลลิเมตรต่อชั่วโมง หรือ 1.66 มิลลิเมตรต่อวัน ซึ่งตรงกับอัตราการเจริญของไอโซเลต 22-075, 22-076, 22-078, 22-090, 22-096, 22-098, 22-099, 22-101 และ 22-102 ที่คาดว่าจะเชื้อราสกุล *Penicillium* ซึ่งมีอัตราการเจริญอยู่ระหว่าง 1.00 ถึง 3.00 มิลลิเมตรต่อวัน ต่อมาในงานวิจัยของ Sharma และ Singh (2014) ที่ได้ทำการศึกษาวัดอัตราการเจริญของเชื้อราสกุล *Trichoderma* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA พบว่า เชื้อราสกุล *Trichoderma* มีอัตราการเจริญที่รวดเร็ว เมื่อเวลาผ่านไป 72 ชั่วโมง ขนาดของโคโลนีอยู่ที่ 42.5 ถึง 56.5 มิลลิเมตร ซึ่งมีขนาดใกล้เคียงกับไอโซเลต 22-073 ที่มีการคาดการณ์ว่า คือ เชื้อราสกุล *Trichoderma* ซึ่งในวันที่ 2 มีขนาด 75.83 มิลลิเมตร จากการศึกษาของ Taboonpong และคณะ (2014) ที่ได้ทำการศึกษาความหลากหลายของเชื้อราขนาดเล็ก (Microfungi) โดยได้ระบุว่า เชื้อราสกุล *Talaromyces* ที่ทำการคัดแยกได้นั้น มีเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีที่เพิ่มขึ้น 3.5 ถึง 4.5 เซนติเมตร ในเวลา 7 วัน ซึ่งคิดเป็นค่าอัตราการเจริญต่อวันอยู่ที่ประมาณ 5 ถึง 6 มิลลิเมตร ซึ่งสอดคล้องกับไอโซเลต 22-100 ที่คาดการณ์ว่า คือ เชื้อราสกุล *Talaromyces* ที่มีอัตราการเจริญต่อวันอยู่ที่ 4.08 มิลลิเมตรต่อวัน จากการศึกษาของ Berg และ Viljoen (2006) ที่ได้ทำการศึกษาความหลากหลายของ *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* และได้ทำการวัดอัตราการเจริญของเชื้อรา *F. oxysporum* f. sp. *cubense* ที่บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ระบุว่า เชื้อรา *F. oxysporum* f. sp. *cubense* ที่ได้ทำการทดลองทั้งหมด มีค่าเฉลี่ยของโคโลนีในวันที่ 5 อยู่ในช่วงของ 30 ถึง 50 มิลลิเมตร ซึ่งสอดคล้องกับในการศึกษานี้ ที่ไอโซเลต 22-089 และ 22-091 มีค่าเฉลี่ยของเส้นผ่าน

ศูนย์กลางของโคโลนีในวันที่ 4 อยู่ที่ 77.52 ± 0.23 และ 66.08 ± 0.72 มิลลิเมตร ตามลำดับ (ภาคผนวก ข, ตารางที่ 1) ต่อมาในการศึกษาของ Paul และคณะ (2015) ที่ได้ทำการศึกษาลักษณะ และการก่อโรคของ *Alternaria burnsii* ที่คัดแยกได้จาก *Cucurbita maxima* ได้ทำการวัดอัตราการเจริญของเชื้อราสกุล *A. burnsii* พบว่าอัตราการเจริญของเชื้อราสกุล *A. burnsii* ที่ทำการคัดแยกได้นั้น มีค่าเฉลี่ยของเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีในวันที่ 7 อยู่ที่ประมาณ 65 ถึง 67 มิลลิเมตร โดยค่อนข้างสอดคล้องกับในการศึกษานี้ ที่เชื้อราไอโซเลต 22-082 และ 22-093 มีเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ยในวันที่ 4 อยู่ที่ 52.12 ± 0.12 และ 46.60 ± 0.40 มิลลิเมตรตามลำดับ ต่อมาในการรายงานของ Cabañes และคณะ (2012) ที่ได้ทำการคัดแยกเชื้อราสายพันธุ์ *Hortaea werneckii* จากอุปกรณ์ในการดำน้ำลึก ได้ระบุว่า *H. werneckii* นั้นเป็นเชื้อราที่มีความสามารถในการทนเกลือที่สูงมาก มักจะพบได้ในสภาพแวดล้อมที่มีความเค็มสูง เช่นในทะเล มหาสมุทร ในพื้นที่ที่มีดินเค็ม หรือแม้แต่ปนเปื้อนในอาหารทะเลก็ตาม จากการทำการเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เพื่อศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา และวัดอัตราการเจริญพบว่า โคโลนีของ *H. werneckii* มีการเจริญที่ช้ามาก มีการเจริญ 13 ถึง 16 มิลลิเมตรเท่านั้น ในเวลา 14 วัน ซึ่งสอดคล้องกับในการศึกษานี้ ที่เชื้อราไอโซเลต 22-104 มีการเจริญที่ช้ามาก จนแทบไม่เจริญเลยในช่วงเวลาที่ทำการทดลอง (4 วัน)

ตารางที่ 4.2 อัตราการเจริญของเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato dextrose agar (PDA) ในวันที่ 2

ไอโซเลต	สกุลของเชื้อรา	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนี (มิลลิเมตร)	อัตราการเจริญเฉลี่ย (มิลลิเมตร/วัน)
22-073	<i>Tricroderma</i> sp.	75.83 ± 0.76 ⁿ	22.03
22-074	<i>Pestalotiopsis</i> sp.	26.83 ± 0.21 ^j	4.78
22-075	<i>Penicillium</i> sp.	8.57 ± 0.29 ^b	1.79
22-076	<i>Penicillium</i> sp.	10.83 ± 1.21 ^{b,c,d}	2.92
22-077	<i>Penicillium</i> sp.	10.58 ± 0.53 ^{b,c,d}	1.61
22-078	<i>Penicillium</i> sp.	14.23 ± 0.18 ^{e,f,g}	2.98
22-082	<i>Alternaria</i> sp.	27.65 ± 0.35 ^j	6.96
22-084	<i>Fusarium</i> sp.	23.02 ± 0.75 ⁱ	6.60
22-086	<i>Ceratobasidium</i> sp.	65.67 ± 1.95 ^m	17.01
22-089	<i>Fusarium</i> sp.	35.23 ± 0.42 ^l	8.36
22-090	<i>Penicillium</i> sp.	11.73 ± 0.92 ^{c,d,e}	2.65
22-091	<i>Fusarium</i> sp.	33.17 ± 1.41 ^k	10.26
22-093	<i>Alternaria</i> sp.	19.60 ± 1.77 ^h	6.58
22-096	<i>Penicillium</i> sp.	9.32 ± 0.27 ^{b,c}	2.16

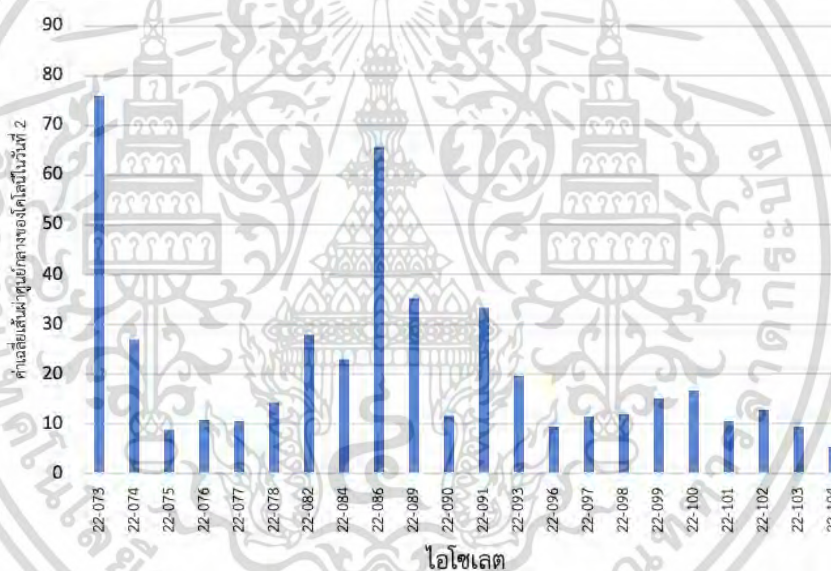
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อการใช้งานเพื่อการศึกษาค้นคว้า ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.2 อัตราการเจริญของเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato dextrose agar (PDA) ในวันที่ 2 (ต่อ)

ไอโซเลต	สกุลของเชื้อรา	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนี (มิลลิเมตร)	อัตราการเจริญเฉลี่ย (มิลลิเมตร/วัน)
22-097	<i>Simplicium obclacatum</i>	11.32±0.15 ^{c,d}	1.60
22-098	<i>Penicillium</i> sp.	11.78±0.29 ^{c,d,e}	2.89
22-099	<i>Penicillium</i> sp.	14.94±0.67 ^{f,g,h}	3.66
22-100	<i>Talaromyces</i> sp.	16.73±0.60 ^{f,g}	4.08
22-101	<i>Penicillium</i> sp.	10.43±0.40 ^{b,c,d}	1.52

หมายเหตุ : ตัวอักษรยกกำลัง หมายถึง ตัวเลขมีค่าอยู่ในแถวเดียวกัน ที่แสดงถึงค่าความแตกต่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$)



รูปที่ 4.23 ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีในวันที่ 2 ของเชื้อราที่เจริญบนเมล็ดดินเผาผสมเพอร์ไลต์

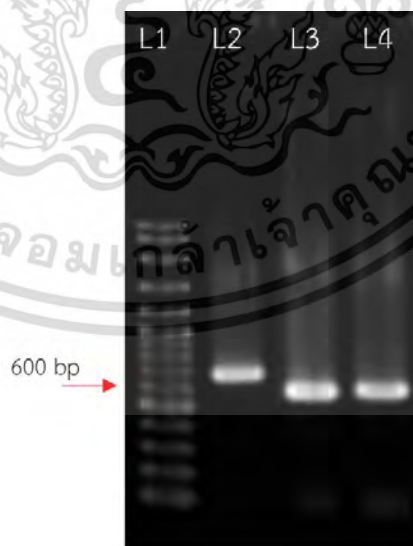
4.2 การระบุสายพันธุ์เชื้อราที่เจริญบนเมล็ดดินเผาผสมเพอร์ไลต์โดยลำดับนิวคลีโอไทด์

ในการระบุสายพันธุ์ของเชื้อราที่เจริญบนเมล็ดดินเผาผสมเพอร์ไลต์ ที่ไม่สารธระบุได้ด้วยวิธีการทางสัณฐานวิทยา โดยวิธีการทางโมเลกุล โดยได้ทำการระบุสายพันธุ์เชื้อราทั้งหมด 7 ไอโซเลต ประกอบด้วย ไอโซเลต 22-082, 22-084, 22-086, 22-093, 22-097, 22-103 และ 22-104 โดยการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยเทคนิคพีซีอาร์ (Polymerase chain reaction, PCR) โดยใช้คู่ไพรเมอร์ (Primer) ITS4 และ ITS5 จากนั้นได้นำผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ (PCR product) ที่ได้ไปตรวจสอบคุณภาพ โดยวิธีการเจลอิเล็กโตรโฟรีซิส (Gel electrophoresis) พบว่าเชื้อราทั้งหมดมีขนาดดีเอ็นเอที่ 500 ถึง

700 คู่เบส (รูปที่ 4.24 และ 4.25) จากนั้นได้นำผลการวิเคราะห์ลำดับเบสไปทำการเทียบเคียงกับฐานข้อมูล โดยใช้โปรแกรม BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) ในฐานข้อมูล GenBank NCBI (National Center for Biotechnology Information) (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) ผลการวิเคราะห์ลำดับเบสของเชื้อราไอโซเลตที่ไม่สามารถระบุได้ด้วยวิธีการทางสัณฐานวิทยาเบื้องต้น แสดงในตารางที่ 4.3



รูปที่ 4.24 ผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ (PCR Product) บนแผ่นเจลอิเล็กโตโฟร์รีซิส (Gel electrophoresis) (L1) เครื่องหมายโมเลกุล VC marker ขนาด 100 คู่เบส, (L2) ไอโซเลต 22-082, (L3) ไอโซเลต 22-084, (L4) ไอโซเลต 22-093 และ (L5) ไอโซเลต 22-097



รูปที่ 4.25 ผลิตภัณฑ์พีซีอาร์บนแผ่นเจลอิเล็กโตโฟร์รีซิส (L1) เครื่องหมายโมเลกุล VC marker ขนาด 100 คู่เบส, (L2) ไอโซเลต 22-086, (L3) ไอโซเลต 22-103 และ (L4) ไอโซเลต 22-104

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3 ผลการเทียบเคียงลำดับเบสในฐานข้อมูล

ไอโซเลต	เชื้อราที่เทียบเคียงในฐานข้อมูล	ร้อยละความคล้ายคลึง (Percent identity)
22-082	<i>Alternaria</i> sp.	100
22-084	<i>Fusarium</i> sp.	100
22-086	<i>Ceratobasidium</i> sp.	100
22-093	<i>Alternaria</i> sp.	100
22-097	<i>Simplicilium obclacatum</i>	100
22-103	<i>Phaeosphaeriopsis</i> sp.	100
22-104	<i>Hortaea werneckii</i>	100

จากผลการระบุสายพันธุ์ด้วยการระบุลำดับนิวคลีโอไทด์พบว่า เชื้อราไอโซเลต 22-082 และ 22-093 ที่เมื่อนำไปเทียบเคียงกับข้อมูลในฐานข้อมูล พบว่ามีความใกล้เคียงกับเชื้อราสกุล *Alternaria* (ภาคผนวก ง, รูปที่ 1 และ 2) ซึ่งในการศึกษาของ Thomma (2003) ระบุว่าเชื้อราสกุล *Alternaria* เป็นเชื้อราผู้ย่อยสลาย ที่มักพบได้ในดิน หรือเนื้อเยื่อพืชที่เน่าเปื่อย บางสายพันธุ์พบว่าเป็นเชื้อราฉวยโอกาสในการก่อโรคพืช ไอโซเลต 22-084 มีลำดับเบสเทียบเคียงกับเชื้อราสกุล *Fusarium* (ภาคผนวก ง, รูปที่ 3) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Okungbowa และคณะ (2014) ที่ระบุว่าเชื้อราสกุล *Fusarium* มีการแพร่กระจายผ่านดิน แล้วยังเป็นเชื้อก่อโรคที่สำคัญมากอีกด้วย ไอโซเลต 22-086 มีลำดับเบสใกล้เคียงกับเชื้อราสกุล *Ceratobasidium* จากการศึกษาของ Hossain (2019) ระบุว่า เชื้อราสกุล *Ceratobasidium* เป็นเชื้อราประเภท Mycorrhiza ที่พบได้มากในรากของต้นกล้วยไม้ (ภาคผนวก ง, รูปที่ 4) ไอโซเลต 22-097 มีลำดับเบสใกล้เคียงกับเชื้อรา *Simplicillium obclacatum* (ภาคผนวก ง, รูปที่ 5) ไอโซเลต 22-103 มีลำดับเบสใกล้เคียงกับเชื้อราสกุล *Phaeosphaeriaceae* (ภาคผนวก ง, รูปที่ 6) ซึ่งในการศึกษาของ Tennakoon และคณะ (2020) ระบุว่า เชื้อราสกุล *Phaeosphaeriaceae* สามารถพบได้ทั่วไปในทุกสภาพแวดล้อม ไม่ว่าจะเป็นในทะเล บนบก หรือแม้กระทั่งบริเวณพื้นที่ป่าชายเลน ไอโซเลต 22-104 ที่เมื่อนำไปเทียบเคียงในฐานข้อมูลแล้ว พบว่ามีความใกล้เคียงกับเชื้อรา *Hortaea werneckii* (ภาคผนวก ง, รูปที่ 7) ซึ่งในการศึกษาของ Chamroensakchai และคณะ (2020) ระบุว่า เชื้อรา *H. werneckii* เป็นเชื้อราก่อโรคทางผิวหนังของมนุษย์ ซึ่ง *H. werneckii* มีความสามารถที่ทนเกลือสูงได้ พบได้ทั่วไปในดินที่มีความเค็ม น้ำทะเล รวมถึงอาหารทะเลที่มีรสเค็ม

4.3 การทดสอบยับยั้งการเจริญของเชื้อราของเพอร์ริกออกไซด์

เอกสารนี้เป็นเอกสารจากการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อราของเพอร์ริกออกไซด์โดยวิธีการ Poisoned plate โดยทำการวัดขนาดของโคโลนีของเชื้อราทดสอบที่ถูกนำไปวางบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ผสม

สารเพอร์ริกออกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 10 เปรียบเทียบกับขนาดโคโลนีของชุดควบคุมที่ถูกนำไปเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เป็นเวลา 2 วัน (ตารางที่ 4.4) จากนั้นนำค่าที่ได้ไปคำนวณอัตราการยับยั้งการเจริญ ได้ผลการทดลอง คือ เพอร์ริกออกไซด์สามารถชะลอการเจริญของเชื้อที่แยกได้จากเม็ดดินเผาผสมเพอร์ไลต์ได้ 14 ไอโซเลต ซึ่ง 3 ไอโซเลตที่เพอร์ริกออกไซด์สามารถชะลอการเจริญได้สูงสุด ได้แก่ ไอโซเลต 22-073 ที่มีค่าเฉลี่ยการเจริญบนอาหารทดสอบ และชุดควบคุมเท่ากับ 29.49 ± 0.97 และ 75.83 ± 0.76 มิลลิเมตร ตามลำดับ มีอัตราการยับยั้งการเจริญอยู่ที่ร้อยละ 61.11 ไอโซเลต 22-098 ค่าเฉลี่ยการเจริญบนอาหารทดสอบ และชุดควบคุมเท่ากับ 6.68 ± 0.14 และ 14.48 ± 0.08 มิลลิเมตร ตามลำดับ อัตราการยับยั้งการเจริญอยู่ที่ร้อยละ 53.87 ไอโซเลต 22-075 มีค่าเฉลี่ยการเจริญบนอาหารทดสอบ และชุดควบคุมเท่ากับ 5.00 ± 0.00 และ 9.05 ± 0.32 มิลลิเมตร ตามลำดับ และมีอัตราการยับยั้งการเจริญอยู่ที่ร้อยละ 44.75 จากการข้อมูลที่ได้ เมื่อนำไปวิเคราะห์ผลทางสถิติ โดยการนำข้อมูลไปวิเคราะห์ค่าความแตกต่างของค่าเฉลี่ย พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) (ภาคผนวก จ, ตารางที่ 4 และ 5)

ตารางที่ 4.4 อัตราการเจริญของเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อชุดทดลองที่มีการผสมเพอร์ริกออกไซด์และอัตราการเจริญของเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อชุดควบคุม (PDA) ในวันที่ 2

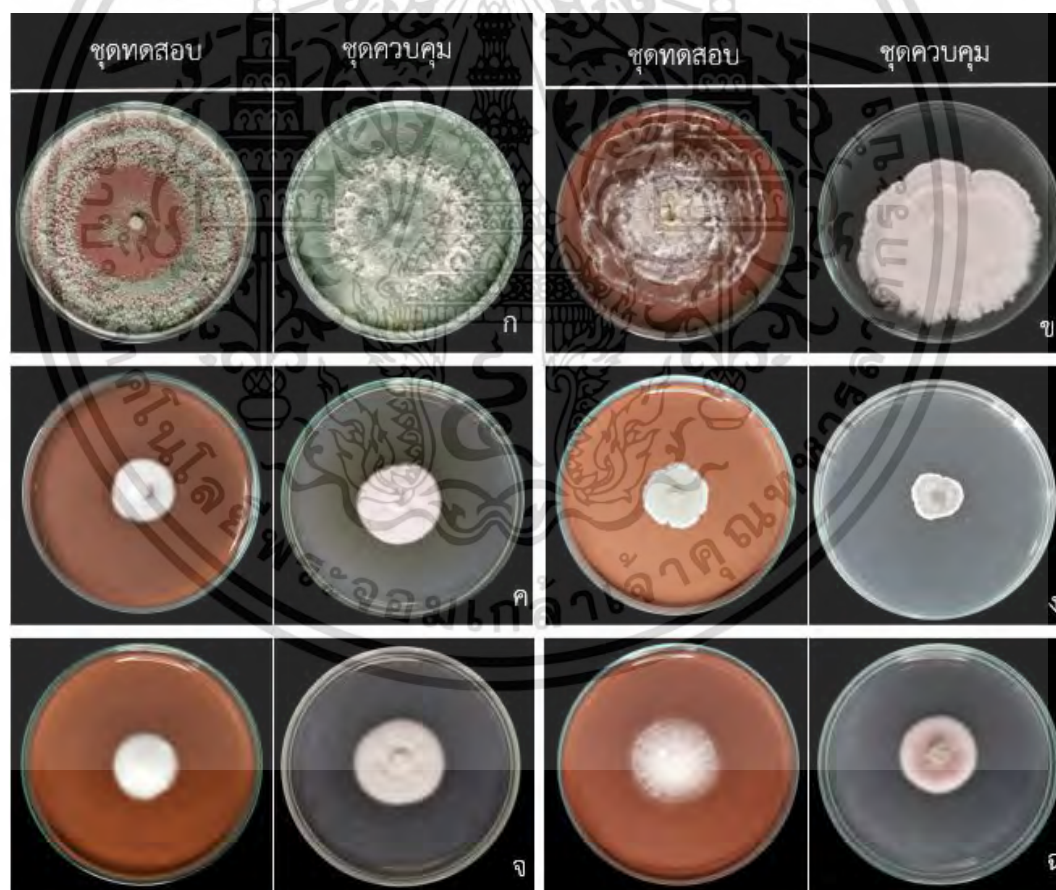
ไอโซเลต	ค่าเฉลี่ยการเจริญบนชุดทดลอง (มิลลิเมตร)	ค่าเฉลี่ยการเจริญบนชุดควบคุม (มิลลิเมตร)	อัตราการยับยั้งเฉลี่ย (ร้อยละ)
22-073	29.49 ± 0.97 ^{ef}	75.83 ± 0.76 ^l	61.11
22-074	18.32 ± 2.90 ^{c,d,e,f}	26.83 ± 0.21 ⁱ	31.72
22-075	5.00 ± 0.00 ^a	9.05 ± 0.32 ^b	44.75
22-076	11.25 ± 0.27 ^{a,b,c,d}	9.95 ± 0.67 ^{b,c}	-
22-077	9.73 ± 0.27 ^{a,b}	10.60 ± 0.12 ^{b,c,d}	8.21
22-078	7.52 ± 0.48 ^{a,b}	10.80 ± 0.29 ^{b,c,d}	30.37
22-082	11.50 ± 1.36 ^{a,b,c,d}	19.76 ± 0.32 ^g	41.80
22-084	19.07 ± 0.96 ^f	31.54 ± 0.14 ^j	39.54
22-086	56.48 ± 0.29 ^g	53.46 ± 0.64 ^k	-
22-089	24.39 ± 0.33 ^{d,e,f}	33.62 ± 1.89 ^j	27.45
22-090	9.30 ± 0.26 ^{a,b,c,d}	11.20 ± 0.23 ^{b,c,d}	16.96
22-091	20.17 ± 2.01 ^{a,b,c,d,e,f}	28.34 ± 0.20 ⁱ	28.83
22-093	18.07 ± 1.27 ^{a,b,c,d,e,f}	17.03 ± 2.27 ^h	-
22-096	14.83 ± 0.84 ^{a,b,c,d,e}	9.32 ± 0.27 ^b	-
22-097	10.67 ± 0.46 ^{a,b,c,d}	11.68 ± 0.32 ^{c,d}	8.65

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์หรือการใช้งานเพื่อการศึกษาค้นคว้าเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามเผยแพร่ต่อสื่อออนไลน์และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4 อัตราการเจริญของเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อชุดทดลองที่มีการผสมเฟอร์ริกออกไซด์ และอัตราการเจริญของเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อชุดควบคุม (PDA) ในวันที่ 2 (ต่อ)

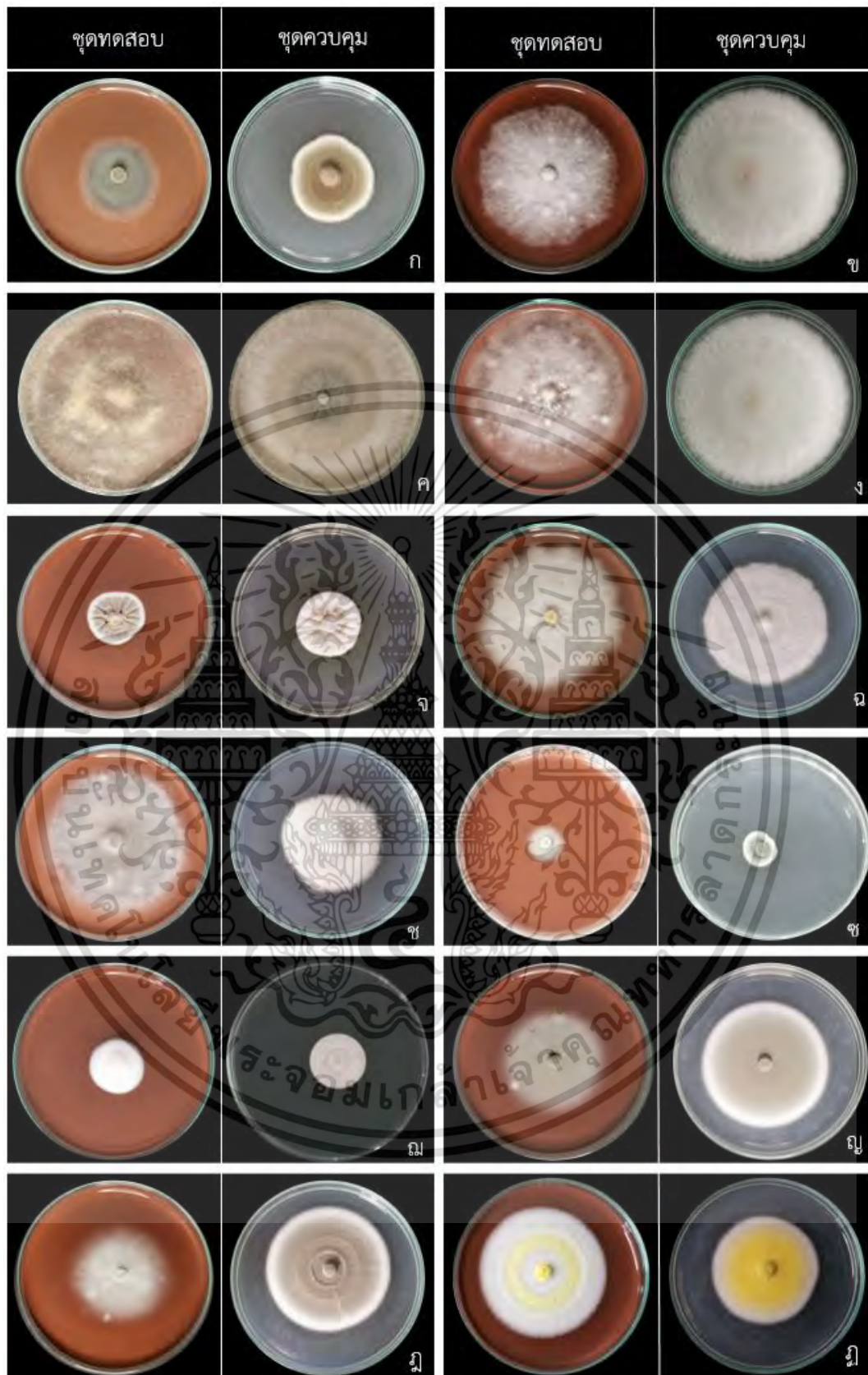
ไอโซเลต	ค่าเฉลี่ยการเจริญ บนชุดทดลอง (มิลลิเมตร)	ค่าเฉลี่ยการเจริญ บนชุดควบคุม (มิลลิเมตร)	อัตราการยับยั้งเฉลี่ย (ร้อยละ)
22-098	6.68±0.14 ^{a,b}	14.48±0.08 ^{e,f}	53.87
22-099	10.84±0.30 ^{a,b,c,d}	14.94±0.67 ^f	27.44
22-100	18.34±0.58 ^{a,b,c,d,e,f}	17.84±0.29 ^g	-
22-101	8.42±0.19 ^{a,b,c}	9.97±0.31 ^{b,c}	15.55
22-102	20.71± ^{b,c,d,e,f}	12.67±0.23 ^{d,e}	-

หมายเหตุ : - หมายถึง ไม่เกิดการยับยั้งการเจริญ ตัวอักษรยกกำลัง หมายถึง ตัวเลขมีค่าอยู่ในแถวเดียวกันที่แสดงถึงความแตกต่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$)

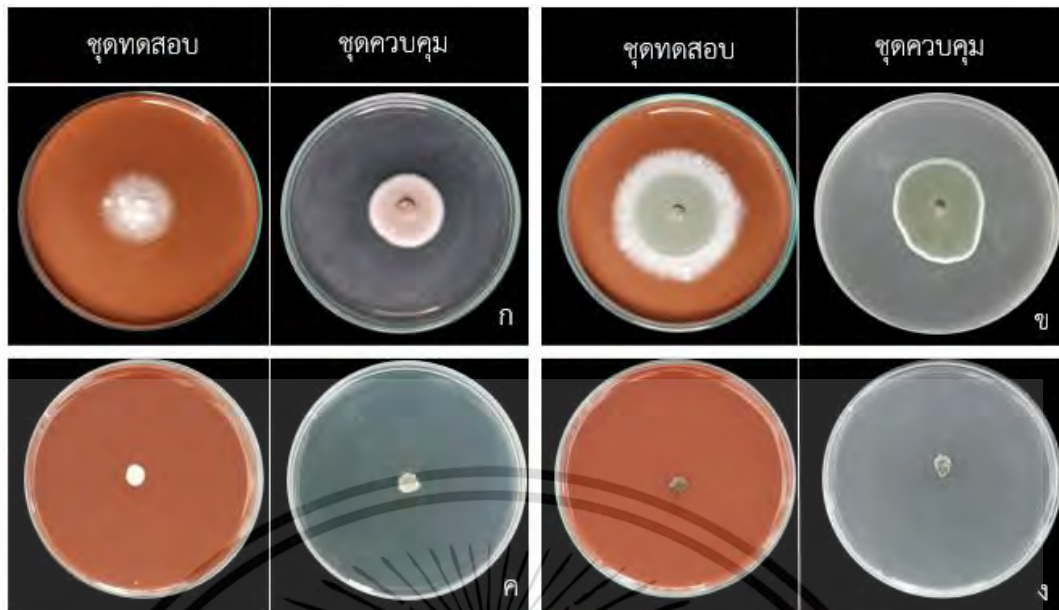


รูปที่ 4.26 การทดสอบโดยวิธีการ Poisoned Plate ที่ระยะเวลา 7 วัน (ก) 22-073 (ข) 22-074 (ค) 22-075 (ง) 22-076 (จ) 22-077 (ฉ) 22-078

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.27 การทดสอบโดยวิธีการ Poisoned Plate ที่ระยะเวลา 7 วัน (ก) 22-082 (ข) 22-084
 เอกสารนี้(ค) 22-086 (ง) 22-089 (จ) 22-090 (ฉ) 22-091 (ช) 22-093 (ฌ) 22-096 (ฎ) 22-097 (ญ) 22-098
 ไม่ว่าง(ฎ) 22-099 (ฏ) 22-100มิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.28 การทดสอบโดยวิธีการ Poisoned Plate ที่ระยะเวลา 7 วัน (ก) 22-101 (ข) 22-102 (ค) 22-103 (ง) 22-104

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาเบื้องต้นของเชื้อราที่คัดแยกได้จากเม็ดดินเผาผสมเพอร์ไลต์ทั้ง 22 ไอโซเลตนั้น สามารถระบุสกุลเชื้อราได้ทั้งหมด 15 ไอโซเลต ซึ่งแบ่งออกเป็น 5 สกุล คือ *Fusarium*, *Penicillium*, *Pestalotiopsis*, *Talaromyces* และ *Trichoderma* และเชื้อรา 7 ไอโซเลตที่ไม่สามารถระบุได้ด้วยวิธีการทางสัณฐานวิทยาเบื้องต้นได้รับการระบุโดยลำดับนิวคลีโอไทด์ สามารถระบุได้เป็นเชื้อราสกุล *Alternaria*, *Fusarium*, *Hortaea werneckii*, *Phaeophaeriopsis* และ *Simplicium obclatum* จากการคัดแยกเชื้อราจากเม็ดดินเผาผสมเพอร์ไลต์พบว่า เชื้อราที่พบมากที่สุด คือ เชื้อราสกุล *Penicillium* (จำนวน 10 ไอโซเลต) และจากการศึกษาการเจริญของเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato dextrose agar (PDA) พบว่าเชื้อราที่คาดการณ์ว่า คือ เชื้อราสกุล *Trichoderma* ไอโซเลต 22-073 มีอัตราการเจริญรวดเร็ว และเชื้อรา *H. werneckii* ไอโซเลต 22-104 มีอัตราการเจริญที่ช้าที่สุดที่เหมือนไม่มีการเจริญเลย

จากการศึกษาฤทธิ์การยับยั้งเชื้อราของเพอร์ริกออกไซด์ด้วยวิธีการ Poisoned plate ของเชื้อราทั้งหมด 22 ไอโซเลต พบว่าเพอร์ริกออกไซด์สามารถชะลอการเจริญของเชื้อราได้ 14 ไอโซเลต ได้แก่ เชื้อราสกุล *Trichoderma* ไอโซเลต 22-073 เชื้อราสกุล *Pestalotiopsis* ไอโซเลต 22-074 เชื้อราสกุล *Penicillium* ไอโซเลต 22-075, 22-077, 22-078, 22-090, 22-098, 22-099 และ 22-101 เชื้อราสกุล *Fusarium* ไอโซเลต 22-084, 22-089 และ 22-091 เชื้อราสกุล *Alternaria* ไอโซเลต 22-082 และเชื้อรา *S. obclatum* ไอโซเลต 22-097 และมี 8 ไอโซเลต ได้แก่ เชื้อราสกุล *Penicillium* ไอโซเลต 22-076, 22-096 และ 22-102 เชื้อราสกุล *Ceratobasidium* ไอโซเลต 22-086 เชื้อราสกุล *Alternaria* ไอโซเลต 22-093 เชื้อราสกุล *Talaromyces* ไอโซเลต 22-100 เชื้อราสกุล *Phaeosphaeriopsis* ไอโซเลต 22-103 และเชื้อรา *H. werneckii* ไอโซเลต 22-104 นั้น ไม่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญ

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 ในการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อรา อาจมีการเพิ่ม หรือลดปริมาณของสารทดสอบ เพื่อหาความเข้มข้นที่เหมาะสมในการนำไปใช้ประยุกต์ใช้เคลือบเม็ดดินเผาผสมเพอร์ไลต์

5.2.2 ควรมีการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อราบนเม็ดดินเผาที่มีการเคลือบสารเพอร์ริกออกไซด์

ที่ผ่านการเผาแล้ว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

- กัลทิมา พิชัย. 2554. การศึกษาการใช้สารสกัดพืชสมุนไพรบางชนิดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืชที่สำคัญในพื้นที่สะลงอ อ.แมริม จ.เชียงใหม่ เพื่อพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ท้องถิ่น. รายงานผลการวิจัย. มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่.
- ทวีทรัพย์ ไชยรักษ์ และ กัญชุลิกา รัตนเชิดฉาย. 2561. ประสิทธิภาพของปุ๋ยชีวภาพราไตรโคเดอร์มา เพื่อส่งเสริมการเจริญเติบโต และควบคุมโรคของพริก (*Capsicum flutescens* Linn) ในพื้นที่ดินที่มีความอุดมสมบูรณ์ต่ำ. รายงานผลการวิจัย. มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม.
- มัลลิกา มะกรวัฒน์. 2557. การระบุชนิดของเชื้อราสกุล *Annulohyphoxylon* ที่ซับซ้อนในเขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่าภูเขียวโดยใช้ข้อมูลของลำดับนิวคลีโอไทด์. มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ.
- ศิริวิทย์ รุ่งบำรุง. (23 พฤศจิกายน 2562). กระจ่างต้นไม้ให้คุณปลูกต้นไม้ในห้องแบบไม่มีปัญหา ต้องรู้จักจัดการกระจ่างและจานรอง [Web blog message]. ค้นจาก <https://readthecloud.co/10-ways-to-choose-plant-pot/>
- Abu-Huwaij, R., Al-Assaf, S. F., Mousli, F., Kutkut, M. S., and Al-Bashtawi, A. 2020. Perceptive Review on Properties of Iron Oxide Nanoparticles and Their Antimicrobial and Anticancer Activity. In Perceptive Review on Properties of Iron Oxide Nanoparticles and Their Antimicrobial and Anticancer Activity. 419 Systematic Reviews in Pharmacy. Vol. 11, (8)
- Ahmadjian, Vernon, Alexopoulos, Constantine John and Moore, David. Fungus. Encyclopedia Britannica, 24 May. 2023, <https://www.britannica.com/science/fungus>. Accessed 29 May 2023.
- Alsohaili, S. A., and Bani-Hasan, B. M. 2018. Morphological and Molecular Identification of Fungi Isolated from Different Environmental Sources in Northern Eastern Jordan Deseret Morphological and Molecular Identification of Fungi Isolated from Different Environmental Sources in the Northern Eastern Desert of Jordan. In Jordan Journal of Biological Sciences. Vol. 11, (3).
- Amiri, H., Jaafarzadeh, N., Ahmadi, M., and Martínez, S. S. 2011. Application of LECA modified with Fenton in arsenite and arsenate removal as an adsorbent. Desalination. 272(1-3), 212-217. doi: 10.1016/j.desal.2011.01.018.
- Amiri, H., Jaafarzadeh, N., Ahmadi, M., and Martínez, S. S. 2011. Application of LECA modified with Fenton in arsenite and arsenate removal as an adsorbent. Desalination, 272(1-3), 212-217. doi: 10.1016/j.desal.2011.01.018.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Aoki, T., O'Donnell, K. & Geiser, D.M. Systematics of key phytopathogenic *Fusarium* species: current status and future challenges. *J Gen Plant Pathol* 80, 189–201 (2014). doi: 10.1007/s10327-014-0509-3.
- Atkinson, J. B., Connor, D. H., Robinowitz, M., McALLISTER, H. A., and Virm, R. 1983. Cardiac Fungal Infections: Review of Autopsy Findings in 60 Patients. Available: <https://zymoresearch.eu/blogs/blog/ctab-protocol-for-isolating-dna-from-plant-tissues>.¹
- Balouiri, M., Sadiki, M., and Ibsouda, S. K. 2016. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. In *Journal of Pharmaceutical Analysis*. Xi'an Jiaotong University. Vol. 6, (2), pp. 71–79. doi: 10.1016/j.jpha.2015.11.005.
- Bellova A, Bystrenova E, Koneracka M, Kopcansky P, Valle F, Tomasovicova N, Timko M, Bagelova J, Biscarini F. and Gazova Z. 2010. Effect of Fe₃O₄ magnetic nanoparticles on lysozyme amyloid aggregation. *Nanotechnology*. 2010 Feb 10;21(6):065103. doi: 10.1088/0957-4484/21/6/065103.
- Cabañes, F. J., Bragulat, M. R., and Castellá, G. 2012. *Hortaea wernneckii* isolated from silicone scuba diving equipment in Spain. *Medical Mycology*. 50(8), 852–857. doi:10.3109/13693786.2012.679628.
- Burkhardt and Lotte. 2022. Eine Enzyklopädie zu eponymischen Pflanzennamen [Encyclopedia of eponymic plant names] (pdf) (in German). Berlin: Botanic Garden and Botanical Museum, Freie Universität Berlin. doi:10.3372/epolist2022. ISBN 978-3-946292-41-8. S2CID 246307410. Retrieved January 27, 2022.
- Chamroensakchai, T., Kleebchaiyaphum, C., Tatiyanupanwong, S., Eiam-Ong, S., and Kanjanabuch, T. 2020. Tinea nigra palmaris-associated peritonitis, caused by *Hortaea wernneckii*: The first case report in a peritoneal dialysis patient. *Peritoneal Dialysis International: Journal of the International Society for Peritoneal Dialysis*. doi:10.1177/0896860820944778.
- Dahal N. and Shrestha R. K. 2018. Evaluation of efficacy of Fungicides against *Fusarium oxysporum* f. sp. *lentis* in vitro at Lamjung, Nepal. *Journal of the Institute of Agriculture and Animal Science*. 35. doi: 105-112. 10.3126/jjaas.v35i1.22520.
- Elghareb. W. K. 2021. Deterioration diagnosis and treatment of some pottery objects from tell Atrib, Qalyubia, Egypt. *International Journal of Conservation Science*. Volume 12, (3), July-September 2021: 907-920. ISSN: 2067-533X

- Gabiatti, Jr. C., Vendruscolo, F., Piaia, J., Rodrigues, R. Durrant, L., and Costa, J. A. 2006. Radial growth rate as a tool for the selection of filamentous fungi for use in bioremediation. *Brazilian Archives of Biology and Technology*. 49. 29-34.
- Groenewald, S., van den Berg, N., Marasas, W. F. O., and Viljoen, A. 2006. Biological, physiological and pathogenic variation in a genetically homogenous population of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. *Australasian Plant Pathology*. 35(4), 401. doi: 10.1071/ap06041
- Hossain, M. M. 2019. Morpho-molecular characterization of *Ceratobasidium* sp.: A mycorrhizal fungi isolated from a rare epiphytic orchid *Gastrochilus calceolaris* (J. E. Sm.) D. Don. *Bangladesh Journal of Plant Taxonomy*, 26(2), 249–257. doi: 10.3329 /bjpt.v26i2.44584
- Index Fungorum. 2022. *Fusarium*. [Online]. Available: <https://www.indexfungorum.org/names/names.asp?strGenus=Fusarium>
- Jiang, N., Voglmayr, H., Xue, H., Piao, C., and Li, Y. 2022. Morphology and Phylogeny of *Pestalotiopsis* (*Sporocadaceae*, *Amphisphaeriales*) from Fagaceae Leaves in China. *American society for microbiology*. November/December 2022 Vol 10 (6) e03272-22. doi: 10.1128/spectrum.03272-22
- Johansson, L. 1997. The use of Leca (light expanded clay aggregates) for the removal of phosphorus from wastewater. *Water science and technology*. doi: 10.1016 /S0273-1223(97)00056-5
- Kirk, P.M., Cannon, P.F., Minter, D.W., Stalpers, J.A. 2008. *Dictionary of the Fungi*, tenth ed. CABI, Wallingford, UK, p. 332.
- Liu F, Bonthond G, Groenewald J, Cai L, Crous P. 2019. Sporocadaceae, a family of coelomycetous fungi with appendage-bearing conidia. *Stud Mycol* 92:287–415.
- Maharachchikumbura, S. S. N., Guo, L.-D., Chukeatirote, E., Bahkali, A. H., and Hyde, K. D. 2011. *Pestalotiopsis*—morphology, phylogeny, biochemistry and diversity. *Fungal Diversity*. 50(1), 167–187. doi: 10.1007/s13225-011-0125-x
- Manimegalai, B., Inbathamizh, L., and Mekalai Ponnu, T. 2012. In vitro studies on antimicrobial activity and phytochemical screening of leaf extracts of *scaevola taccada*. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. Vol 4, Suppl 4, 2012 ISSN- 0975-1491

Microbiologynote. 2023. *Fusarium*. [Online]. Available: <https://microbiologynote.com/thfusarium-spp-definition-structure-pathogenesis/>

เอกสารนี้เป็นเอกสารทรัพย์สินทางปัญญาของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี ไม่ควรเผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาต

- National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Summary for CID 518696, Iron (III) oxide. [Online]. Available: https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Iron_III_oxide. Accessed May 28, 2023.
- Nehra, P., Chauhan, R., Garg, N., and Verma, K. 2017. Antibacterial and antifungal activity of chitosan coated iron oxide nanoparticles. *British Journal of Biomedical Science*. 75(1), 13–18. doi: 10.1080/09674845.2017.1347362
- O'Donnell, K., McCormick SP, Busman M., Proctor, R. H., Ward, T. J., Geiser, D. M., Alberts, J. F., and Rheeder, J. P. 1984. Toxigenic *Fusarium* species: identity and mycotoxicology revisited. *Mycologia*. 2018;110(6):1058-1080. doi: 10.1080/00275514.2018.1519773
- Okungbowa, F. I. and Shittu, H. 2014. *Fusarium* Wilts: An Overview. *Environmental Research Journal* Vol. 6 (2)
- Parveen, S., Wani, A. H., Shah, M. A., Devi, H. S., Bhat, M. Y., and Koka, J. A. 2018. Preparation, characterization and antifungal activity of iron oxide nanoparticles. *Microbial Pathogenesis*. 115, 287–292. doi: 10.1016/j.micpath.2017.12.068
- Paul, N. C., Deng, J. X., Lee, H. B., and Yu, S.-H. 2015. Characterization and Pathogenicity of *Alternaria burnsii* from Seeds of *Cucurbita maxima* (Cucurbitaceae) in Bangladesh. *Mycobiology*. 43(4), 384–391. doi: 10.5941/myco.2015.43.4.384
- Pitt, J. I. 2014. *Penicillium*: *Penicillium* and *Talaromyces*: Introduction. In *Encyclopedia of Food Microbiology: Second Edition* (pp. 6–13). Elsevier Inc. doi: 10.1016/B978-0-12-384730-0.00248-2
- PSU broadcast. 2021. ป๊อบเปอร์ เม็ดดินเผา (Popper) สำหรับการเกษตร [Web blog message]. ค้นจาก <https://psub.psu.ac.th>
- Samar, M., and Saxena, S. 2016. Study of chemical and physical properties of perlite and its application in india. *International Journal of Science Technology and Management*. Vol. No.5, (4), April 2016
- Sandle, T. 2014. *Trichoderma*. Douglas E. Eveleigh, vol.3, pp 2187–2189, 1999, Elsevier Ltd.
- Sharma, K. K. and Singh, U. S. 2014. Cultural and morphological characterization of rhizospheric isolates of fungal antagonist *Trichoderma*. *Journal of Applied and Natural Science* 6 (2): 451-456 (2014)
- Sriramulu, M., Balaji, and Sumathi, S. 2020. Photo Catalytic, Antimicrobial and Antifungal Activity of Biogenic Iron Oxide Nanoparticles Synthesised Using *Aegle marmelos*

- Extracts. *Journal of Inorganic and Organometallic Polymers and Materials*. doi:10.1007/s10904-020-01812-2
- Taboonpong, K. Manoch, Chamswang, L. C. and Piasai, O. 2020. Diversity of Microfungi in Marine Sediments from the Gulf of Thailand and Andaman Sea and The In Vitro Antagonistic Activity Against Plant Pathogenic Fungi. *Thai Journal of Agricultural Science* 2014, 47(2): 99-108
- Tangthirasunun, N. and Poeaim, S. 2022. Studies on the Rapid and Simple DNA Extraction Method, Antibacterial Activity and Enzyme Activity Involved in Plant Biomass Conversion by *Cookeina sulcipes* and *C. tricholoma* (Cup Fungi). *J Pure Appl Microbiol.* 2022;16(4):2851-2863. doi: 10.22207/JPAM.16.4.58
- Thomma, B. P. H. J. 2003. *Alternaria* spp.: from general saprophyte to specific parasite. *Molecular Plant Pathology*, 4(4), 225–236. doi: 10. 1046/j. 1364- 3703. 2003. 00173.x
- Torres-Calzada, C., Tapia-Tussell, R., Higuera-Ciapara, I., and Perez-Brito, D. 2013. Morphological, pathological and genetic diversity of *Colletotrichum* species responsible for anthracnose in papaya (*Carica papaya* L). *European Journal of Plant Pathology*. 135(1), 67–79. doi: 10.1007/s10658-012-0065-7
- Wang, H., Chen, R., Sheng, Y., Jiang, W., Zhang, R., Chen, X., Shen, X., Yin, C., and Mao, Z. 2021. Impact of three soil textures on the fungal community structure in rhizosphere soils of *Malus hupehensis* Rehd. Seedlings, *HortScience horts*. 56(5), 572-578. doi: 10.21273/HORTSCI15688-21
- Yourgenome. 2021. What is PCR (polymerase chain reaction). [Online]. Available: <https://www.yourgenome.org/facts/what-is-pcr-polymerase-chain-reaction/>.
- Zukri, A., Nazir, R., Said, K. N. M., and Moayed, H. 2018. Physical and mechanical properties of lightweight expanded clay aggregate (LECA). *MATEC Web of Conferences*. 250. doi: 10.1051/matecconf/201825001016
- Zymo research. 2022. CTAB Protocol for isolating and from plant tissues. [Online]. Available: <https://zymoresearch.eu/blogs/blog/ctab-protocol-for-isolating-dna-from-plant-tissues>

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาคผนวก ก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี

1 อาหารเลี้ยงเชื้อ Potato dextrose agar (PDA)

ประกอบด้วย

Potato dextrose agar สำเร็จรูป 24 กรัม

ละลายสารละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร คนให้เข้ากันจากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที

หรือ

มันฝรั่งหั่นขนาด 1 × 1 × 1 เซนติเมตร 200 กรัม

Dextrose 20 กรัม

วุ้น (Agar) 15 กรัม

ต้มมันฝรั่งในน้ำกลั่นปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร เป็นเวลา 30 นาที กรองเอามันฝรั่งออก ปรับ ปริมาตรน้ำต้มมันฝรั่งให้ได้ 1,000 มิลลิลิตร ใส่ Dextrose และวุ้น ลงไปคนให้เข้ากัน จากนั้นนำไปนึ่ง ฆ่าเชื้อที่ อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที

2 อาหารเลี้ยงเชื้อทดสอบ Potato dextrose agar (PDA) + 10% Ferric oxide

ประกอบด้วย

Potato dextrose agar สำเร็จรูป 24 กรัม

Ferric oxide (Fe_2O_3) 100 กรัม

ละลายอาหารเลี้ยงเชื้อ และเฟอร์ริกออกไซด์ ในน้ำกลั่นปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร คนให้เข้า กันจากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที

หรือ

มันฝรั่งหั่นขนาด 1 × 1 × 1 เซนติเมตร 200 กรัม

Dextrose 20 กรัม

วุ้น 15 กรัม

Ferric oxide 100 กรัม

ต้มมันฝรั่งในน้ำกลั่นปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร เป็นเวลา 30 นาที กรองเอามันฝรั่งออก ปรับ ปริมาตรน้ำต้มมันฝรั่งให้ได้ 1,000 มิลลิลิตร ใส่ Dextrose, วุ้น และ Ferric oxide ลงไปคนให้เข้ากัน เอกสารนี้จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที ไม่ว่ากันทุก ๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3 0.5 M EDTA (ค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 8) ปริมาตร 500 มิลลิลิตร

ประกอบด้วย

EDTA	93.06 กรัม
------	------------

เติมน้ำกลั่นปริมาตร 300 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันจนสารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน จากนั้นปรับค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 8 แล้วจึงปรับปริมาตรสุดท้ายให้เป็น 500 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

4 10x Tris-borate EDTA buffer (TBE buffer) ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร

ประกอบด้วย

Tris base	108 กรัม
Boric acid	61.83 กรัม
EDTA	9.305 กรัม

ละลายสารด้วยน้ำกลั่นปริมาตร 500 มิลลิลิตร ปรับค่าความเป็นกรด-ด่างให้เท่ากับ 8 และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 1,000 มิลลิลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้วเป็นเวลา 15 นาที

5 10 mM TE buffer ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

ประกอบด้วย

1 M Tris-HCL (ค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 8)	10 มิลลิลิตร
0.5 M EDTA (ค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 8)	2 มิลลิลิตร

นำ 1 โมลาร์ Tris-HCL (ค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 8) ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ผสมกับ 0.5 โมลาร์ EDTA (ค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 8) ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรน้ำกลั่นให้ได้ 1,000 มิลลิลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที สำหรับ 0.1 มิลลิโมลาร์ TE buffer เตรียมได้โดยการเจือจางด้วยน้ำกลั่น 100 เท่า

6 Lactophenol ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร

ประกอบด้วย

Phenol crystal	200 กรัม
----------------	----------

ละลายใน glycerol ปริมาตร 400 มิลลิลิตร Lactic acid 200 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 1,000 มิลลิลิตร สำหรับ Lactophenol cotton blue ให้ใส่ cotton blue ปริมาตร 0.5 กรัม ลงไปละลาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาคผนวก ข

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

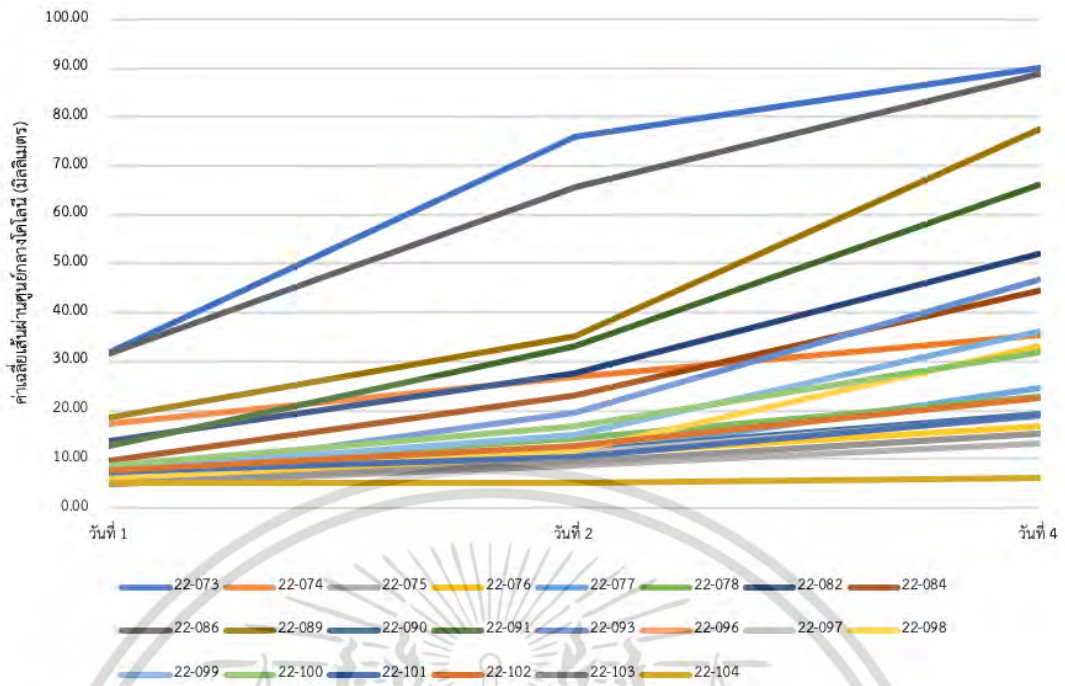
ภาคผนวก ข

ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนี

ตารางที่ 1 ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato dextrose agar (PDA)

ไอโซเลต	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนี (มิลลิเมตร) บนอาหาร PDA		
	วันที่ 1	วันที่ 2	วันที่ 4
22-073	31.77	75.83	90.00
22-074	17.28	26.83	35.40
22-075	5.00	8.57	13.30
22-076	5.00	10.83	16.69
22-077	7.37	10.58	24.67
22-078	8.27	14.23	22.91
22-082	13.73	27.65	52.12
22-084	9.82	23.02	44.38
22-086	31.65	65.67	88.70
22-089	18.51	35.23	77.52
22-090	6.44	11.73	19.27
22-091	12.65	33.17	66.08
22-093	6.45	19.60	46.60
22-096	5.00	9.32	15.15
22-097	8.13	11.32	18.77
22-098	6.00	11.78	33.00
22-099	7.62	14.94	36.25
22-100	8.58	16.73	31.80
22-101	7.40	10.43	19.10
22-102	7.69	12.67	22.65
22-103	5.00	9.35	15.13
22-104	5.27	5.20	6.15

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 1 ค่าเฉลี่ยของเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีบนอาหาร PDA

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาคผนวก ค

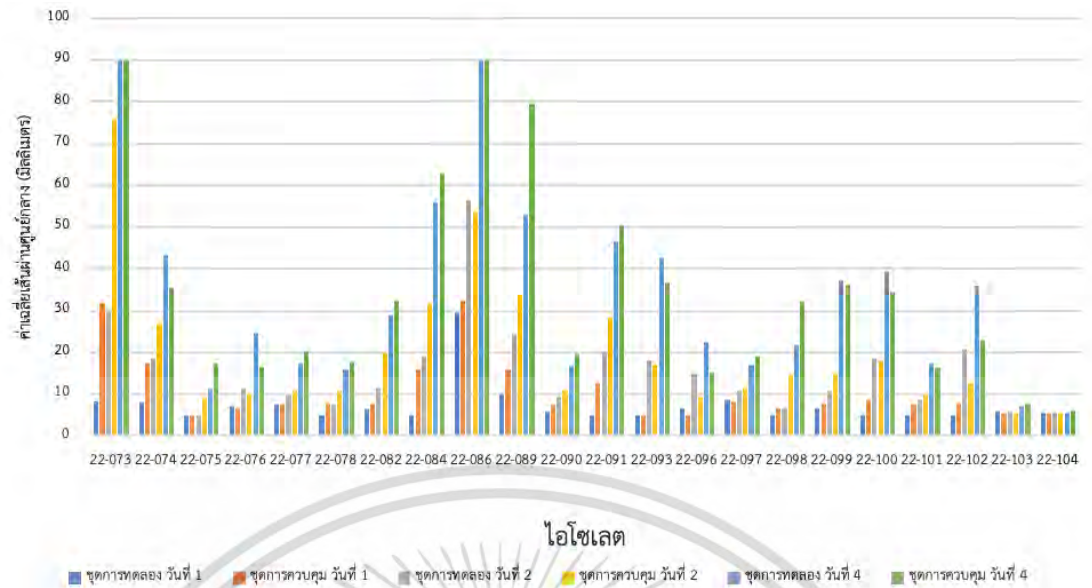
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค
ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีในการทดสอบยับยั้งการเจริญ
ของเชื้อรา

ตารางที่ 1 ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato dextrose agar (PDA) ที่ผสมร้อยละ 10 ของสารเพอร์ริกออกไซด์ และชุดควบคุม

ไอโซเลต	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนี (มิลลิเมตร)					
	วันที่ 1		วันที่ 2		วันที่ 4	
	การทดลอง	ชุดควบคุม	การทดลอง	ชุดควบคุม	การทดลอง	ชุดควบคุม
22-073	8.26	31.77	29.49	75.83	90.00	90.00
22-074	7.98	17.28	18.32	26.83	43.23	35.40
22-075	5.00	5.00	5.00	9.05	11.21	17.39
22-076	7.24	6.72	11.25	9.95	24.71	16.36
22-077	7.35	7.50	9.73	10.60	17.40	20.20
22-078	5.00	7.80	7.52	10.80	15.87	17.52
22-082	6.36	7.79	11.50	19.76	28.89	32.26
22-084	5.00	15.93	19.07	31.54	55.94	62.83
22-086	29.29	32.31	56.48	53.46	90.00	90.00
22-089	9.86	16.00	24.39	33.62	52.92	79.44
22-090	5.75	7.56	9.30	10.96	16.87	19.38
22-091	5.00	12.65	20.17	28.34	46.61	50.42
22-093	5.00	5.00	18.07	17.03	42.55	36.64
22-096	6.73	5.00	14.83	9.32	22.56	15.15
22-097	8.56	8.35	10.67	11.68	17.12	18.94
22-098	5.00	6.72	6.68	14.48	21.72	32.21
22-099	6.72	7.62	10.84	14.94	37.21	36.25
22-100	5.00	8.62	18.34	17.84	39.20	34.52
22-101	5.00	7.37	8.42	9.97	17.35	16.20
22-102	5.00	7.69	20.71	12.67	36.05	22.65
22-103	5.74	5.37	5.74	5.37	7.18	7.79
22-104	5.54	5.27	5.54	5.38	5.54	6.15

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้ไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น ยกเว้นแต่กรณีที่มีเหตุอันสมควร และต้องขออนุญาตจากเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีกรณีไปใช้



รูปที่ 1 ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีในการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อราโดยเฟอร์ริกออกไซด์ เทียบกับชุดควบคุมบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA (มิลลิเมตร)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาคผนวก ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง

การเทียบเคียงสกุลของเชื้อรา (BLAST)

	Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
✓	Altemaria alternata isolate SS_77 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spac...	Altemaria alternata	922	1027	100%	0.0	100.00%	606	MT497391.1
✓	Altemaria alternata isolate SS_13 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spac...	Altemaria alternata	922	1027	100%	0.0	100.00%	640	MT497390.1
✓	Altemaria alternata strain KU20017.1 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed s...	Altemaria alternata	922	922	100%	0.0	100.00%	574	MT487794.1
✓	Altemaria jacinthicola isolate F217169 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed s...	Altemaria jacinthi...	922	922	100%	0.0	100.00%	609	MK649899.1
✓	Altemaria sp. isolate F217098 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1...	Altemaria sp.	922	922	100%	0.0	100.00%	648	MK649898.1
✓	Altemaria sp. isolate F217097 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1...	Altemaria sp.	922	922	100%	0.0	100.00%	641	MK649897.1
✓	Altemaria sp. isolate F217023 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1...	Altemaria sp.	922	922	100%	0.0	100.00%	660	MK649896.1
✓	Naganishia sp. RF-2020b isolate 3Y124 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed...	Naganishia sp. R...	922	922	100%	0.0	100.00%	524	MT273663.1
✓	Altemaria sp. voucher HQU PS16 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spac...	Altemaria sp.	922	922	100%	0.0	100.00%	571	MK640581.1
✓	Altemaria sp. isolate LD18L-14(2) small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spac...	Altemaria sp.	922	922	100%	0.0	100.00%	594	MT239522.1

รูปที่ 1 แสดงผลการเทียบเคียงจากฐานข้อมูล NCBI ของไอโซเลต 22-082 ซึ่งคาดการณ์ว่าเป็นเชื้อสกุล *Altemaria*

	Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
✓	Fusarium sp. strain AQ16 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8...	Fusarium sp.	1038	1152	98%	0.0	100.00%	573	MH884157.1
✓	Fusarium sp. strain AQ12 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8...	Fusarium sp.	1038	1152	98%	0.0	100.00%	570	MH884153.1
✓	Fusarium sp. strain MICMW-32.6b 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8...	Fusarium sp.	1038	1152	98%	0.0	100.00%	1147	MG838038.1
✓	Fusarium equiseti isolate FUS-34-2 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spa...	Fusarium equiseti	1038	1152	98%	0.0	100.00%	589	MH879250.1
✓	Fusarium equiseti isolate AND 7 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer...	Fusarium equiseti	1038	1152	98%	0.0	100.00%	571	KY963137.1
✓	Fusarium equiseti strain FEIF14 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S r...	Fusarium equiseti	1038	1152	98%	0.0	100.00%	571	KR364600.1
✓	Fusarium equiseti strain FEIF13 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S r...	Fusarium equiseti	1038	1152	98%	0.0	100.00%	571	KR364599.1
✓	Fusarium equiseti strain FEIF12 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S r...	Fusarium equiseti	1038	1152	98%	0.0	100.00%	571	KR364598.1
✓	Pestalotiopsis sp. 015 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal ...	Pestalotiopsis sp.	1038	1152	98%	0.0	100.00%	570	KR012893.1
✓	Fusarium equiseti isolate Sample-249 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed s...	Fusarium equiseti	1038	1152	98%	0.0	100.00%	571	OQ421759.1

รูปที่ 2 แสดงผลการเทียบเคียงจากฐานข้อมูล NCBI ของไอโซเลต 22-084 ซึ่งคาดการณ์ว่าเป็นเชื้อสกุล *Fusarium*

	Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
✓	Ceratosidium sp. isolate 85 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1...	Ceratosidium sp.	1232	1232	99%	0.0	100.00%	679	MG654436.1
✓	Ceratosidium sp. AG-G isolate Str14 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1...	Ceratosidium sp.	1232	1232	99%	0.0	100.00%	679	DQ102402.1
✓	Uncultured Ceratosidiaceae clone OTU56 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcr...	uncultured Cerat...	1227	1227	99%	0.0	99.85%	682	MH005895.1
✓	Uncultured Ceratosidiaceae clone OTU51 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcr...	uncultured Cerat...	1227	1227	99%	0.0	99.85%	673	MH005890.1
✓	Uncultured Ceratosidiaceae clone GX2-1 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spac...	uncultured Cerat...	1227	1227	99%	0.0	99.85%	725	KP053814.1
✓	Rhizoctonia sp. AG-G isolate VRU-R3 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1...	Rhizoctonia sp. A...	1227	1227	99%	0.0	99.85%	694	KC825348.1
✓	Uncultured Ceratosidiaceae clone DOF-YC26 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed s...	uncultured Cerat...	1221	1221	99%	0.0	99.70%	725	JX545228.1
✓	Ceratosidium sp. AG-G isolate Str16 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1...	Ceratosidium sp.	1221	1221	99%	0.0	99.70%	680	DQ102401.1
✓	Ceratosidium sp. AG-G isolate Str31 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1...	Ceratosidium sp.	1221	1221	99%	0.0	99.70%	680	DQ102399.1
✓	Ceratosidium sp. AG-G isolate Gm2 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1...	Ceratosidium sp.	1221	1221	99%	0.0	99.70%	679	DQ102397.1

รูปที่ 3 แสดงผลการเทียบเคียงจากฐานข้อมูล NCBI ของไอโซเลต 22-086 ซึ่งคาดการณ์ว่าเป็นเชื้อสกุล *Ceratosidium*

Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
Alternaria sp. isolate LD18L-14(2) small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spac...	Alternaria sp.	1079	1079	96%	0.0	100.00%	594	MT239522.1
Alternaria sp. isolate LD1T-1.16 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer...	Alternaria sp.	1079	1079	96%	0.0	100.00%	594	MN955460.1
Alternaria sp. isolate LD2T-1.16 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer...	Alternaria sp.	1079	1079	96%	0.0	100.00%	594	MN955459.1
Alternaria sp. isolate CDNK-1.11 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed space...	Alternaria sp.	1079	1079	96%	0.0	100.00%	594	MN955457.1
Alternaria eichhorniae isolate DMW1042 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer...	Alternaria eichho...	1079	1079	96%	0.0	100.00%	594	KU593527.1
Alternaria sp. isolate A1 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S...	Alternaria sp.	1079	1079	96%	0.0	100.00%	594	ON361375.1
Alternaria sp. isolate CDNK-7.13 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spac...	Alternaria sp.	1075	1075	96%	0.0	100.00%	594	MN955455.1
Alternaria alternata strain YC9 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer...	Alternaria alternata	1074	1074	96%	0.0	99.83%	597	MK972909.1
Alternaria alternata strain YC8 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer...	Alternaria alternata	1074	1074	96%	0.0	99.83%	597	MK972906.1
Alternaria alternata strain EX2019-M2 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed...	Alternaria alternata	1074	1074	96%	0.0	99.83%	595	MT495455.1

รูปที่ 4 แสดงผลการเทียบเคียงจากฐานข้อมูล NCBI ของไอโซเลต 22-093 ซึ่งคาดการณ์ว่าเป็นเชื้อสกุล *Alternaria*

Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
Simplicillium obclavatum isolate NTOU 4250 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal trans...	Simplicillium obc...	1112	1112	100%	0.0	100.00%	611	MZ423051.1
Simplicillium obclavatum strain DW15M small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribe...	Simplicillium obc...	1105	1105	100%	0.0	99.83%	626	MT102853.1
Simplicillium obclavatum genomic DNA sequence contains 18S rRNA gene, ITS1, 5.8S rRNA gene, ITS2, 28S r...	Simplicillium obc...	1101	1101	100%	0.0	99.67%	616	OW985786.1
Simplicillium obclavatum genomic DNA sequence contains 18S rRNA gene, ITS1, 5.8S rRNA gene, ITS2, 28S r...	Simplicillium obc...	1096	1096	100%	0.0	99.50%	610	OW985941.1
Simplicillium obclavatum genomic DNA sequence contains 18S rRNA gene, ITS1, 5.8S rRNA gene, ITS2, 28S r...	Simplicillium obc...	1096	1096	100%	0.0	99.50%	607	OW985873.1
Simplicillium obclavatum strain SS1 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed sp...	Simplicillium obc...	1081	1081	98%	0.0	99.66%	601	MG597047.1
Simplicillium obclavatum genes for 18S rRNA, ITS1, 5.8S rRNA, ITS2, 28S rRNA, partial and complete sequenc...	Simplicillium obc...	1070	1070	98%	0.0	99.32%	601	AR604000.1
Simplicillium obclavatum isolate MASR SSO small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal trans...	Simplicillium obc...	1064	1064	97%	0.0	99.49%	595	KY129990.1
Simplicillium obclavatum isolate ZA801 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gen...	Simplicillium obc...	1057	1057	96%	0.0	99.65%	599	ON408999.1
Simplicillium obclavatum isolate BNL_5 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcrib...	Simplicillium obc...	1055	1055	97%	0.0	99.15%	608	MH979011.1

รูปที่ 5 แสดงผลการเทียบเคียงจากฐานข้อมูล NCBI ของไอโซเลต 22-097 ซึ่งคาดการณ์ว่าเป็นเชื้อ *Simplicillium obclaxatum*

Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
Phaeosphaeriopsis sp. 014 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 2, complete sequence; 26S ribosomal RNA gene, partial sequence	Phaeosphaeriop...	953	953	96%	0.0	100.00%	559	KR012892.1
Uncultured fungus clone LX042234-122-013-D05 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 2, complete sequence; 26S ribosomal RNA gene, partial sequence	uncultured fungus	953	953	96%	0.0	100.00%	587	GQ851756.1
Phaeosphaeriopsis sp. KH00317 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1 and 2, complete sequence; 26S ribosomal RNA gene, partial sequence	Phaeosphaeriop...	952	952	96%	0.0	100.00%	672	GU017524.1
Phaeosphaeriopsis musae strain M261 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 2, complete sequence; 26S ribosomal RNA gene, partial sequence	Phaeosphaeriop...	948	948	96%	0.0	100.00%	537	KR056291.1
Uncultured fungus clone LX042234-122-013-D06 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 2, complete sequence; 26S ribosomal RNA gene, partial sequence	uncultured fungus	948	948	96%	0.0	99.81%	587	GQ851761.1
Phaeosphaeriopsis musae isolate A727 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 2, complete sequence; 26S ribosomal RNA gene, partial sequence	Phaeosphaeriop...	946	946	95%	0.0	100.00%	521	KU529841.1
Phaeosphaeriopsis sp. isolate NTOU 4533 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 2, complete sequence; 26S ribosomal RNA gene, partial sequence	Phaeosphaeriop...	944	944	95%	0.0	100.00%	537	MZ423031.1
Uncultured fungus clone LX038363-068-001-H01 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 2, complete sequence; 26S ribosomal RNA gene, partial sequence	uncultured fungus	942	942	96%	0.0	99.61%	557	GQ851757.1
Uncultured fungus clone LX040429-122-035-E03 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 2, complete sequence; 26S ribosomal RNA gene, partial sequence	uncultured fungus	942	942	96%	0.0	99.61%	587	GU053869.1
Phaeosphaeriopsis sp., strain Est-27 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 2, complete sequence; 26S ribosomal RNA gene, partial sequence	Phaeosphaeriop...	942	942	96%	0.0	99.61%	559	OK242769.1

รูปที่ 6 แสดงผลการเทียบเคียงจากฐานข้อมูล NCBI ของไอโซเลต 22-103 ซึ่งคาดการณ์ว่าเป็นเชื้อสกุล *Phaeosphaeriopsis*

Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
Hortaea werneckii isolate SD 450 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 2, complete sequence; 26S ribosomal RNA gene, partial sequence	Hortaea werneckii	976	976	100%	0.0	100.00%	551	GQ334389.1
Hortaea werneckii isolate SD 416 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 2, complete sequence; 26S ribosomal RNA gene, partial sequence	Hortaea werneckii	976	976	100%	0.0	100.00%	551	GQ334384.1
Dothideales sp. CCG-2012 isolate PanM20112P30CC1147 voucher M2011-2-P30 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 2, complete sequence; 26S ribosomal RNA gene, partial sequence	Dothideales sp...	970	970	100%	0.0	99.81%	570	JQ922155.1
Hortaea werneckii isolate 002-C7 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 2, complete sequence; 26S ribosomal RNA gene, partial sequence	Hortaea werneckii	970	970	100%	0.0	99.81%	738	MT892804.1
Hortaea werneckii isolate NTOU 4468 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 2, complete sequence; 26S ribosomal RNA gene, partial sequence	Hortaea werneckii	965	965	99%	0.0	99.81%	551	MZ422982.1
Hortaea werneckii strain T2 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; internal transcribed spacer 2, complete sequence; 26S ribosomal RNA gene, partial sequence	Hortaea werneckii	965	965	100%	0.0	99.62%	550	JX141367.1
Hortaea werneckii strain Hw1 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 2, complete sequence; 26S ribosomal RNA gene, partial sequence	Hortaea werneckii	965	965	99%	0.0	99.81%	553	JN997372.1
Hortaea werneckii isolate SD 454 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 2, complete sequence; 26S ribosomal RNA gene, partial sequence	Hortaea werneckii	965	965	100%	0.0	99.62%	536	GQ334390.1
Dothideales sp. F6 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 2, complete sequence; 26S ribosomal RNA gene, partial sequence	Dothideales sp. F6	965	965	100%	0.0	99.62%	574	EU497947.1
Hortaea werneckii strain Y. H. Yeh I1113 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 2, complete sequence; 26S ribosomal RNA gene, partial sequence	Hortaea werneckii	957	957	98%	0.0	100.00%	555	MK336536.1

รูปที่ 7 แสดงผลการเทียบเคียงจากฐานข้อมูล NCBI ของไอโซเลต 22-104 ซึ่งคาดการณ์ว่าเป็นเชื้อรา *Hortaea werneckii*



ภาคผนวก จ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก จ

การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

ตารางที่ 1 ผลการทดสอบรวม (Omnibus test) โดยใช้ ANOVA ของกลุ่มข้อมูลอัตราการเจริญของเชื้อราที่เจริญบนเมล็ดดินเผาผสมเพอร์ไลต์

ANOVA

Growth Rate

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	20597.933	21	980.854	1309.227	<.001
Within Groups	32.964	44	.749		
Total	20630.897	65			

ตารางที่ 2 การวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยรายคู่โดยวิธีการทดสอบของ Tukey ของกลุ่มข้อมูลอัตราการเจริญของเชื้อราที่เจริญบนเมล็ดดินเผาผสมเพอร์ไลต์ในวันที่ 2

Growth Rate

Tukey HSD^a

Subset for alpha = 0.05

code	N	a	b	c	d	e	f	g	h	i	j	k	l	m	n
22-104	3	5.20													
22-075	3		8.57												
22-096	3		9.32	9.32											
22-103	3		9.35	9.35											
22-101	3		10.43	10.43	10.43										
22-077	3		10.58	10.58	10.58										
22-076	3		10.83	10.83	10.83										
22-097	3			11.32	11.32										
22-090	3			11.73	11.73	11.73									
22-098	3			11.78	11.78	11.78									
22-102	3				12.67	12.67	12.67								
22-078	3					14.23	14.23	14.23							
22-099	3						14.94	14.94	14.94						
22-100	3							16.73	16.73						
22-093	3								17.03						
22-084	3									23.62					
22-074	3										26.83				
22-082	3											27.65			
22-091	3												32.23		

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้เผยแพร่โดยไม่ขออนุญาต
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมีเหตุเปลี่ยนแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2 การวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยรายคู่โดยวิธีการทดสอบของ Tukey ของกลุ่มข้อมูลอัตราการเจริญของเชื้อราที่เจริญบนเมล็ดดินเผาผสมเพอร์ไลต์ในวันที่ 2 (ต่อ)

Subset for alpha = 0.05															
code	N	a	b	c	d	e	f	g	h	i	j	k	l	m	n
22-089	3												35.23		
22-086	3													65.67	
22-086	3													65.67	
22-073	3														75.83
Sig.		1.00	.21	.11	.23	.10	.21	.10	.33	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ตารางที่ 3 ผลการทดสอบรวมโดยใช้ ANOVA ของกลุ่มข้อมูลการทดสอบยับยั้งการเจริญของสารเพอร์ริกออกไซด์ของชุดทดสอบและชุดควบคุม ในวันที่ 2

		ANOVA					
		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	
antifungal	Between Groups	12606.172	21	600.294	24.429	<.001	
	Within Groups	1081.204	44	24.573			
	Total	13687.376	65				
ctrl	Between Groups	17930.609	21	853.839	1888.738	<.001	
	Within Groups	19.891	44	.452			
	Total	17950.500	65				

ตารางที่ 4 การวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยรายคู่โดยวิธีการทดสอบของ Tukey ของกลุ่มข้อมูลการชุดทดสอบการยับยั้งการเจริญของสารเพอร์ริกออกไซด์ ในวันที่ 2

antifungal

Tukey HSD^a

Subset for alpha = 0.05							
code	N	a	b	c	d	e	g
22-075	3	5.00					
22-104	3	5.54	5.54				
22-103	3	5.74	5.74				
22-098	3	6.68	6.68				
22-077	3	7.35	7.35				

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 5 การวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยรายคู่โดยวิธีการทดสอบของ Tukey ของกลุ่มข้อมูลชุดควบคุมของการทดสอบยับยั้งการเจริญของสารเพอร์ริกออกไซด์ ในวันที่ 2 (ต่อ)

code	N	Subset for alpha = 0.05											
		a	b	c	d	e	f	g	h	i	j	k	l
22-103	3	5.37											
22-096	3		9.32										
22-075	3		9.50										
22-076	3		9.85	9.85									
22-101	3		9.97	9.97									
22-078	3		10.80	10.80	10.80								
22-090	3		10.96	10.96	10.96								
22-098	3					14.48	14.48						
22-099	3						14.94						
22-100	3							17.74					
22-082	3							19.50					
22-093	3								22.63				
22-074	3									26.83			
22-091	3									28.54			
22-084	3										31.54		
22-089	3										33.62		
22-086	3											53.46	
22-073	3												75.83
Sig.		1.00	.31	.16	.06	.17	1.00	.21	1.00	.25	.05	1.00	1.00

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



งานทะเบียนคณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
คำรับรองเล่มโครงการพิเศษ

วันที่ 6 เดือน มิถุนายน พ.ศ 2566

ข้าพเจ้า นางสาวภทราวดี อ่อนธรรม รหัสนักศึกษา 62050634

นางสาวภาสินี บุตรวาปี รหัสนักศึกษา 62050637

นักศึกษาหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม ภาควิชาชีววิทยา ขอร้อง
ว่าโครงการพิเศษ เรื่อง

การคัดแยก จัดจำแนก และทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อราที่เจริญบนเมล็ดดินเผาผสมเพอร์ไลต์ที่ใช้
แล้วโดยเฟอร์ริกออกไซด์

Isolation, identification and antifungal testing of growth fungi on used
Popperlite by Ferric oxide

ปีการศึกษา 2565

เป็นผลงานวิจัยที่ได้คัดลอกหรือละเมิดลิขสิทธิ์ของผู้อื่นและได้ผ่านการตรวจสอบความ
ซ้ำซ้อนเรียบร้อยแล้ว และได้แนบเอกสารการตรวจสอบการลอกเลียนงานวรรณกรรมที่ตรวจสอบจาก
เล่มโครงการพิเศษฉบับสมบูรณ์แล้ว โปรแกรมอักขรวิสุทธิ 0.21%

ลงชื่อ.....*ภทราวดี อ่อนธรรม*.....

(นางสาวภทราวดี อ่อนธรรม)

นักศึกษา

ลงชื่อ.....*ภาสินี บุตรวาปี*.....

(นางสาวภาสินี บุตรวาปี)

นักศึกษา

ข้าพเจ้า ดร. นฤมล ตั้งธีระสุนันท์ อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการพิเศษ ได้ตรวจสอบโครงการ
พิเศษของนักศึกษาข้างต้น แล้ว ขอร้องว่าเป็นผลงานวิจัยของนักศึกษาจริงและมีเนื้อหาสมบูรณ์ จึง
ลงชื่อไว้เป็นหลักฐาน

ลงชื่อ.....*นฤมล ตั้งธีระสุนันท์*.....

(ดร. นฤมล ตั้งธีระสุนันท์)

อาจารย์ที่ปรึกษา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้