สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การแยกและคัดเลือกเชื้อราจากดินเพื่อการผลิตเอนไซม์ไคติเนสและโปรติเอส และการประยุกต์ใช้ในการควบคุมทางชีวภาพ

นางสาวเกษกานดา ปรมัตถ์วิโรจน์
นางสาววนัสนันท์ ศิริวัฒน์
นางสาววรารัตน์ ศรีประพัฒน์

ปฟ.
ก๗๑ร
๑๖๐

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน 72607
วัน,เดือน,ปี 20 ธ.ค. 2550

b 11716996 8
i.....

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต
สาขาวิชา เทคโนโลยีชีวภาพ
ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
พ.ศ. 2549

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Isolation and selection fungi from soil for Chitinase and Protease production and application in biological control

Miss. Ketkanda Poramadviroj

Miss. Wanatsanan Siriwat

Miss. Wararat Sriprapat

A Special Project submitted in Partial of the Requirement

for the Degree of Bachelor of Science

Department of Applied Biology

Faculty of Science

King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang

Academic Year 2006

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครงงานพิเศษเรื่อง การแยกและคัดเลือกเชื้อราจากดินเพื่อการผลิตเอนไซม์ไคติเนสและโปรติเอสและการประยุกต์ใช้ในการควบคุมทางชีวภาพ

นักศึกษา นางสาวเกษกานดา ปรมัตถ์วิโรจน์

นางสาววนัสนันท์ ศิริวัฒน์

นางสาววรารัตน์ ศรีประพัฒน์

ภาควิชา ชีววิทยาประยุกต์

สาขาวิชา เทคโนโลยีชีวภาพ

อาจารย์ที่ปรึกษา ผศ.อารี ฤทธิบูรณ์

ภาควิชา ชีววิทยาประยุกต์

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

อนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

คณะกรรมการตรวจสอบ		ลายมือชื่อ
ประธานกรรมการ	ผศ.ดร.สมชาย ไกรรักษ์	
กรรมการ	ผศ.ดร.สุรีย์ นานาสมบัติ	
กรรมการ	ผศ.อารี ฤทธิบูรณ์	

.....

(รศ.ดร.นวลพรรณ ณ ระนอง)

ลิขสิทธิ์ของภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครงงานพิเศษเรื่อง	การแยกและคัดเลือกเชื้อราจากดินเพื่อการผลิตเอนไซม์ไคติเนส และโปรติเอสและการประยุกต์ใช้ในการควบคุมทางชีวภาพ
นักศึกษา	นางสาวเกษกานตา ปรมัตถ์วิโรจน์
	นางสาววนัสนันท์ ศิริวัฒน์
	นางสาววรารัตน์ ศรีประพัฒน์
ภาควิชา	ชีววิทยาประยุกต์
สาขาวิชา	เทคโนโลยีชีวภาพ
ปีการศึกษา	2549
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ. อารี ฤทธิบูรณ์

บทคัดย่อ

โครงงานพิเศษนี้เป็นการศึกษาการคัดเลือกเชื้อราที่สามารถผลิตเอนไซม์ไคติเนสและโปรติเอส โดยใช้อาหาร CD-medium ที่มีคอลลอยคอลไคติน และหางนม เป็นแหล่งคาร์บอน และแหล่งไนโตรเจน ตามลำดับ ในจำนวนเชื้อราที่แยกได้ทั้งหมด 12 ไอโซเลต พบว่ามีเชื้อรา 11 ไอโซเลต ที่สามารถผลิตเอนไซม์ไคติเนสและโปรติเอสได้ คือ M 24404, C 22301, C 21405, C 18402, M 14303, C 18404, C 15305, C 15304, C 14507, *Chaetomium globosum* TISTR 3093 และ *Acremonium* TISTR 3283 หลังจากนั้นนำเชื้อราทั้ง 11 ไอโซเลตนี้มาใช้เป็นตัวแทนของเชื้อปฏิปักษ์ มาศึกษาปฏิสัมพันธ์กับเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนพืชที่เป็นโรค 30 ไอโซเลต และสายพันธุ์อ้างอิง ซึ่งใช้เป็นตัวแทนของเชื้อก่อโรคพืช 2 สายพันธุ์ พบว่าเชื้อรา C 22301, C 18402, M 14303, C 18404, C 15305, C 15304, C 14507 และ *Chaetomium globosum* TISTR 3093 สามารถยับยั้งเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนพืชที่เป็นโรค แบบทำลายชีวิตโดยสร้างบริเวณยับยั้ง และเชื้อ M 24404, C 21405 และ *Acremonium* TISTR 3283 สามารถยับยั้งเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนพืชที่เป็นโรค ทั้งแบบแข่งขันและทำลายชีวิต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Special Project Title	Isolation and selection fungi from soil for Chitinase and Protease production and application in biological control	
Name	Ketkanda	Poramadviroj
	Wanatsanan	Siriwat
	Wararat	Sriprapat
Department	Applied Biology	
Program	Biotechnology	
Academic Year	2006	
Special Project Advisor	Asst.Prof. Aree	Ritiboon

Abstract

This special project was performed by selection of chitinase and protease producing fungi isolated from soil using CD-medium with colloidal chitin and skim milk as the carbon source and nitrogen source. Among 12 isolates of fungi, there were 11 isolates able to produce chitinase and protease. These fungal isolates were M 24404, C 22301, C 21405, C 18402, M 14303, C 18404, C 15305, C15304, C14507, *Chaetomium globosum* TISTR 3093 and *Acremonium* TISTR 3283. These 11 isolates of fungi were then used as representative of antagonists and tested for biological controlling of 30 isolate plant pathogens and 2 reference strains of plant pathogens. The results showed that the fungal isolates C 22301, C 18402, M 14303, C 18404, C 15305, C 15304, C 14507 and *Chaetomium globosum* TISTR 3093 could inhibit the growth of the plant pathogens by antibiosis, and the isolates M 24404, C 21405 and *Acremonium* TISTR 3283 could inhibit the growth of the plant pathogens by competition and antibiosis.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานพิเศษนี้สำเร็จลุล่วงได้อย่างดีด้วยคำแนะนำของอาจารย์ที่ปรึกษาโครงงานพิเศษ ผศ.อารี ฤทธิบูรณ์ และกรรมการผู้คุมสอบอีก 2 ท่าน คือ ผศ.ดร.สมชาย ไกรรักษ์ และผศ.ดร.สุรีย์ นานาสมบัติ ที่ให้ข้อคิดเห็นและข้อเสนอแนะตลอดจนช่วยตรวจรายละเอียดต่างๆ ในโครงงานพิเศษฉบับนี้ ผู้วิจัยรู้สึกซาบซึ้งในความอนุเคราะห์ของท่านและขอบคุณเป็นอย่างสูง

ขอขอบคุณ คุณลักษณ์ชา วิไลลักษณ์ นักศึกษาปริญญาโท ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่คอยให้ความช่วยเหลือและกำลังใจในการทำโครงงานพิเศษจนสำเร็จลุล่วงเป็นอย่างดี

สุดท้ายขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา บุคคลในครอบครัวและเพื่อนๆ เป็นอย่างสูงที่คอยให้ความช่วยเหลือ และเป็นกำลังใจอย่างดีมาตลอดจนสำเร็จการศึกษา

เกษกานดา ปรมัตถ์วิโรจน์
วนัสนันท์ ศิริวัฒน์
วรารัตน์ ศรีประพัฒน์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ข
กิตติกรรมประกาศ ค
สารบัญ ง
สารบัญตาราง ช
สารบัญรูป ฌ
บทที่ 1 บทนำ 1
1.1 ที่มาและความสำคัญ 1
1.2 วัตถุประสงค์ของโครงงานพิเศษ 1
1.3 ขอบเขตของโครงงานพิเศษ 2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 2
บทที่ 2 ทฤษฎีและหลักการ 3
2.1 การใช้เชื้อจุลินทรีย์ในการควบคุมศัตรูพืช 3
2.1.1 การแข่งขัน (competition) 3
2.1.2 การทำลายชีวิต (antibiosis) 3
2.1.3 การเป็นปรสิต (parasitism) 4
2.1.4 การชักนำให้เกิดความต้านทานโรค (induced disease resistance) 4
2.2 เชื้อปฏิปักษ์ที่นิยมนำมาใช้ในปัจจุบัน 5
2.2.1 *Bacillus thuringiensis* (BT) 5
2.2.2 *Trichoderma* spp. 6
2.2.3 *Chaetomium* spp. 6
2.3 เอนไซม์โปรติเอส 7
2.3.1 ลักษณะที่สำคัญของเอนไซม์โปรติเอส 7
2.3.2 ประเภทของเอนไซม์โปรติเอส 10
2.3.2.1 เซอรีนโปรติเอส (Serine protease) 10
2.3.2.2 ซัลไฟดริลโปรติเอส (Sulfydryl protease) 11
2.3.2.3 เมทอล-คอนเทนนิงโปรติเอส (Metal-containing protease) 12

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

2.3.2.4 แอซิดโปรติเอส (Acid protease) 12
2.3.3 ประโยชน์ของเอนไซม์โปรติเอส 12
2.3.4 การวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์โปรติเอส 13
2.3.4.1 โปรตีนเป็นสับสเทรต 13
2.3.4.2 สับสเทรตสังเคราะห์ 14
2.4 เอนไซม์ย่อยไคติน 14
2.4.1 ลักษณะทั่วไปของเอนไซม์ย่อยไคติน 14
2.4.2 แหล่งของเอนไซม์ที่ย่อยไคติน 14
2.4.3 ข้อเปรียบเทียบของการผลิตเอนไซม์ไคติเนสจากพืชและจุลินทรีย์ 15
2.4.4 ประโยชน์ของเอนไซม์ไคติเนส 15
2.4.5 จุลินทรีย์ที่ผลิตเอนไซม์ไคติเนส 16
2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวกับการแยกเชื้อจากธรรมชาติ เพื่อผลิตเอนไซม์ไคติเนส และโปรติเอส 17
2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวกับการใช้เชื้อที่มีการผลิตเอนไซม์โปรติเอสและไคติเนสเพื่อการควบคุมทางชีวภาพ 18
บทที่ 3 การทดลองและวิธีการ 22
3.1 แหล่งของเชื้อรา 22
3.1.1 ตัวอย่างเชื้อราจากดินที่เก็บจากสถานที่ที่แตกต่างกันและใช้เป็นตัวแทนของเชื้อปฏิปักษ์ 22
3.1.2 ตัวอย่างเชื้อปฏิปักษ์จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย 22
3.1.3 ตัวอย่างเชื้อราที่คัดแยกจากพืชที่เป็นโรคซึ่งใช้เป็นตัวแทนของเชื้อราก่อโรคพืช 22
3.1.4 ตัวอย่างเชื้อก่อโรคพืชจากกรมวิชาการเกษตร 23
3.2 วัสดุอุปกรณ์ 23
3.2.1 อุปกรณ์ 23
3.2.2 สารเคมี 24
3.3 วิธีการ 24

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.3.1 การเตรียมอาหารในการแยกและเลี้ยงเชื้อราจากดิน
เพื่อการผลิตเอนไซม์ไคติเนสและโปรติเอส 24
3.3.2 การเตรียมอาหารในการศึกษาปฏิสัมพันธ์ของเชื้อราจากดินที่ถูกคัดเลือก
กับเชื้อราที่แยกจากชิ้นส่วนพืชที่เกิดโรค 25
3.3.3 การคัดเลือกและแยกเชื้อราที่สามารถสร้างเอนไซม์ไคติเนสและโปรติเอสจากดิน
ให้บริสุทธิ์ 25
3.3.4 การคัดเลือกเชื้อราที่สามารถผลิตเอนไซม์ไคติเนสและโปรติเอสได้
ในสภาวะอาหารแข็ง 25
3.3.5 การคัดแยกเชื้อราจากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค 25
3.3.6 การศึกษาปฏิสัมพันธ์ของเชื้อราที่แยกได้จากดินที่ถูกคัดเลือก
กับเชื้อราที่แยกจากชิ้นส่วนพืชที่เป็นโรค 26
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง 27
4.1 การแยกเชื้อและเลี้ยงเชื้อราเพื่อการผลิตเอนไซม์ไคติเนสและโปรติเอส 27
4.2 การศึกษาปฏิสัมพันธ์ของเชื้อราที่ถูกคัดเลือกกับเชื้อราที่เป็นเชื้อก่อโรค 29
บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง 69
เอกสารอ้างอิง 70
ภาคผนวก 73

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ตัวอย่างที่มีความจำเพาะต่อ R_1 และ R_2	8
2	สมบัติและแหล่งของเอนไซม์โปรติเอส	11
3	ชนิดจุลินทรีย์ที่ผลิตเอนไซม์ไคติเนส	16
4	การทดสอบเอนไซม์ไคติเนสในอาหาร Colloidal – CD-medium	27
5	การทดสอบเอนไซม์โปรติเอสในอาหาร skim milk – CD-medium	28
6	ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดินสายพันธุ์ M 24404 และ เชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคชนิดต่างๆ 18 สายพันธุ์	30
7	ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดินสายพันธุ์ C 22301 และ เชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคชนิดต่างๆ 21 สายพันธุ์	33
8	ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดินสายพันธุ์ C 21405 และ เชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคชนิดต่างๆ 23 สายพันธุ์	36
9	ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดินสายพันธุ์ C 18402 และ เชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคชนิดต่างๆ 21 สายพันธุ์	40
10	ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดินสายพันธุ์ M 14304 และ เชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคชนิดต่างๆ 23 สายพันธุ์	43
11	ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดินสายพันธุ์ C 18404 และ เชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคชนิดต่างๆ 21 สายพันธุ์	46
12	ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดินสายพันธุ์ C 15305 และ เชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคชนิดต่างๆ 16 สายพันธุ์	49
13	ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดินสายพันธุ์ C 15304 และ เชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคชนิดต่างๆ 21 สายพันธุ์	52
14	ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดินสายพันธุ์ C 14507 และ เชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคชนิดต่างๆ 19 สายพันธุ์	55
15	ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อรา *Chaetomium globosum* TISTR 3093 และ เชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคชนิดต่างๆ 29 สายพันธุ์	58
16	ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อรา *Acremonium* sp.TISTR 3283 และ เชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคชนิดต่างๆ 24 สายพันธุ์	61

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ **หน้า**

17 ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดินชนิดต่างๆ 9 สายพันธุ์ และเชื้อราก่อโรคพืชสายพันธุ์ *Fusarium oxysporum* DOAC 0893 65

18 ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดินชนิดต่างๆ 8 สายพันธุ์ และเชื้อราก่อโรคพืชสายพันธุ์ *Sclerotium rolfsii* DOAC 0926 66

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
1	ลักษณะการแทงเส้นใยของเชื้อรา *Trichoderma harzianum* เพื่อเข้าไปเจริญอยู่ภายในเส้นใยของเชื้อราก่อโรคพืช	6
2	ปฏิกิริยาการสลายพันธะเปปไทด์	7
3	ลักษณะโครงสร้างของกรดอะมิโนชนิดแอลและกรดอะมิโนชนิดดี	8
4	ปฏิกิริยาระหว่างกรดอะมิโนอิสระกับนินไฮเดรต	13
5	วงใสรอบโคโลนีของเชื้อรา *Chaetomium globosum* TISTR 3093	28
6	วงใสรอบโคโลนีของเชื้อราสายพันธุ์ C 15304	29
7	วงใสรอบโคโลนีของเชื้อรา *Acremonium* sp.TISTR 3283	29
8	ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดิน M 24404 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค PD 5904	31
9	ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดิน M 24404 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค PD 4905	32
10	ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดิน M 24404 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค PD 5003	32
11	ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดิน C 22301 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค PD 4914	34
12	ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดิน C 22301 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค PD 4920	35
13	ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดิน C 22301 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค PD 5801	35
14	ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดิน C 21405 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค PD 5102	38
15	ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดิน C 21405 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค PD 5003	39
16	ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดิน C 21405 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค NA 5101	39
17	ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดิน C 18402 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค PD 5602	41

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่		หน้า
18	ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดิน C 18402 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค PD 5301	42
19	ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดิน C 18402 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค PD 5503	42
20	ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดิน M 14303 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค PD 4915	44
21	ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดิน M 14303 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค PD 4918	45
22	ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดิน M 14303 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค PD 5902	45
23	ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดิน C 18404 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค PD 5904	47
24	ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดิน C 18404 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค PD 4905	48
25	ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดิน C 18404 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค PD 4921	48
26	ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดิน C 15305 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค PD 4914	50
27	ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดิน C 15305 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค PD 6101	51
28	ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดิน C 15305 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค PD 5801	51
29	ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดิน C 15304 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค PD 5102	53
30	ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดิน C 15304 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค PD 6101	54

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่		หน้า
31	ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดิน C 15304 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค PD 5801	54
32	ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดิน C 14507 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค PD 4911	56
33	ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดิน C 14507 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค PD 4806	57
34	ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดิน C 14507 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค PD 4903	57
35	ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อรา *Chaetomium globosum* TISTR 3093 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค PD 5904	60
36	ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดิน *Chaetomium globosum* TISTR 3093 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค NA 5101	60
37	ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดิน *Chaetomium globosum* TISTR 3093 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค PD 5301	60
38	ไม่พบปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดิน *Acremonium* sp.TISTR 3283 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค PD 5602	63
39	ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดิน *Acremonium* sp.TISTR 3283 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค PD 4914	64
40	ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดิน *Acremonium* sp.TISTR 3283 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค PD 4903	64
41	ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดิน C 21405 และเชื้อราก่อโรคพืช *Fusarium oxysporum* DOAC 0893	65
42	ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดิน C 21405 และเชื้อราก่อโรคพืช *Sclerotium rolfsii* DOAC 0926	67

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญ

การใช้จุลินทรีย์เพื่อยับยั้งทำลายเชื้อโรคพืช เช่น เชื้อรา แบคทีเรีย ไส้เดือนฝอย ไวรัส ซึ่งสามารถทำลายเชื้อโรคพืช ลดจำนวนประชากร หรือแย่งชิงธาตุอาหาร หรือติดไปกับพืชอาศัย จุลินทรีย์ที่ใช้ในการกำจัดจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคพืช เรียกว่า จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ หรือบางทีเรียกสารกำจัดเชื้อราทางชีวภาพ ตัวอย่างเช่น การใช้เชื้อรา *Trichoderma* sp. ในการควบคุมเชื้อราที่ทำให้เกิดโรคพืชประสบความสำเร็จในหลายๆ ประเทศในเอเชีย รวมถึงประเทศไทย ประเทศฟิลิปปินส์ ประเทศเวียดนาม และประเทศอินโดนีเซีย (FAO-ICP รายงานความก้าวหน้า ปี 2539 - 2542) กลไกในการควบคุมทางชีวภาพ คือ เชื้อ *Trichoderma* บางสายพันธุ์สามารถเป็นปรสิต โดยการเจริญล้อมรอบเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคพืชแล้วสร้างเอนไซม์ (Samuels, 1996) เช่น ไคติเนส (chitinase) เบต้า-1, 3 กลูคาเนส (β-1, 3-Glucanase) และเซลลูเลส (cellulase) ซึ่งมีคุณสมบัติในการย่อยสลายผนังเส้นใยของเชื้อโรค จากนั้นจึงแทงเส้นใยเข้าไปเจริญอยู่ภายในเส้นใยเชื้อโรคพืช เป็นเหตุให้เชื้อโรคพืชสูญเสียความมีชีวิต ส่งผลให้ปริมาณของเชื้อโรคพืชลดลง ขณะที่บางสายพันธุ์สามารถสร้างสารปฏิชีวนะชื่อ ไตรโคเดอร์มิน (trichodermin) ออกมาเพื่อยับยั้งหรือทำลายเส้นใยของเชื้อโรคจนเกิดการเหี่ยวสลาย (lysis) ได้ (Homer และคณะ, 1972) และพบว่ามีรายงานหลายฉบับแสดงให้เห็นถึงความเป็นไปได้ว่าประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ สายพันธุ์ *Trichoderma* ขึ้นอยู่กับความสามารถในการย่อยสลายโปรตีนด้วย Elad และ Kapat (1999) รายงานว่า เอนไซม์โปรติเอสของเชื้อ *Trichoderma harzianum* มีความเกี่ยวข้องกับการต่อต้านและยับยั้งเชื้อ *Botrytis cinerea*

ในโครงงานพิเศษนี้ได้ทำการแยกและคัดเลือกเชื้อราที่สามารถผลิตเอนไซม์ไคติเนสและโปรติเอสจากดินเพื่อศึกษาศักยภาพในการผลิตเอนไซม์ไคติเนสและโปรติเอสของสายพันธุ์เชื้อราชนิดต่างๆ โดยนำเชื้อที่คัดเลือกได้มาทดสอบการยับยั้งกับเชื้อราก่อโรคในพืช ซึ่งการทดลองนี้เป็นแนวทางที่สามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการควบคุมทางชีวภาพได้ต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงงานพิเศษ

1 คัดเลือกเชื้อราจากดินที่สามารถสร้างเอนไซม์ไคติเนสและโปรติเอส ในสภาวะอาหารแข็ง

2 นำเชื้อราที่สามารถผลิตเอนไซม์ไคติเนสและโปรติเอส มาประยุกต์ใช้ในการควบคุมทางชีวภาพกับเชื้อราที่ก่อโรคพืชที่แยกได้จากพืชเศรษฐกิจจำพวกพืชผักและผลไม้ที่เป็นโรค

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.3 ขอบเขตของโครงงานพิเศษ

1 ทำการแยกและคัดเลือกเชื้อราจากดินที่มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์ไคติเนสและโปรติเอส

2 ศึกษาประสิทธิภาพของเอนไซม์ไคติเนสและโปรติเอสของเชื้อราที่คัดเลือก

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1 สามารถแยกและคัดเลือกเชื้อราจากดิน ที่มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์ไคติเนสและโปรติเอส

2 เพื่อทราบศักยภาพในการผลิตเอนไซม์ไคติเนสและโปรติเอสจากสายพันธุ์เชื้อราชนิดต่างๆ ที่ทำการศึกษา

3 สามารถนำเชื้อราที่คัดเลือกไปประยุกต์ใช้ในการควบคุมทางชีวภาพในอนาคต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและหลักการ

2.1 การใช้เชื้อจุลินทรีย์ในการควบคุมศัตรูพืช

โรคพืชเป็นปัญหาสำคัญสำหรับการเพาะปลูกพืช และจัดเป็นศัตรูพืชชนิดหนึ่งที่สามารถทำความเสียหายให้แก่เกษตรกรผู้ปลูก ซึ่งอาจเกิดขึ้นตั้งแต่เริ่มเพาะปลูกจนกระทั่งหลังการเก็บเกี่ยว การควบคุมโรคพืชมีหลายวิธี โดยวิธีที่ง่ายและได้ผลเร็วคือการใช้สารเคมี ซึ่งจะเกิดปัญหาตามมา คือการดื้อต่อสารเคมีของเชื้อโรค การปนเปื้อนและตกค้างของสารเคมีในผลิตผลทางการเกษตรและในสิ่งแวดล้อม และยังมีผลต่อสุขภาพของเกษตรกรผู้ใช้และผู้บริโภคด้วย ปัจจุบันได้มีการค้นคว้าหาวิธีการควบคุมโรคพืชใหม่ๆ เพื่อลดปัญหาอันตรายจากการใช้สารเคมีทางการเกษตรที่เพิ่มขึ้น โดยให้เกษตรกรหันมาใช้การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี (biocontrol) ซึ่งเป็นวิธีหนึ่งที่ยอมรับว่าใช้ได้ผลดีและได้มีการศึกษาถึงกลไกการควบคุมโรคและระบบการควบคุมโรคโดยวิธีต่างๆ โดยเฉพาะการใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ (antagonist) ที่เป็นเชื้อแบคทีเรียและเชื้อรา เชื้อแบคทีเรียมักเป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อโรคพืชโดยการแก่งแย่งอาหาร การยับยั้ง ทำลาย และการเป็นปรสิต งานวิจัยด้านการควบคุมโรคโดยวิธีชีวภาพส่วนใหญ่มักจะเน้นการศึกษาการควบคุมโรคที่ทำลายส่วนของพืชที่อยู่ใต้ดินมากกว่าเชื้อโรคที่เข้าทำลายส่วนของพืชที่อยู่เหนือดิน ซึ่งในปัจจุบันวิธีนี้เป็นที่ยอมรับว่าเป็นวิธีที่มีโอกาสสูงในการใช้เป็นกลยุทธ์ป้องกันกำจัดโรค เพราะใช้ได้ผลดีจนถึงขั้นในระดับการค้า โดยในธรรมชาติจะมีเชื้อแบคทีเรียที่มีคุณสมบัติในการนำมาใช้ควบคุมโรคพืช เรียกว่า เชื้อปฏิปักษ์ (antagonist) ซึ่งเชื้อนี้จะมีกลไกควบคุมเชื้อที่เป็นสาเหตุของโรคได้ 4 ลักษณะ คือ

2.1.1 การแข่งขัน (competition)

เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ มีความสามารถแข่งขันกับเชื้อโรคพืชในด้านต่างๆ เช่น การใช้ธาตุอาหาร อากาศ และการครอบครองพื้นที่ได้ดีกว่า ทำให้เชื้อโรคพืชไม่สามารถเจริญเติบโต หรืออาศัยอยู่ในบริเวณที่มีเชื้อปฏิปักษ์ พืชจะเจริญเติบโตแข็งแรง มีผลผลิตสูงขึ้น การแข่งขันที่พบมากคือการนำเอาธาตุอาหารหรือสารต่างๆ ที่มีอยู่ในดินหรือในสภาพแวดล้อมนั้นมาใช้ประโยชน์ในการเติบโตทำให้เชื้อโรคขาดสารไม่สามารถเจริญเติบโตเข้าทำลายพืช เช่น เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Pseudomonas fluorescens* จะผลิตสาร siderophore ช่วยในการจับยึดธาตุเหล็กในธรรมชาติมาใช้ได้ดีกว่าเชื้อรา *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* สาเหตุโรค Take-all ของข้าวสาลี ทำให้เชื้อรานี้ไม่สามารถทำลายรากของข้าวสาลี ช่วยให้ข้าวสาลีเจริญเป็นปกติ

2.1.2 การทำลายชีวิต (antibiosis)

เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่ได้รับความสนใจคัดเลือกมาใช้ในการควบคุมโรคพืชโดยชีววิธีนั้นจะเน้นคุณสมบัติการทำลายชีวิตของเชื้อโรคเป็นส่วนใหญ่ โดยเชื้อปฏิปักษ์นี้มีความสามารถ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลิตสารที่มีคุณสมบัติยับยั้งหรือทำลายเชื้อโรคได้ เช่น สารพิษ (toxin) หรือสารปฏิชีวนะ (antibiotic) พบว่ากลไกชนิดนี้เป็นการควบคุมโรคพืชโดยชีววิธีที่สำเร็จเป็นครั้งแรก โดยเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Agrobacterium radiobacter* สายพันธุ์ K84 จะผลิตสาร bacteriocin ที่มีชื่อว่า agrocin 84 ไปยับยั้งหรือทำลายเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* biotype 1 และ 2 สาเหตุโรค Crown gall ของพืชได้

2.1.3 การเป็นปรสิต (parasitism)

เชื้อแบคทีเรียที่มีคุณสมบัติเป็นปรสิต (parasite) เข้าไปเจริญอาศัยทำลายสิ่งมีชีวิตอื่นนั้น พบได้ไม่มากนัก การใช้ควบคุมโรคพืชยังไม่ประสบความสำเร็จเหมือนปฏิกิริยาแบบการทำลายชีวิต เช่น *Erwinia uredíniolytica* เข้าทำลายพีดิเซล (pedicel) ของสปอร์เชื้อราสนิมหรือเชื้อแบคทีเรีย *Pasteuria penetrans* ที่เป็นปรสิตของไส้เดือนฝอย *Meloidogyne incognita* สาเหตุโรครากปม (Root knot)

2.1.4 การชักนำให้เกิดความต้านทานโรค (induced disease resistance)

เชื้อจุลินทรีย์ เช่น เชื้อราหรือแบคทีเรียโดยเฉพาะพวกที่เคยเป็นเชื้อโรค เมื่อนำมาทำให้เสียความสามารถในการทำให้เกิดโรคแล้วสามารถชักนำหรือกระตุ้นให้พืชสร้างความต้านทานต่อการทำลายของเชื้อโรคได้ เช่น การเกิดกลายพันธุ์ในยีนเดียวของเชื้อรา *Colletotrichum magna* สาเหตุของโรคแอนแทรคโนสในพืชพวกแตงจะไม่ทำให้เกิดโรคแต่จะเจริญอยู่ในพืชช่วยให้พืชทนต่อการเข้าทำลายของเชื้อโรคดั้งเดิมได้ หรือในกรณีของเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas solanacearum* สายพันธุ์ไม่รุนแรงที่มีชีวิตอยู่สามารถชักนำให้พืชสร้างสาร tomatine ปลดปล่อยออกมาที่บริเวณรากทำให้มะเขือเทศต้านทานต่อการเข้าทำลายของเชื้อ *Pseudomonas solanacearum* สายพันธุ์ดั้งเดิมได้

วิธีการนำเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ไปใช้ในการควบคุมโรคพืช นิยมนำไปใช้กับโรคพืชที่เกิดบริเวณผิวราก (rhizoplane) หรือบริเวณผิวพืชที่อยู่เหนือดิน (phylloplane) ซึ่งการใช้เชื้อปฏิปักษ์ควบคุมโรคจะมีกรรมวิธีการใช้แตกต่างกัน

1 บริเวณผิวราก

มีกรรมวิธีการใช้เชื้อปฏิปักษ์เพื่อควบคุมโรคได้หลายแบบแตกต่างกันขึ้นอยู่กับความสะดวกในการปฏิบัติของผู้ใช้และแต่ละวิธีอาจให้ประสิทธิภาพการควบคุมโรคได้ไม่เท่ากันซึ่งขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่างเช่น คุณสมบัติของพืชเอง และลักษณะของผลิตภัณฑ์ที่มีหลายรูปแบบ มีวิธีใช้ 4 วิธี คือ

1.1 การคลุกเมล็ด

นิยมใช้กับพืชที่ใช้เมล็ดในการเพาะปลูก โดยเมล็ดจะต้องมีขนาดไม่ใหญ่มากนักช่วยให้คลุกง่ายและไม่สิ้นเปลืองผลเชื้อ มักนิยมคลุกเมล็ดก่อนปลูก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2 การราดดิน

เป็นวิธีที่นิยมปฏิบัติกันมาก แต่ไม่ค่อยสะดวกหากนำไปใช้ในสภาพไร่ของเกษตรที่น้ำไม่เพียงพอและถ้าปลูกพืชเป็นปริมาณมากยิ่งไม่สะดวกในการปฏิบัติ

1.3 การคลุกดิน

เป็นวิธีการนำเอาผงเชื้อหรือสารละลายเชื้อปฏิปักษ์ใส่ไปในดินและคลุกเคล้าผสมกันให้ทั่วก่อนปลูกพืช ซึ่งวิธีนี้เป็นวิธีที่ค่อนข้างสะดวก

1.4 การจุ่มราก

เป็นวิธีที่นิยมใช้กันกับพืชที่ต้องเพาะเมล็ดแล้วย้ายกล้าไปปลูก เช่น มะเขือเทศ พริก หรือพืชที่มีเมล็ดพันธุ์ราคาแพง โดยต้องทำให้ดินบริเวณรากหลุดออกให้หมดก่อนนำไปจุ่มในสารละลายเชื้อที่เข้มข้น 10^8 โคโลนี/มิลลิลิตร แล้วจึงนำไปปลูกในแปลงต่อไป วิธีนี้ทำให้เชื้อปฏิปักษ์ควบคุมโรคได้ดีเพราะรากจะสัมผัสกับเชื้อได้หมดทุกส่วนไม่ก่อให้เกิดช่องว่างให้เชื้อโรคเข้าทำลาย

2 บริเวณผิวพืชอยู่เหนือดิน มีวิธีใช้ 2 วิธีคือ

2.1 การทา

เป็นวิธีที่นิยมใช้กับพืชยืนต้นที่ถูกทำลายมีแผลปรากฏให้เห็นชัดเจนบนส่วนของต้นหรือกิ่ง บริเวณที่สามารถนำเอาเชื้อปฏิปักษ์ที่เตรียมให้มีความเข้มข้นและเหนียวไปทาเพื่อให้ยึดติดกับผิวพืชได้คงทน

2.2 การพ่น

เป็นวิธีที่นิยมใช้กับพืชที่ปลูกเป็นปริมาณมากหรือมีลำต้นสูง ใช้หลัก การปฏิบัติเช่นเดียว กับการพ่นสารเคมีกำจัดโรคพืช (http://www.gpo.or.th/rdi/html/microbe.html)

2.2 เชื้อปฏิปักษ์ที่นิยมนำมาใช้ในปัจจุบัน

ซึ่งสายพันธุ์ที่ใช้กันมีทั้งแบคทีเรียและเชื้อรา และผลิตขายในระดับอุตสาหกรรม ได้แก่

2.2.1 *Bacillus thuringiensis* (BT)

เป็นแบคทีเรียชนิดแกรมบวก สร้างสปอร์ และผลึกโปรตีนหลายรูปแบบ เนื่องจากผลึกโปรตีนที่สร้างขึ้นนี้มีฤทธิ์ในการทำลายแมลงศัตรูชนิดต่างๆ เมื่อตัวอ่อนของแมลงกินผลึกของโปรตีนเข้าไป สภาพความเป็นด่างในกระเพาะอาหารส่วนกลางจะย่อยสลายผลึกโปรตีนได้โปรทอกซิน (protoxin) และโปรติเอสจะช่วยกระตุ้นให้โปรทอกซินเข้าทำลายเซลล์ผนังกระเพาะอาหารของแมลงให้บวมและแตกออก เชื้อ BT ในกระเพาะอาหารจะไหลเข้าสู่ช่องว่างภายในลำตัวของแมลง ส่งผลกระทบต่อระบบไหลเวียนโลหิต ทำให้แมลงมีอาการโลหิตเป็นพิษ ชักกระตุก เป็นอัมพาตและตายในที่สุด ปัจจุบันเชื้อ Bacillus ได้เข้ามามีบทบาทในการควบคุมแมลงศัตรูสำคัญทั้งทางด้านการเกษตรและการแพทย์ เช่น การนำมาพัฒนาเป็นสารกำจัดหนอนแมลงศัตรูพืชเศรษฐกิจ เช่น หนอนใยผัก หนอนเจาะสมอฝ้าย และควบคุมปริมาณของลูกน้ำยุงชนิดต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.2 *Trichoderma* spp.

เป็นเชื้อราชั้นสูงที่เจริญได้ดีในดิน เศษซากพืช ซากสิ่งมีชีวิตรวมทั้งจุลินทรีย์และอินทรีย์วัตถุตามธรรมชาติ เชื้อบางสายพันธุ์สามารถเป็นปรสิต โดยการพันรัดเส้นใยเชื้อโรคแล้วสร้างเอนไซม์ เช่น ไคติเนส เซลลูเลส และเบตา 1, 3 กลูคาเนส ซึ่งมีคุณสมบัติในการย่อยสลายผนังเส้นใยของเชื้อโรคพืช จากนั้นจึงแทงเส้นใยเข้าไปเจริญอยู่ภายในเส้นใยเชื้อโรคพืช ดังรูปที่ 1 ทำให้เชื้อโรคสูญเสียความมีชีวิตซึ่งมีผลทำให้ปริมาณของเชื้อโรคพืชลดลง นอกจากนี้เชื้อรา *Trichoderma* spp. ส่วนใหญ่จะเจริญโดยสร้างเส้นใยและสปอร์ได้ค่อนข้างรวดเร็วจึงมีความสามารถในการแข่งขันกับเชื้อโรคพืชด้านการใช้อาหารและแร่ธาตุต่างๆ จากแหล่งอาหารในธรรมชาติดลอดจนการใช้สารที่จำเป็นต่อการเจริญของเส้นใยได้เป็นอย่างดี ขณะที่บางสายพันธุ์สามารถสร้างสารปฏิชีวนะออกมาเพื่อยับยั้งหรือทำลายเส้นใยของเชื้อโรคจนเกิดการไลซิสได้ด้วย คุณสมบัตินี้จึงได้มีการนำเชื้อรา Trichoderma มาใช้เพื่อควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืชหลายชนิด เช่น *Sclerotium* spp., *Pythium* spp. และ *Fusarium* spp. ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคเมล็ดเน่า (Seed rot) รากเน่า (Root rot) เป็นต้น

Figure 3 - SEM micrographs showing coiling of *Trichoderm harzianum* (Th-9) over *R. solani*.

รูปที่ 1 ลักษณะการแทงเส้นใยของเชื้อรา *Trichoderma harzianum* เพื่อเข้าไปเจริญอยู่ภายในเส้นใยของเชื้อราก่อโรคพืช

2.2.3 *Chaetomium* spp.

เป็นเชื้อราพวก saprophytes ที่จัดอยู่ในกลุ่ม Ascomycetes สามารถเจริญได้ดีในเศษซากพืชและสัตว์ที่เน่าเปื่อยผุพัง และอินทรีย์วัตถุต่างๆ มีการขยายพันธุ์โดยใช้เพศและทนต่อสภาพแวดล้อมต่างๆ ได้ดี โดยพบว่ามี *C. globosum* และ *C. cupreum* สายพันธุ์ที่เฉพาะเจาะจง สามารถควบคุมเชื้อราสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคพืช ได้แก่ *Fusarium* spp., *Rhizoctonia* spp., *Pythium* spp. โดยได้มีการทดลองการควบคุมโรคทั้งในพืชผักและผลไม้ พบว่าสามารถควบคุมโรคได้เท่าเทียมกับการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา และช่วยให้การเจริญเติบโตของพืชและผลผลิตดีกว่าเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม และยังมี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คุณสมบัติป้องกันโรคในลักษณะ broad spectrum mycofungicide ได้ด้วย เชื้อปฏิปักษ์ที่ทำการคัดเลือกทดสอบว่ามีความสามารถควบคุมโรคได้ดีในห้องปฏิบัติการและในสภาพไร่แล้ว จำเป็นต้องมีการศึกษาพัฒนาเป็นชีวผลิตภัณฑ์ เพื่อนำไปใช้ได้อย่างมีประสิทธิภาพซึ่งจะต้องคำนึงถึงปัจจัยต่างๆ ดังนี้

1 มีมาตรฐานที่เชื่อถือได้ เชื้อปฏิปักษ์ที่พัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ต้องมีปริมาณของเชื้อที่ใช้ใกล้เคียงได้มาตรฐานทุกครั้งที่ผลิต ไม่มีเชื้ออื่นปะปน และมีคุณภาพในการควบคุมโรคคงที่สม่ำเสมอ

2 มีอายุการเก็บรักษานาน ชีวผลิตภัณฑ์ที่ดีต้องสามารถเก็บรักษาในบรรยากาศที่ร้อนของประเทศไทย ทั้งในขณะที่จำหน่ายอยู่ในร้านค้า หรือที่เกษตรกรเก็บไว้ใช้

3 มีความปลอดภัยต่อสภาพแวดล้อม ชีวผลิตภัณฑ์ที่ผลิตขึ้นต้องไม่เป็นโทษต่อสิ่งมีชีวิตต่างๆ และไม่มีผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม

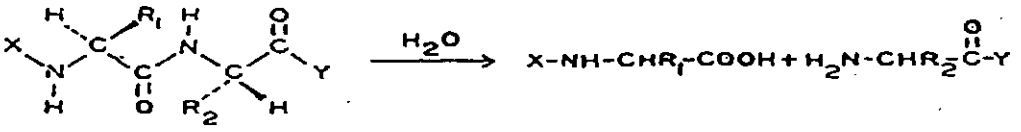
4 มีการใช้ร่วมกัน เช่น การนำชีวผลิตภัณฑ์ไปใช้ร่วมกับวิธีการอื่นๆ ได้และทำให้มีประสิทธิภาพการควบคุมโรคได้ดีขึ้น ซึ่งเป็นการลดต้นทุนและเพิ่มความสะดวกในการนำไปใช้

ปัจจุบันได้มีการพัฒนาจุลินทรีย์เหล่านี้ให้อยู่ในรูปของผงและเม็ดที่สะดวกต่อการนำไปใช้และการเก็บรักษา ตลอดจนได้มีการศึกษาและพัฒนาถึงความคงตัวของจุลินทรีย์เพื่อให้เก็บไว้ได้นานที่สุด แต่ยังคงมีประสิทธิภาพควบคุมโรคได้สูง แต่การนำผลิตภัณฑ์ชีวภาพเหล่านี้มาใช้ต้องคำนึงถึงความปลอดภัยด้วย เพราะจุลินทรีย์เหล่านี้ยังมีชีวิตอาจมีผลกระทบต่อผู้ใช้ ผู้บริโภคและสิ่งแวดล้อมทั้งในระยะสั้นและระยะยาว ดังนั้นจึงควรมีการกำหนดมาตรการที่เหมาะสม เพื่อควบคุมความปลอดภัยต่อสิ่งมีชีวิต และสิ่งแวดล้อม ตลอดถึงควบคุมการผลิตและการใช้เทคโนโลยีอย่างถูกต้องต่อไป (http://www.gpo.or.th/rdi/html/microbe.html)

2.3 เอนไซม์โปรติเอส

2.3.1 ลักษณะที่สำคัญของเอนไซม์โปรติเอส

เอนไซม์โปรติเอสมีชื่อสามัญหลายชื่อ ได้แก่ เปปติเดส โปรติเอส โปรติเนส เปปไทด์ไฮโดรเลส และเอนไซม์โปรติโอไลติก มีลักษณะดังนี้คือ สลายพันธะเปปไทด์ (-CO-NH) ด้วยน้ำ ดังรูปที่ 2



รูปที่ 2 ปฏิกิริยาการสลายพันธะเปปไทด์

ที่มา : Singn และคณะ (1994)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเกิดปฏิกิริยาสามารถอธิบายได้ดังนี้

1 ความจำเพาะต่อสับสเทรด

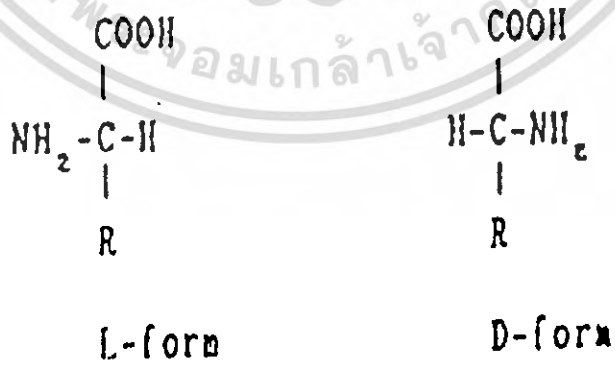
1.1 ลักษณะธรรมชาติของ R_1 และ R_2 จากรูปที่ 2 R_1 และ R_2 เป็นอนุมูลของกรดอะมิโนสองชนิดที่มาทำให้เกิดพันธะเปปไทด์ 12 พันธะ หรืออีกนัยหนึ่ง R_1 และ R_2 ก็คือสายโซ่ (side chain) ของโปรตีน ดังนั้นถ้าโปรติเอสตัวใดมีความจำเพาะต่อ R_1 แสดงว่าเอนไซม์นั้นเข้าตัดพันธะเปปไทด์โดยเข้าทางปลายอะมิโน (N-terminal) โดยที่ R_1 นั้นเป็นอะไรก็ได้ดังแสดงในตารางที่ 1 ในกรณีที่โปรติเอส มีความจำเพาะต่อ R_2 แสดงว่าเอนไซม์นั้นเข้าตัดพันธะเปปไทด์ในโปรตีนโดยเข้าทางปลายคาร์บอกซิล (C-terminal)

1.2 ลักษณะรูปพรรณสัณฐานภายนอก (configulation) ของอนุมูลอะมิโน (R_1 และ R_2) เป็นดีฟอร์ม เอนไซม์โปรติเอสจะมีความจำเพาะต่อชนิดของ R_1 และ R_2 และรูปพรรณสัณฐานภายนอกด้วยคือ โครงรูปต้องเป็นกรดอะมิโนชนิดแอล (L-amino acid) เท่านั้น ดังแสดงในรูปที่ 3 ทั้งนี้โดยปกติแล้วโปรตีนจะประกอบ ด้วยกรดอะมิโนชนิดแอลเท่านั้น

ตารางที่ 1 ตัวอย่างที่มีความจำเพาะต่อ R_1 และ R_2

เอนไซม์	ความจำเพาะ
แอลฟา-ไคโมทริปซิน	ทริปโตเฟน ฟีนิลอะลานีน และทริโตเฟน (R_1)
ทริปซิน	ไลซีน และอาร์จีนีน (R_1)
เปปซิน	ฟีนิลอะลานีน (R_2)

ที่มา : Farley (1992)



รูปที่ 3 ลักษณะโครงสร้างของกรดอะมิโนชนิดแอลและกรดอะมิโนชนิดดี

ที่มา : Farley (1992)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.3 ขนาดของสารประกอบที่เป็นสับสเทรต เอนไซม์โปรติเอสโดยทั่วไปไม่มีความจำเพาะต่อขนาดของสับสเทรต ยกเว้นแอซิดโปรดิเอสที่มีความจำเพาะต่อขนาดของสับสเทรต ตามตารางที่ 1 แสดงสับสเทรตของแอลฟาไคโมทริปซิน (α- chymotrypsin) และทริปซิน ซึ่งจะเห็นว่าสับสเทรตทั้งสองชนิดมีขนาดไม่เท่ากัน แต่มีอนุมูลของกรดอะมิโน (R_1) ที่สอดคล้องกับความจำเพาะเจาะจงของเอนไซม์ และอนุมูลของกรดอะมิโนนั้นเป็นแอลฟอร์ม

1.4 ลักษณะธรรมชาติของหมู่ X และ Y (H^+และ OH^-) เอนไซม์โปรติเอสทั่วไปมีหมู่ X เป็น H^+ และหมู่ Y เป็น OH^- แต่เมื่อโปรตีนนั้นๆ มีหมู่ X และหมู่ Y เปลี่ยนไป มีผลทำให้ความจำเพาะของเอนไซม์เปลี่ยนไป กล่าวคือ เอนไซม์ที่มีความจำเพาะต่อหมู่ X และ Y จะบ่งชี้ลักษณะการตัดสายพอลิเปปไทด์

1.4.1 เอนโดเปปติเดส (endopeptidase) เป็นโปรติเอสที่ย่อยสลายพันธะเปปไทด์อย่างอิสระ (rancleanly) ภายในสายโปรตีน ทั้งนี้ต้องให้จำเพาะโดยตรงต่อ R_1 และ R_2 ด้วยจึงตัดด้วยพันธะเปปไทด์ได้ ถ้า R_1 และ R_2 ไม่สอดคล้องกับความจำเพาะของเอนไซม์นั้น การตัดพันธะเปปไทด์จะไม่เกิดขึ้น และให้ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ (activity) สูงสุด ถ้า X และ Y เป็นหมู่อนุพันธ์ที่ไม่ใช่ H^+และ OH^- กล่าวคือ X อาจเป็นกลุ่มเอซิล (acyl group) เช่น อะเซติล (acetyl) เบนโซล (benzole) เบนซิลออกซีคาร์บอนิล (benzyloxycarbonyl) เป็นต้น และ Y เป็นเอไมด์ (amide) กลุ่มเอสเทอร์ (ester group) หรืออะมิโนแอซิดเรซิดิว (amino acid residues)

1.4.2 เอกโซเปปติเดส (exopeptidase) เป็นโปรติเอสที่ย่อยสลายพันธะเปปไทด์จากปลายสายของโปรตีน จะเป็นสายด้านไหนก็ต้องสอดคล้องต่อความจำเพาะของเอนไซม์ต่อ R_1 หรือ R_2 ดังอธิบายไว้ในข้อ 1.1 กล่าวคือ

ถ้าจำเพาะต่อ R_1, $X = H^+$, $Y =$ อะไรก็ได้ เรียก N- terminal splitting

ถ้าจำเพาะต่อ R_1, $X =$ อะไรก็ได้, $Y = OH^-$ เรียก C- terminal splitting

ดังนั้นจึงแบ่งเอนไซม์ตามทิศทางของการตัดเส้นสายของโปรตีนได้ 4 ประเภท คือ

1.4.2.1 คาร์บอกซีเปปติเดส (carboxy peptidase) เอนไซม์กลุ่มนี้มีชื่อเรียกตามระบบว่า เปปไทด์อะมิโนแอซิดไฮโดรเลส (peptide amino acid hydrolase) ลักษณะที่สำคัญมีดังนี้คือ มีความจำเพาะเจาะจงต่อสับสเทรตที่มี R_2 และ $Y = OH^-$ และ X = อะไรก็ได้ คือ H^+ หรืออนุพันธ์ และจะตัดพันธะเปปไทด์โดยเข้าจากปลายคาร์บอกซิล ($Y = OH^-$) เพื่อให้กิจกรรมสูงสุด พบว่า X ต้องเป็นอนุพันธ์ที่ไม่ใช่ H^+

1.4.2.2 อะมิโนเปปติเดส (aminopeptidase) เอนไซม์ในกลุ่มนี้มีชื่อเรียกตามระบบว่า แอลฟา-อะมิโนเอซิลเปปไทด์ไฮโดรเลส (α-amino acylpeptide hydrolase ; E.C. 3.4.1.X) ลักษณะที่สำคัญมีดังนี้ คือมีความเจาะจงต่อสับสเทรตที่มี R_1 และ $X = H^+$, และ Y = อะไรก็ได้ คือ OH^- หรืออนุพันธ์ และจะตัดพันธะเปปไทด์โดยเข้าสู่จากปลายอะมิโน ($X = H^+$) ไปเรื่อยๆ ตาม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความเจาะจง R_1 เพื่อให้กิจกรรมของเอนไซม์สูงสุด พบว่า Y ไม่ควรเป็น OH^- แต่ควรเป็นอนุพันธ์อื่นๆ ได้แก่ ลิวซีนอะมิโนเปปติเดส (leucine aminopeptidase)

1.4.2.3 ไดเปปติเดส (dipeptidase) เอนไซม์ในกลุ่มนี้มีชื่อเรียกตามระบบว่า ไดเปปไทด์ไฮโดรเลส (dipeptidehydrolase ; E.C. 3.4.3.X) มีความเจาะจงต่อสับสเทรตที่มีหมู่ X และ Y เป็น H^+ และ OH^- เหมือนไดเปปไทด์ทั่วไป และมีความเจาะจงแบบ N-terminal มากกว่า C-terminal สามารถตัดพันธะเปปไทด์ได้ทั้งในสับสเทรดที่เป็นไดเปปไทด์ (dipeptide) (A-A) และไตรเปปไทด์ (tripeptide) (A-A-A)

1.4.2.4 ไตรเปปติเดส (tripeptidase) มีความจำเพาะเจาะจงเหมือนไดเปปติเดส แต่การย่อยสลายพันธะเปปไทด์จะเกิดในสับสเทรดที่เป็นไตรเปปไทด์เท่านั้น

1.5 ความต้องการพันธะเปปไทด์ เอนไซม์โปรติเอสส่วนใหญ่จะย่อยสลายพันธะอื่นๆ ที่มาแทนพันธะเปปไทด์ได้ดีกว่าพันธะเปปไทด์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งพันธะเปปไทด์ที่ถูกแทนที่ด้วยหมู่ต่างๆ เช่น หมู่เอไมด์ ($-NH_2$) เอสเทอร์ (-COOR) ไทโอเอสเทอร์ (-COSR) หรือไฮดรอกซีซาเมท (-CONHOH) แสดงว่าเอนไซม์เหล่านี้มีความจำเพาะต่ออนุมูล R_1 มากกว่า R_2 นั้น พบว่าถ้าพันธะเปปไทด์ถูกแทนที่ด้วยพันธะอื่นๆ ดังกล่าวมาแล้ว สับสเทรตนั้นก็จะไม่เป็นสับสเทรตของเปปซินและแอซิดโปรติเอส มีรายงานว่าไคโมทริปซินสามารถเร่งปฏิกิริยาการย่อยสลายพันธะเปปไทด์ได้เป็น 200-1,000 เท่า ถ้าพันธะเอไมด์ในแอลฟาเอนอะซิติล-แอล-ไทโรซินาไมด์ (α-N-acetyl-L-tyrosinamide) เปลี่ยนเป็นพันธะจากหมู่เอสเทอร์ (-COOR)

2.3.2 ประเภทของเอนไซม์โปรติเอส

ถ้าแบ่งเอนไซม์โปรติเอสตามค่าพีเอชสามารถแบ่งได้เป็น 3 กลุ่มคือ อัลคาไลน์โปรติเอส (alkaline protease) แอซิดโปรติเอส (acid protease) และนิวทรอลโปรติเอส (neutral protease) ซึ่งสามารถแสดงถึงสมบัติและแหล่งของเอนไซม์โปรติเอสทั้ง 3 กลุ่ม ได้ดังตารางที่ 2

ถ้าแบ่งตามกลไกการทำงาน สามารถแบ่งเอนไซม์โปรติเอสได้ 4 กลุ่ม คือ

2.3.2.1 เซอรีนโปรติเอส (Serine protease)

เซอรีนโปรติเอสเป็นเอนไซม์โปรติเอสชอบด่าง (alkaline protease) ได้แก่ ไคโมทริปซิน (α, δ และ π-ehymotrypsin ; E.C. 3.4.4.5) ไคโมทริปซินบี (chymotrypsin B ; E.C. 3.4.4.6) และไคโมทริปซินซี (chymotrypsin C) ทริปซิน (trypsin ; E.C. 3.4.4.4), อีสาลเตส (elastase) (pancreatopeptidase ; E.C. 3.4.4.7) ทรอมบิน (trombin ; E.C. 3.4.4.1.3) ซับติลิซิน (subtilisin) (subtilo peptidase ; E.C. 3.4.4.16) และแอลฟา-ไลติคโปรติเอส (α -lytic protease) จาก *Sorangium* sp.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2 สมบัติและแหล่งของเอนไซม์โปรติเอส

ชนิด	แหล่ง	คุณสมบัติ	ช่วงพีเอช		น้ำหนักโมเลกุล	ตัวยับยั้ง
			Min Activity	Max Activity		
เอซิดโปรติเอส (คาร์บอกซีเปปติเดส)	ฟังก์ไจ	คล้ายเปปซิน คล้ายรนนิน (การจับตัวเป็นก้อนของนม)	2-5	2-6	35000	DAN[a]
นิวทรอลโปรติเอส (เมทอลโลเปปติเดส)	แบคทีเรีย ฟังก์ไจ	สังกะสี ประกอบด้วยแคลเซียมไอออน ในโมเลกุลทำให้เกิดความเสถียร	7-8	7-9	45000	EDTA[b]
อัลคาไลน์โปรติเอส	แบคทีเรีย ฟังก์ไจ	Trypsin-like in Serine rescue At the active center	9-11(12)	5-10(12)	27500 (17000)	PMSF[c] DFP[d]

ที่มา : Escobar และ Barnett (1995)

(a) diazoacetylnorleucinemethyleste (b) ethylenediaminetetraacetic acid

(c) phenylmethanesulfonylfluoride (d) diisopropylphosphofluoridate

ลักษณะที่สำคัญของเอนไซม์กลุ่มนี้

1 เอนไซม์กลุ่มนี้มีสมบัติเหมือนกัน คือจะทำปฏิกิริยากับหมู่ไฮดรอกซิล (OH^-) ของอนุมูลเซริล (seryl residue) ในบริเวณเร่งของเอนไซม์

2 มีหมู่อิมิดาโซล (imidazole) อยู่ที่บริเวณเร่ง

3 เป็นเอนไซม์พวกเอนโดเปปติเดส

4 เป็นเอนไซม์ที่ชอบด่าง มีพีเอชที่เหมาะสมคือพีเอช ระหว่าง 7-11

5 โดยทั่วไปมีความจำเพาะต่อซับสเทรตที่ปลายด้านหมู่อะมิโน

เอนไซม์ไคโมทริปซิน ทริปซิน และอีลาสเตส มีแหล่งกำเนิดจากแหล่งเดียวกันคือ ตับอ่อน ส่วนซับทิลิซินและแอลฟา-ไลติกโปรติเอส พบในจุลินทรีย์ที่มีคุณสมบัติคล้ายแอลฟา-ไคโมทริปซิน

2.3.2.2 ซัลไฟดริลโปรติเอส (Sulfydryl protease)

เป็นเอนไซม์ที่ย่อยสลายพันธะเปปไทด์ในโปรตีนและถูกยับยั้งโดยสารกลุ่มซัลไฟดริล (sulfydryl reagents) เอนไซม์นี้พบในพืชชั้นสูง และจุลินทรีย์บางชนิด เช่น ปาเปน (papain ; E.C. 3.4.4.10) จากมะละกอ ฟีซิน (ficin ; E.C. 3.4.4.12) จากมะเดื่อ โบรมิเลน (bromelain ; E.C.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.4.24) จากสับปะรด และ Streptococcus โปรดิเอส (Streptococcus peptidase A ; E.C. 3.4.4.18) ซึ่งเอนไซม์ทั้ง 4 ชนิด แตกต่างกันตรงลำดับของกรดอะมิโน

ลักษณะที่สำคัญของเอนไซม์กลุ่มนี้

1 เป็นโปรติเอสที่ทำงานได้ดีในพีเอชเป็นกลาง (นิวทรอลโปรติเอส) มีพีเอชที่เหมาะสมคือ พีเอช ระหว่าง 6-7.5

2 ถูกยับยั้งด้วยสารกลุ่มซัลไฟดริล (มี -SH ในบริเวณเร่ง)

3 เป็นเอนโดเปปติเดส

2.3.2.3 เมทอล-คอนเทนนิงโปรติเอส (Metal-containing protease)

เป็นโปรติเอสที่มีอิออนของโลหะรวมอยู่ในโมเลกุลของเอนไซม์ หรือร่วมในการย่อยสลาย (อยู่ในลักษณะโคแฟคเตอร์) ตัวอย่างเอนไซม์กลุ่มนี้ คือ คาร์บอกซีเปปติเดส เอ (carboxy peptidase A, peptidyl-L-amino acid hydrolase ; E.C. 3.4.2.1) และคาร์บอกซีเปปติเดส บี (carboxy peptidase B, peptidyl-L-lysine hydrolase ; E.C. 3.4.2.2) ไกลซิล-ไกลซีนได-เปปติเดส (glycyl-glycine dipeptidase, glycyl-glycine hydrolase ; E.C. 3.4.3.1) คาโนซิเนส (carnosinase, amino-acyl-L-histidine hydrolase ; E.C. 3.4.3.3) ลิวซีนอะมิโนเปปติเดส (leucine aminopeptidase, L-Leucyl-peptide hydrolase ; E.C. 3.4.1.1) และโพรลิเดส (prolidase, amino-acyl-L-proline hydrolase ; E.C. 3.4.3.7)

ลักษณะที่สำคัญของเอนไซม์กลุ่มนี้

1. เป็นเอกโซเปปติเดสเกือบทั้งหมด
2. เป็นโปรติเอสที่ทำงานได้ดีในสภาวะที่เป็นกลาง มีพีเอชที่เหมาะสมในช่วงพีเอช ระหว่าง 6.5-7.5
3. ถ้ามีไอออนของโลหะร่วมในปฏิกิริยา จะถูกยับยั้งโดยสารที่สามารถจับกับไอออนของโลหะได้ (metal-chelating agents) เช่น 1, 10 phenanthroline, EDTA

2.3.2.4 แอซิดโปรติเอส (Acid protease)

เป็นโปรติเอสที่มีพีเอชของการทำการย่อยสลายอยู่ในช่วงพีเอชเป็นกรด (พีเอชน้อยกว่า 7) โดยทั่วไปเอนไซม์กลุ่มนี้มีช่วงพีเอชเหมาะสมระหว่าง 2-4 และอนุมูลกรดอะมิโนบริเวณเร่งไม่ค่อยจะมีบทบาท

2.3.3 ประโยชน์ของเอนไซม์โปรติเอส

เอนไซม์โปรติเอสเป็นเอนไซม์ที่มีประโยชน์ มีการใช้อย่างกว้างขวางในระดับอุตสาหกรรม ได้แก่

1 การผลิตสารซักฟอก (detergent)

2 การฟอกหนัง

3 การทำเครื่องดื่ม

4 การสังเคราะห์แอสปาแตม (aspartame)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5 การผลิตขนมปัง

6 การทำความสะอาดแผล

7 ประโยชน์อื่นๆ เอนไซม์โปรดิเอสสามารถใช้ในอุตสาหกรรมอื่นๆ ได้อีกมากมาย เช่น การผลิตโปรตีนไฮโดรเลส (protein hydrolase) จากถั่วเหลือง เนื้อและปลาใช้เป็นอาหารสำหรับผู้ป่วย การผลิตยาช่วยย่อยอาหาร การเตรียมเงินจากอิมัลชันของการล้างฟิล์ม

2.3.4 การวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์โปรติเอส

แบ่งวิธีวิเคราะห์ตามชนิดของสับสเทรต ดังนี้

2.3.4.1 โปรตีนเป็นสับสเทรต มีวิธีการต่างกัน 2 วิธี คือ

1 ประเมินจากผลผลิตของการทำปฏิกิริยา เช่น ปริมาณเปปไทด์ที่ละลายได้ในตัวทำละลายต่างๆ เช่น ไดรคลอโรอะซิติกแอซิด (trichloroacetic acid, TCA) เปอร์คลอริกแอซิด (perchloric acid) เป็นต้น ส่วนโปรตีนที่ใช้ได้แก่ เคซีน (casein) ฮีโมโกลบิน (haemoglobin) ที่ผ่านการบำบัดด้วยกรดหรือยูเรีย วัดปริมาณ TCA-soluble peptide คือ ส่วนของสารประกอบอะโรมาติกที่ค่าการดูดกลืนแสงที่ 280 นาโนเมตร (OD_{280}) แล้วประเมินค่าด้วยไทโรซีน (tyrosine) ในสารละลายปฏิกิริยา ปริมาณของไทโรซีนจะแปรผันตรงตามกิจกรรมของเอนไซม์ ค่าที่วิเคราะห์นี้ไม่สามารถบอกจำนวนพันธะเปปไทด์ที่ถูกไฮโดรไลซ์ได้

2 การประเมินจำนวนพันธะเปปไทด์ที่ถูกไฮโดรไลซ์ ปริมาณของกรดอะมิโนอิสระ (free amino acid) ที่เป็นผลผลิตจะแปรผันโดยตรงกับจำนวนพันธะเปปไทด์ที่ถูกไฮโดรไลซ์ โดยให้กรดอะมิโนทำปฏิกิริยากับนินไฮดรินรีเอเจนท์ (ninhydrin reagent) ให้สีที่ค่าการดูดกลืนแสงที่ 570 นาโนเมตร (OD_{570}) เทียบค่าการดูดกลืนแสงกับกราฟมาตรฐานของลิวซีน ปฏิกิริยาระหว่างกรดอะมิโนกับนินไฮเดรต ดังรูปที่ 4

รูปที่ 4 ปฏิกิริยาระหว่างกรดอะมิโนอิสระกับนินไฮเดรต

ที่มา : Wang และ Hesseltine (1965)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.4.2 สับสเทรตสังเคราะห์ ได้แก่ สับสเทรตที่มีพันธะเอสเทอร์ (ester) เอไมด์ (amide) และเปปไทด์(peptide) ในตำแหน่งพันธะเปปไทด์เดิม ใช้เพื่อพิจารณาความจำเพาะและกลไกการทำปฏิกิริยาของเอนไซม์

2.4 เอนไซม์ย่อยไคติน

2.4.1 ลักษณะทั่วไปของเอนไซม์ย่อยไคติน

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

1 เอนโดไคติเนส จะย่อยไคตินแบบสุ่มได้ ไดอะเซทิลไดไคโตไบโอส (diacetyl chitobiose) และไตรอะเซทิลไตรโอไบโอส (triacetyltriobiose) เป็นส่วนใหญ่

2 ไคโตไบเอส จะย่อยไดเมอร์ หรือไดอะเซทิลไคโตไบโอส หรือย่อยไคตินทีละหนึ่งหน่วยจากปลายด้าน non-reducing เป็น เอน-อะเซทิลกลูโคซามีน

3 เอ็กโซไคติเนส จะย่อยไดอะเซทิลไคโตไบโอส หรือไคตินจากปลายด้าน non-reducing ทีละหนึ่งหน่วย

Reid และ Ogrydziak (1981) รายงานว่าไคติเนสที่ได้จาก *Serratia marcescens* มีระบบการทำงานในการย่อยไคตินเป็น NAG 2 ขั้นตอน คือ เอนโดไคติเนส (poly-ß-(1,4)-(2-acetylamido -2-deoxy)-D-glucoside glycanhydrolase, E.C. 3.1.1.14) ย่อยไคตินได้สารที่มีโมเลกุลต่ำ และ N,N-diacetylchitobiose เป็นส่วนใหญ่ chitobiase acetylamido deoxyglucohydrolase (EC 3.2.1.29) ย่อยสารที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ และ ไคโตไบโอส เป็น NAG

2.4.2 แหล่งของเอนไซม์ที่ย่อยไคติน

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

ไคตินถูกย่อยสลายด้วยเอนไซม์ไคติเนสได้ผลผลิตสุดท้ายเป็น N-acetylglucosamine (NAG) เอนไซม์ไคติเนสพบในสิ่งมีชีวิตหลายชนิด ในพืชพบในเมล็ดถั่ว เมล็ดข้าวโพด สำหรับในสัตว์พบในพวก Protozoans, Coelenterates, Nematodes, Mollusca, Arthopod และจุลินทรีย์ แหล่งเอนไซม์ที่น่าสนใจนำมาจากจุลินทรีย์โดยเฉพาะพวกแบคทีเรียและรา (เกรียงไกร และคณะ, 2540) แบคทีเรียที่ผลิตเอนไซม์ไคติเนส ได้แก่ *Serratia* sp., *Bacillus* sp., *Micrococcus* sp., *streptomyces* sp.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(Skujins และคณะ, 1970) เชื้อราที่พบว่าผลิตเอนไซม์ไคติเนส ได้แก่ *Aspergillus* sp., *Saccharomyces* sp., *Beauveria bassiana*, *Mycrothecium verucaria* เป็นต้น (Suresh และ Chandrasekaran, 1999)

2.4.3 ข้อเปรียบเทียบของการผลิตเอนไซม์ไคติเนสจากพืชและจุลินทรีย์ (เกรียงไกร และคณะ, 2540)

1 การผลิตเอนไซม์ไคติเนสจากพืชต้องใช้พื้นที่ในการเพาะปลูกพืชชนิดนั้นๆ มาก ทำให้ไม่สะดวกต่อการควบคุมสภาวะแวดล้อม รวมทั้งต้องเสียค่าใช้จ่ายสูง ต่างจากการผลิตเอนไซม์ไคติเนสโดยจุลินทรีย์ ซึ่งสามารถควบคุมสภาวะแวดล้อมต่างๆ ได้ง่าย ใช้พื้นที่น้อย และเสียค่าใช้จ่ายน้อย

2 การผลิตเอนไซม์ไคติเนสจากพืชได้ผลผลิตที่ไม่แน่นอน ขึ้นอยู่กับฤดูกาลแต่การผลิตโดยใช้เชื้อจุลินทรีย์จะให้ผลคงที่

3 การผลิตเอนไซม์ไคติเนสจากพืชให้ผลผลิตต่อหน่วยพื้นที่น้อยกว่าการผลิตโดยใช้จุลินทรีย์

2.4.4 ประโยชน์ของเอนไซม์ไคติเนส

เอนไซม์ไคติเนสที่ได้จากจุลินทรีย์สามารถนำมาใช้ประโยชน์ในงานด่างๆ ได้มากมาย ดังนี้

Carroad และ Tom (1978) ได้เสนอขั้นตอนการนำของเสียจากอุตสาหกรรมอาหารทะเล คือ เปลือกกุ้ง และปู มาเปลี่ยนเป็นสารที่มีประโยชน์หรือมีราคาแพง ซึ่งเป็นวิธีการนำของเสียกลับมาใช้ประโยชน์ได้อีก การนำของเสียมาใช้ประโยชน์แบ่งออกเป็น 3 ขั้นตอน คือ

ขั้นที่ 1 นำของเสียจากโรงงานมาผ่านกระบวนการเตรียมโดยการทำให้แห้ง และบดให้มีขนาดเล็กลง จากนั้นนำมาสกัดเอาไคตินออกโดยใช้กระบวนการทางเคมี ทำการสกัดโปรตีนออกด้วยการต้มกับด่าง และกำจัดแคลเซียมคาร์บอเนตออกโดยต้มกับกรดเกลือไฮโดรคลอริก

ขั้นที่ 2 นำไคตินที่ได้ไปเป็นอาหารของจุลินทรีย์ที่ผลิตเอนไซม์ไคติเนสได้ปริมาณมาก จากนั้นกรองแยกเอนไซม์ออก

ขั้นที่ 3 นำเอนไซม์ที่ได้ย่อยไคตินที่เหลือจะได้ผลผลิตสุดท้ายเป็น NAG หรือไดโตไบโอส (dimer) กรองเอาส่วนที่เป็นน้ำออกจากกากที่เหลือ นำไปเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์เพื่อเปลี่ยนสารต่างๆ เหล่านั้นให้เป็นของที่มีคุณค่า เช่น โปรตีนเซลล์เดียว เป็นต้น

จากการศึกษาของนักวิจัยหลายคณะพบว่าเอนไซม์ไคติเนส สามารถนำไปใช้ในการย่อยไคตินและได้ผลผลิตสุดท้าย คือ เอ็น- อะเซทิลกลูโคซามีน ซึ่งเป็นสารตั้งต้นสำหรับการผลิตเอทธานอล หรือโปรตีนเซลล์เดียวได้ นอกจากนี้ยังพบว่าเอนไซม์ที่ย่อยไคตินที่ผลิตได้จากจุลินทรีย์ใช้ในการควบคุมเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคพืช และกำจัดแมลงที่เป็นศัตรูพืช (Smith และ Grula, 1983) เช่น *Beauveria bassiana* ใช้กำจัดแมลงศัตรูพืช เช่น White fly Colorado, Patato beatle และ Com earworm *(Heliothis zea)* เป็นต้น รวมทั้งยังสามารถใช้ในการศึกษาสรีรวิทยาของเชื้อราและการศึกษาทางเทคโนโลยีรา (Smith และ Grula, 1983) ใช้ในการปรับปรุงสายพันธุ์โดยใช้เตรียมโปรโตพลาสต์จากเส้นใยและสปอร์ของเชื้อราเพื่อทำโปรโตพลาสต์ฟิวชั่น (protoplast fusion) เนื่องมาจากเอนไซม์ไคติเนสเป็นไมโคเลส (mycolase) ที่มีบทบาทสำคัญในการเจริญและการแบ่งเซลล์ของเชื้อรา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.5 จุลินทรีย์ที่ผลิตเอนไซม์ไคติเนส

จุลินทรีย์เป็นแหล่งผลิตเอนไซม์ไคติเนสที่สำคัญ และพบเอนไซม์นี้ได้ในจุลินทรีย์มากมายหลายชนิด ทั้งในแบคทีเรีย รา และยีสต์ จากรายงานของ Deshpande (1986) พบเอนไซม์ไคติเนสในแบคทีเรียหลายชนิด เช่น *Serratia* sp., *Pseudomonas* sp., *Clostridium* sp., *Aeromonas* sp., *Klebsiella* sp. และพบเอนไซม์ไคติเนสในเชื้อรา เช่น *Trichoderma* sp., *Penicillium* sp., *Mucor* sp. พบในยีสต์ เช่น *Saccharomyces cerevisiae* (Correa และคณะ, 1982) ชนิดและสายพันธุ์ของจุลินทรีย์ที่ผลิตเอนไซม์ไคติเนส แสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ชนิดจุลินทรีย์ที่ผลิตเอนไซม์ไคติเนส

ชนิดของจุลินทรีย์	สกุล
Scizomycetes	
Pseudomodales	*Pseudomonas* , *Vibrio* , *Aeromonas* ,
Eubacteriales	*Photobacterium* , *Klebsiella* , *Serratia* ,
	Micrococcus , *Clostridium* , *Corynebacterium* ,
	Arthrobater , *Bacillus* , *Erwinia*
Actinomycetales	*Actinomyces* , *Steptomyces*
Myxomycetes	*Cytophaga*
Phycomycetes	*Chytriomyces* , *Phycomyces*
Ascomycetes	*Aspergillus*
Basidiomycetes	*Lycoperdon* , *Irpex* , *Trametes* , *Coprinus* ,
	Beauveria
Fungi imperfecti	*Trichoderma*

ที่มา : Ohtakara และคณะ, 1978

ในประเทศแถบซีกโลกตะวันตกการผลิตเอนไซม์ในทางการค้าจะผลิตขึ้นจากเชื้อราและแบคทีเรียที่เลี้ยงในอาหารเหลว (submerged culture) ซึ่งจะมีการควบคุมทางด้านสิ่งแวดล้อม เช่น อุณหภูมิ และพีเอช ปัจจุบันได้มีความพยายามเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์บนอาหารแข็ง (solid state fermentation) (Hessentine, 1987) ในการเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์บนอาหารแข็งนั้น เชื้อจุลินทรีย์ที่เหมาะสมที่สุดคือเชื้อรา เพราะมีลักษณะแตกต่างจากจุลินทรีย์ชนิดอื่นๆ เนื่องจากความสามารถในการเจริญได้อย่างอิสระในสับสเทรตที่เป็นของแข็ง ดังนั้นการเลี้ยงเชื้อราบนอาหารแข็งจึงได้ประโยชน์มากกว่าการเลี้ยงในอาหารเหลว และข้อดีของการใช้เชื้อราคือ อุปกรณ์ที่ใช้ในการผลิตไม่ซับซ้อน และใช้ความชื้นต่ำจึงป้องกันการเจริญของแบคทีเรีย (Hessentine, 1987) นอกจากนั้นยังใช้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารละลายในการสกัดเอนไซม์ออกมาในปริมาณต่ำ ซึ่งเป็นการลดพลังงานและไม่สร้างมลพิษอีกด้วย ประโยชน์ของการเลี้ยงเชื้อแบบอาหารแข็งจึงมีความน่าสนใจที่จะนำมาใช้ในประเทศที่สาม (Carrizales และ Jaffe, 1986) อุปกรณ์ที่ใช้ในกระบวนการเหมาะสมกับการผลิตขนาดเล็ก จึงเหมาะกับผู้ที่มีต้นทุนต่ำและมีแรงงานสูง (Battaglino และคณะ, 1991)

2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวกับการแยกเชื้อจากธรรมชาติ เพื่อผลิตเอนไซม์ไคติเนสและโปรติเอส

เชาวนีพร (2539) ศึกษาเอนไซม์ไคติเนส (EC 3.2.1.14) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่มีบทบาทสำคัญในการย่อยสลายพันธะเบตา-1,4- ไกลโคไซด์ของไคตินให้เป็นหน่วยย่อยโอลิโกเมอร์ของเอน-อะเซทิล-กลูโคซามีน ซึ่งส่วนมากเป็นชนิดไดเมอร์ ในการแยกและคัดเลือกจุลินทรีย์จากตะกอนดินของบ่อเลี้ยงกุ้งระยะที่กุ้งมีการลอกคราบ พบแบคทีเรีย *Aeromonas* sp. CS-34 เป็นสายพันธุ์ที่ผลิตเอนไซม์ไคติเนสในปริมาณสูงและปลดปล่อยเอนไซม์ออกนอกเซลล์เมื่อเลี้ยงในอาหารเหลวที่ไม่สมบูรณ์ (minimal medium) ที่มีไคตินผงเป็นแหล่งคาร์บอน ซึ่งสามารถกระตุ้นการสังเคราะห์เอนไซม์ได้ดีกว่า คอลลอยด์ไคติน โดยไคตินผงในความเข้มข้นร้อยละ 1.0 จะกระตุ้นให้มีการสังเคราะห์เอนไซม์ได้สูงที่สุด สารละลายสกัดหยาบเอนไซม์ที่เตรียมได้จากส่วนใสของการเลี้ยงเชื้อสามารถคงสภาพได้นานไม่น้อยกว่า 20 วันเมื่อจัดเก็บที่อุณหภูมิ 4 หรือ -20 องศาเซลเซียส เอนไซม์ไคติเนสที่ผลิตจากจุลินทรีย์นี้ถูกทำให้บริสุทธิ์โดยใช้เทคนิคโครมาโตกราฟีแบบแลกเปลี่ยนอิออน (DEAE-Sephacel) และเจลฟิวเตรชัน (Sephadex G-100, G-200) เมื่อตรวจสอบเอนไซม์ไคติเนสที่ได้ด้วย SDS-PAGE พบโปรตีนเพียงแถบเดียว ซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุล 37, 154 ดาลตัน เอนไซม์นี้ทำงานได้ดีที่สุดที่พีเอช 7.0 และอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส มีความคงสภาพในช่วงพีเอช 5.0-8.0 และที่อุณหภูมิสูงมี 40 องศาเซลเซียส โดยมีค่า K_m และ V_{max} เป็น 1.66 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และ 0.66 โมล/นาที ตามลำดับ

กัมปนาท และคณะ (2550) ได้ศึกษาเบื้องต้นเพื่อคัดแยกแบคทีเรียที่ผลิตไลเปสจากแหล่งดินและน้ำเสียบริเวณโรงงานผลิตน้ำนม น้ำทิ้งบริเวณโรงอาหารสถาบันราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยา และโรงงานกำจัดขยะในกรุงเทพฯ โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อชนิดแข็งที่มีหางนมเป็นองค์ประกอบ โดยแบคทีเรียที่ผลิตโปรติเอสจะสร้างวงใสรอบโคโลนี พบแบคทีเรียที่สร้างวงใสรอบโคโลนีจำนวน 64 ไอโซเลต และมีไอโซเลตที่สร้างวงใสมีเส้นผ่าศูนย์กลางมากกว่า 10 มิลลิเมตร จำนวน 10 ไอโซเลต และเมื่อนำไปเลี้ยงในอาหารเหลวที่มีเคซีนร้อยละ 1 พบว่า ONWC9P ให้กิจกรรมของโปรติเอสสูงที่สุด คือ 9.45 ยูนิต

นัฐศรันย์ (2550) ได้ทำการแยกและคัดเลือกจุลินทรีย์ที่ผลิตไคติเนสจากตัวอย่างดินบริเวณโรงอาหารคณะเกษตรศาสตร์ ดินบริเวณโรงอาหารชีววิทยา ดินบริเวณหอพักชายอาคาร 1 และดินบริเวณโรงอาหารองค์กรมหาวิทยาลัยเชียงใหม่ (อมช.) โดยใช้อาหารที่มีไคโตซานเป็นสับสเทรตแยกเชื้อจุลินทรีย์ที่สามารถเจริญได้ดี 3 ไอโซเลต เมื่อนำมาทดสอบความสามารถในการผลิตไคติเนส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
72607

โดยเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว Enzyme Production Medium (EPM) ที่อุณหภูมิห้อง เขย่าที่ความเร็วรอบ 200 รอบ/นาที เป็นเวลา 5 วันพบว่าไอโซเลต BST1 ที่แยกได้จากดินบริเวณโรงอาหารองค์กรมหาวิทยาลัยเชียงใหม่ (อมช.) สามารถผลิตไคติเนสได้สูงสุดในวันที่ 4 โดยให้กิจกรรมของเอนไซม์เท่ากับ 10.966 มิลลิยูนิต/มิลลิลิตร และ กิจกรรมจำเพาะเท่ากับ 8.797 มิลลิยูนิต/มิลลิกรัมโปรตีน

มาลัยพร และคณะ (2545) ได้ศึกษาตัวอย่างดินจากแปลงผลิตเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศและพืชตระกูลแตงในจังหวัดขอนแก่นและมหาสารคามจำนวน 70 ตัวอย่าง เมื่อนำมาแยกเชื้อราในดิน โดยวิธี soil dilution plate บนอาหาร Martin's medium สามารถแยกเชื้อราได้ จำนวน 186 ไอโซเลต เมื่อนำมาทดสอบศักยภาพของเชื้อราในดินนั้นในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคเหี่ยวของมะเขือเทศและพืชตระกูลแตงในห้องปฏิบัติการพบว่ามีเชื้อรา 60 ไอโซเลตที่สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* (FOL) สาเหตุโรคเหี่ยวมะเขือเทศเชื้อราจำนวน 28 ไอโซเลต ที่ยับยั้งการเจริญของ *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis* (FOM) สาเหตุโรคเหี่ยวของแตงเทศและจำนวน 20 ไอโซเลต ที่สามารถยับยั้งการเจริญของ *Fusarium oxysporum* f.sp. *cucumerinum* (FOC) สาเหตุโรคเหี่ยวของแตงกวาได้ โดยเชื้อราทั้ง 20 ไอโซเลดนี้เป็นเชื้อรา *Trichoderma* spp. ซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ของทั้งเชื้อ FOL, FOM และ FOC สาเหตุโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ แตงเทศ และแตงกวาได้ เส้นใยของเชื้อรา *Trichoderma* spp. จะเจริญปกคลุมเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคเหี่ยวจนไม่สามารถเจริญต่อไปได้อีก ภายใน 7 วันหลังจากการปลูกเชื้อ เมื่อศึกษาการเจริญเติบโตบนอาหารเลี้ยงเชื้อและลักษณะทางสัณฐานวิทยาแล้ว สามารถจำแนกและบ่งชี้ชนิดของเชื้อราได้ดังนี้ คือ *T. harzianum* จำนวน 5 ไอโซเลต *T. koningii* จำนวน 10 ไอโซเลต *T. piluliferum* จำนวน 1 ไอโซเลต *T. aureoviride* จำนวน 3 ไอโซเลต และ *T. reesei* จำนวน 1 ไอโซเลต

2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวกับการใช้เชื้อที่มีการผลิตเอนไซม์โปรติเอสและไคติเนสเพื่อการควบคุมทางชีวภาพ

สุวิตา และคณะ (2549) ได้ทำการรวบรวมเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* spp. จำนวน 35 ไอโซเลต เชื้อรา *Trichoderma* spp. จำนวน 17 ไอโซเลต ได้นำมาทดสอบความสามารถในการควบคุมโรคเหี่ยวเหลืองของมะเขือเทศ ซึ่งเกิดเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f. sp. lycopersici (Fol) โดยชีววิธี พบว่าไอโซเลต T10, T9, T13, T17 และ T35 มีศักยภาพในการควบคุมโรคได้ดี มีระดับความรุนแรงของโรค และเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคต่ำกว่าไอโซเลตอื่นๆ และเมื่อตรวจสอบกิจกรรมของเอนไซม์ย่อยสลายในเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณของเชื้อราดังกล่าวทั้ง 35 ไอโซเลต พบว่าเชื้อรา Trichoderma ไอโซเลต T1, 74, T30 และ T10 มีกิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลสเชิงคุณภาพสูงโดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส (degradation zone) 26.00, 22.33, 21.83 และ 20.67 มิลลิเมตร ตามลำดับ กิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอส เชิงคุณภาพ พบกิจกรรมของเอนไซม์สูงในไอโซเลต 89, 88, T1 และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

122 โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใสเป็น 41.33, 40.00, 39.83 และ 39.67 มิลลิเมตร ตามลำดับ ส่วนไอโซเลต T9, 89, T10, T35 และ 119 มีกิจกรรมของเอนไซม์ไคติเนสเชิงคุณภาพสูง โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส 21.67, 19.00, 18.67 และ 18.33 มิลลิเมตร ตามลำดับ สำหรับการตรวจสอบกิจกรรมของเอนไซม์เชิงปริมาณพบว่าไอโซเลต 77, 74 และ T20 มีกิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลส เชิงปริมาณสูง คือ 65.46, 51.06 และ 28.86 ไมโครโมล (glucose equivalent)/มิลลิกรัมโปรตีน/ชั่วโมง กิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอสเชิงปริมาณพบสูงในไอโซเลต T1, T19, T9 และ T17 คือ 74.89, 53.10, 44.64 และ 34.06 ไมโครโมล (tyrosine equivalent)/มิลลิกรัมโปรตีน/ชั่วโมง ตามลำดับ ส่วนกิจกรรมของเอนไซมไคติเนสเชิงปริมาณนั้นพบสูงในไอโซเลต T9, T25, T31, 103, T13 และ T35 คือ 30.96, 29.04, 27.12 และ 25.14 ไมโครโมล (N-acetylglucasamine equivalent)/มิลลิกรัมโปรตีน/ชั่วโมง ตามลำดับ และพบกิจกรรมของเอนไซม์ ß-1,3-glucanase เชิงปริมาณสูงในไอโซเลต 90, T20 และ 38 คือ 532.86, 148.74 และ 89.36 ไมโครโมล (glucose equivalent)/มิลลิกรัมโปรตีน/ชั่วโมง ตามลำดับ ผลการศึกษานี้ชี้ให้เห็นว่าเชื้อรา Trichoderma ไอโซเลต T9 มีกิจกรรมของเอนไซม์ย่อยสลายไคติเนสและโปรติเอสสูงซึ่งสัมพันธ์กับความสามารถในการควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ

ศิริลาภา (2544) ได้ศึกษาเชื้อรา 3 ชนิด คือ *Fusarium* sp., *Cladosporium* sp. และ *Lasiodiplodia* sp. เป็นเชื้อราหลักๆ ที่ก่อให้เกิดปัญหากับผลผลิตลำไยทางภาคเหนือของไทยจาก จุลินทรีย์จำนวน 242 ไอโซเลต ที่ผลิตไคติเนสซึ่งแยกจากตัวอย่างดินตัวอย่างอาหารและจากหน่วยเก็บเชื้อจุลินทรีย์ของมหาวิทยาลัยเชียงใหม่ พบว่า มี 40 ไอโซเลต เป็นเชื้อราและแบคทีเรียทนอุณหภูมิสูง เมื่อนำมาทดสอบการเป็นเชื้อปฏิปักษ์ โดยวิธี dual culture method กับเชื้อราทั้ง 3 ชนิด พบว่าเชื้อรา 11 ไอโซเลต และแบคทีเรีย 5 ไอโซเลต เป็นเชื้อปฏิปักษ์กับ *Cladosporium* sp. เชื้อรา 4 ไอโซเลต และแบคทีเรีย 2 ไอโซเลต เป็นเชื้อปฏิปักษ์กับ *Fusarium* sp. และ 11 ไอโซเลตของเชื้อราและ 7 ไอโซเลตของแบคทีเรียเป็นปฏิปักษ์กับ *Lasiodiplodia* sp. เลือกเชื้อราไอโซเลต CT12 และแบคทีเรียไอโซเลต H11 ซึ่งแสดงการเป็นเชื้อปฏิปักษ์ต่อราก่อโรคทั้ง 3 ชนิด จากนั้นนำมาทดสอบด้วยวิธี cylinder plate method โดยเลี้ยงใน enzyme production medium ซึ่งมีคอลลอยดอลไคตินเป็นแหล่งคาร์บอน นำไปเขย่าที่อุณหภูมิห้อง (28±2 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 7 วัน และนำไปทดสอบการยับยั้งกับราก่อโรค โดยให้วงใสขนาด 12.0 มิลลิเมตร แบคทีเรียไอโซเลต H11 สามารถยับยั้ง *Cladosporium* sp. และ *Fusarium* sp. โดยวัดเส้นผ่าศูนย์กลางของวงใสที่เกิดขึ้นได้ 19.3 และ 15.7 มิลลิเมตร ตามลำดับ เมื่อนำลำไยไปจุ่มในน้ำกรองเลี้ยงเชื้อแล้วนับจำนวนจุลินทรีย์โดยวิธี spread plate พบว่า น้ำกรองเลี้ยงเชื้อสามารถลดจำนวนของจุลินทรีย์ลงได้เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมคือ น้ำกลั่น โดยกิจกรรมเอนไซม์ไคติเนสของไอโซเลต CT12 เท่ากับ 138, 133 และ 135 มิลลิยูนิต/มิลลิลิตร ค่ากิจกรรมจำเพาะ เท่ากับ 345, 443 และ 401 มิลลิยูนิต/มิลลิกรัมโปรตีน และกิจกรรมเอนไซม์ไคติเนสของไอโซเลต H11 เท่ากับ 50 , 51 และ 48 มิลลิยูนิต/มิลลิลิตร ค่ากิจกรรมจำเพาะ เท่ากับ 187, 235 และ 167 มิลลิยูนิต/มิลลิกรัมโปรตีน จากการทดลองในลำไยแต่ละครั้ง ทำการตกตะกอนโปรตีนด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แอมโมเนียซัลเฟต แล้วนำทั้งส่วนของส่วนใส และตะกอนไปทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งราก่อโรค พบว่าน้ำกรองเชื้อราไอโซเลต CT12 ที่ความเข้มข้นของแอมโมเนียซัลเฟตร้อยละ 70 และน้ำกรองของแบคทีเรียไอโซเลต H11 ที่ความเข้มข้นของแอมโมเนียซัลเฟตร้อยละ 80 เมื่อให้ความร้อนที่ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลาต่างๆ กัน จะไม่ให้ผลการยับยั้งต่อราก่อโรค จากการตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อราไอโซเลต CT12 พบว่าเป็น *Aspergillus fumigatus* และแบคทีเรียไอโซเลต H11 เป็น *Bacillus cereus*

วัทนีย์ และคณะ (2541) ได้ศึกษาโรคเหี่ยวของอ้อยเกิดจากเชื้อรา *Fusarium subglutinans* และ *Cephalosporium sacchari* ทำให้ผลผลิตอ้อยลดลงร้อยละ 2.5-40 ศึกษาพืชอาศัยของเชื้อสาเหตุโรค ปฏิกิริยาของพันธุ์อ้อยต่อโรค ผลของเชื้อราปฏิปักษ์ สารประกอบซิลิคอน และสารไคโตซานต่อการติดเชื้อโรคเหี่ยวของอ้อย โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อหาวิธีการที่เหมาะสมในการควบคุมโรค ดำเนินศึกษาในสภาพเรือนทดลองและสภาพไร่ในเขตปลูกจังหวัดฉะเชิงเทราและสระแก้ว พบว่าพืชหลายชนิดเป็นพืชอาศัยของเชื้อสาเหตุโรค ได้แก่ ข้าว ข้าวโพด ข้าวฟ่าง ถั่วเขียว และวัชพืชหญ้าปากควาย หญ้าพงอ้อ และหญ้าโขมงช่อดอกเล็ก อ้อยพันธุ์อู่ทอง 4 มีปฏิกิริยาต้านทานโรคพันธุ์ เค 84-200 เค 90-77 และ 89-2-365 ต้านทานต่อโรคปานกลาง พันธุ์เค 88-92 เค 66-07 อู่ทอง 1 และอู่ทอง 3 อ่อนแอต่อโรค การใช้ส่วนผสมของเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma harzianum* ชนิดเชื้อสดที่เลี้ยงบนเมล็ดข้าวฟ่างนึ่ง ผสมรำข้าวและปุ๋ยคอก อัตราส่วน 1:10:40 โดยน้ำหนัก ผสมในดิน 2 ครั้ง ก่อนปลูกและ 2 เดือนหลังปลูก ครั้งละ 40 กิโลกรัมต่อไร่ ทำให้ปริมาณเชื้อสาเหตุโรคในดินและการติดเชื้อที่รากอ้อยลดต่ำกว่ากรรมวิธีเปรียบเทียบที่ไม่ใช้เชื้อปฏิปักษ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การผสมสารประกอบซิลิกอนอัตรา 40 กิโลกรัมต่อไร่ในดิน และการพ่นสารไคโตซาน 250 และ 500 ส่วนในล้านส่วน (ppm.) บริเวณโคนกอและรากอ้อยมีการติดเชื้อโรคเหี่ยวบนราก อ้อยไม่ต่างจากกรรมวิธีเปรียบเทียบ ดังนั้นการควบคุมโรคเหี่ยวในพื้นที่โรคระบาดจึงควรใช้วิธีปลูกอ้อยพันธุ์ต้านทาน หรือพันธุ์ต้านทานปานกลางต่อโรคควบคู่กับ การผสมเชื้อราปฏิปักษ์ *T. harzianum* ในดิน หลีกเลี่ยงการปลูกพืชอาศัยของเชื้อหมุนเวียนในพื้นที่และกำจัดวัชพืชที่เป็นพืชอาศัยของเชื้อ

ภัทรกร และคณะ (2547) ได้ทดสอบความสามารถของ *Streptomyces* spp. จำนวน 63 ไอโซเลต ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Didymella bryoniae* ที่แยกได้จากใบเมลอน 2 ไอโซเลต (No.2 และ No. 4) โดยวิธี bioassay พบว่ามี *Streptomyces* ที่สามารถควบคุมเชื้อรา *D. bryoniae* ทั้ง 2 ไอโซเลตได้ดีที่สุด โดยเส้นใยเชื้อ *D. bryoniae* ไม่สามารถเจริญออกจากชิ้นอาหารวุ้นเริ่มแรกได้ ได้แก่ *Streptomyces* -13, -22, -95 และ -128 และมี *Streptomyces* spp. ที่สามารถยับยั้งเส้นใยของ *D. bryoniae* ได้ดี เพิ่มเติมจากที่มีการศึกษาไว้แล้ว คือ *Streptomyces* -11, -23, -24, -26, -34, -106, 108, -132, -134, -142, -LP9,- LP39 และ -LP64 และเมื่อนำ *Streptomyces* ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *D. bryoniae* ได้ดี จำนวน 16 ไอโซเลต (*Streptomyces* -7, 13, 15, 17, 22, 33, 55, 74, 78, 84, 87,95, 108, 123, และ128) มาทดสอบความสามารถในการสังเคราะห์เอนไซม์เซลลูเลส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บนอาหารแข็งคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส (CMC) และไคติเนสบนอาหารแข็งคอลลอยดอลไคติน (CCA) โดยวิธี congo red test พบว่ามี 14 ไอโซเลต ที่สร้างเอนไซม์เซลลูเลสได้มาก ทำให้เกิดวงใส บนอาหาร CMC มีความกว้างของเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส 2.74 - 4.63 เซนติเมตร ซึ่งไอโซเลตที่ไม่พบกิจกรรมของเซลลูเลสคือ *Streptomyces* -17 และ -123 ในขณะที่ *Streptomyces* ทุกไอโซเลตสร้างเอนไซม์ไคติเนสได้ ทำให้เกิดวงใสบนอาหาร CCA กว้าง 2.25-5.18 เซนติเมตร เชื้อ *Streptomyces* -13 สามารถสร้างเอนไซม์ได้มากที่สุดทั้งสองชนิด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
การทดลองและวิธีการ

3.1 แหล่งของจุลินทรีย์

3.1.1 ตัวอย่างเชื้อราจากดินที่เก็บจากสถานที่ที่แตกต่างกัน และใช้เป็นตัวแทนของเชื้อปฏิปักษ์

1 เชื้อราไอโซเลต M 14303 และ C 14507 ถูกคัดแยกจากดินบริเวณรอบต้นคฑาเงินหลังคอนโดบางกะปี อาคารซี เขตบางกะปี กรุงเทพมหานคร

2 เชื้อราไอโซเลต C 15304 และ C 15305 ถูกคัดแยกจากดินบริเวณรอบโคนต้นมะขมหน้าตึกคณะครุศาสตร์อุตสาหกรรม สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

3 เชื้อราไอโซเลต C 18402 และ C 18404 ถูกคัดแยกจากดินส่วนผสมของสวน 22 พันธุ์ไม้ เขตลาดกระบัง

4 เชื้อราไอโซเลต C 20404 ถูกคัดแยกจากดินบริเวณรอบโคนต้นดอกเข็มสีชมพู ในสวนจัดตกแต่งหน้าสำนักงานนิคมอุตสาหกรรมลาดกระบัง

5 เชื้อราไอโซเลต C 21405 ถูกคัดแยกจากดินบริเวณรอบโคนต้นกล้วยของสวนจุฬาภรณ์พันธุ์ไม้พันธุ์ปลา เขตลาดกระบัง

6 เชื้อราไอโซเลต C 22301 ถูกคัดแยกจากดินบริเวณรอบต้นลูกยอหน้าหออินเตอร์เฮาส์ เขตลาดกระบัง

7 เชื้อราไอโซเลต M 24404 ถูกคัดแยกจากดินบริเวณรอบรากต้นสาวน้อยประแป้งหน้าซุ้มการประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตรสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

3.1.2 ตัวอย่างเชื้อปฏิปักษ์จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย

1 เชื้อ *Acremonium* sp. TISTR 3283

2 เชื้อ *Chaetomium globosum* TISTR 3093

3.1.3 ตัวอย่างเชื้อราที่คัดแยกจากพืชที่เป็นโรคซึ่งใช้เป็นตัวแทนของเชื้อราก่อโรคพืช

1 เชื้อราไอโซเลต PD 4410 ถูกคัดแยกจากใบถั่วแขกไม้เลื้อยที่มีจุดจ้ำสีน้ำตาลแดงและสีเหลืองดำ จากมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม

2 เชื้อราไอโซเลต PD 4806 ถูกคัดแยกจากต้นถั่วแขกเป็นจุดสีน้ำตาลขาวและมีสีขาวคล้ายราเกาะ จากมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม

3 เชื้อราไอโซเลต PD 4903, PD 4905, PD4911, PD 4913, PD 4914, PD 4915, PD4916, PD 4918, PD 4920, PD 4921 และ PD 4922 ถูกคัดแยก0kdใบถั่วเขียวเป็นสีน้ำตาลเหลือง และมีเส้นใยสีขาวเกาะ จากมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4 เชื้อราไอโซเลต PD 5003 และ PD 5004 ถูกคัดแยกจากใบถั่วเขียวเป็นจุดจ้ำสีน้ำตาลดำ และมีเส้นใยสีขาวเกาะ จากมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม

5 เชื้อราไอโซเลต NA 5101 และ PD 5102 ถูกคัดแยกจากผลพริกเมล็ดใหญ่ที่เน่าเป็นสีขาวน้ำตาลเหลือง จากมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม

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

7 เชื้อราไอโซเลต PD 5301 ถูกคัดแยกจากผลพริกเมล็ดใหญ่ที่มีสีขาวและดำคล้ายราเกาะอยู่ จากมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม

8 เชื้อราไอโซเลต PD 5503 ถูกคัดแยกจากผลพริกเมล็ดใหญ่ช้ำมีสีดำคล้ายราเกาะ จากมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม

9 เชื้อราไอโซเลต PD 5602 ถูกคัดแยกจากผลพริกเมล็ดกลางเหี่ยวแห้งสีเหลืองดำช้ำ และมีเทาชมพูคล้ายราเกาะอยู่ จากมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม

10 เชื้อราไอโซเลต PD 5701 ถูกคัดแยกจากผลพริกเมล็ดใหญ่ช้ำแห้งสีดำเหลือง จากมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม

11 เชื้อราไอโซเลต PD 5801 ถูกคัดแยกจากผลพริกเมล็ดเล็กเหี่ยวสีดำ มีสีขาวคล้ายราเกาะ จากมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม

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

13 เชื้อราไอโซเลด PD 6101 ถูกคัดแยกจากใบพริกขนาดเล็กเป็นจุดจ้ำมีดำน้ำตาลเหลือง และมีสีขาวคล้ายราเกาะ จากมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม

3.1.4 ตัวอย่างเชื้อก่อโรคพืชจากกรมวิชาการเกษตร

1 เชื้อ *Fusarium oxysporum* DOAC 0893 เป็นสาเหตุโรคตายพรายกล้วย สถานที่เก็บ สถาบันวิจัยพืชสวนบุรีรัมย์

2 เชื้อ *Sclerotium rolfsii* DOAC 0926 เป็นสาเหตุโรคถั่วเหลือง สถานที่เก็บ จังหวัดขอนแก่น

3.2 วัสดุอุปกรณ์

3.2.1 อุปกรณ์

1 cork-borer ขนาด 3 มิลลิเมตร

2 หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ

3 เครื่องคนสาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4 ตู้เขี่ยฆ่าเชื้อ

5 เครื่องแก้ว

6 ตู้เย็น

7 เครื่องชั่ง

8 อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ

9 กล้องจุลทรรศน์

10 เครื่องระเหยแห้ง

3.2.2 สารเคมี

1 คอลลอยดอลไคติน

2 หางนม (skim milk)

3 ยีสต์สกัด (Yeast Extract)

4 $NaNO_3$

5 $MgSO_4.7H_2O$

6 KH_2PO_4

7 $FeSO_4.7H_2O$

8 วุ้น

9 น้ำกลั่น

10 อาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

3.3 วิธีการ

3.3.1 การเตรียมอาหารในการแยกและเลี้ยงเชื้อราจากดิน เพื่อการผลิตเอนไซม์ไคติเนสและโปรติเอส

อาหารที่เหมาะสมในการเลี้ยงเชื้อที่ผลิตเอนไซม์ไคติเนสและโปรติเอส มีส่วนประกอบดังนี้ คอลลอยดอลไคตินร้อยละ 2 (สำหรับการผลิตเอนไซม์ไคติเนส) หางนม ร้อยละ 5 (สำหรับการผลิตเอนไซม์โปรติเอส) ในส่วนประกอบส่วนอื่นๆ ของอาหารเลี้ยงเชื้อใช้เหมือนกันคือ ยีสต์สกัด 5.0 กรัม $NaNO_3$ 0.3 กรัม $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.5 กรัม KH_2PO_4 1.0 กรัม $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.01 กรัม วุ้น 15 กรัม โบรโมฟีนอลบลู (10 มก./มิลลิลิตร) 100 ไมโครลิตร และน้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.2 การเตรียมอาหารในการศึกษาปฏิสัมพันธ์ของเชื้อราจากดินที่ถูกคัดเลือกกับเชื้อราที่แยกจากชิ้นส่วนพืชที่เกิดโรค

อาหารที่เหมาะสมในการศึกษาปฏิสัมพันธ์ มีส่วนประกอบ ดังนี้ คอลลอยดอลไคติน ร้อยละ 1 หางนม ร้อยละ 1 ยีสต์สกัด 5.0 กรัม $NaNO_3$ 0.3 กรัม $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.5 กรัม KH_2PO_4 1.0 กรัม $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.01 กรัม วุ้น 15 กรัม และน้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร ละลายส่วนผสมให้เข้ากัน จากนั้นนำสารผสมทั้งหมดไปตั้งไฟจนสารละลายหมด เทใส่ขวดอาหารเลี้ยงเชื้อ ปิดฝา แล้วนำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งอัดไอที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

3.3.3 การคัดเลือกและแยกเชื้อราที่สามารถสร้างเอนไซม์ไคติเนสและโปรติเอสจากดินให้บริสุทธิ์

เตรียมน้ำกลั่น ใส่หลอดทดลองหลอดละ 9 มิลลิลิตร จำนวน 5 หลอด นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำที่ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที รอให้เย็น ชั่งตัวอย่างดินจำนวน 1 กรัม แล้วนำมาใส่หลอดที่ 1 จะได้ความเจือจาง 1 : 10 เขย่าให้เข้ากัน แล้วใช้ปิเปตขนาด 1 มิลลิลิตร ดูดจากหลอดที่ 1 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่หลอดที่ 2 ได้ความเจือจาง 1 : 10^2 ทำเช่นนี้ต่อไปจนถึงหลอดที่ 5 จะได้ความเจือจาง 1 : 10^5 นำหลอดที่มีความเจือจาง 1 : 10^3 , 1:10^4 , 1:10^5 มาทำ spread plate โดยใช้ปิเปต ดูดแต่ละความเจือจางมา 0.1 มิลลิลิตร ใส่ในจานอาหาร ข้อ 3.3.1 แต่ละความเจือจางทำ 3 ซ้ำ นำสเปรดเดอร์ (spreader) จุ่มแอลกอฮอล์ร้อยละ 95 แล้วลนไฟ รอให้เย็นเพื่อฆ่าเชื้อ แล้วนำมาเกลี่ยเชื้อให้ทั่วผิวหน้าอาหาร บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 วัน จากนั้นนำไปคัดเลือกเชื้อราที่สามารถผลิตเอนไซม์ไคติเนสและโปรติเอสได้ในสภาวะอาหารแข็งต่อไป

3.3.4 การคัดเลือกเชื้อราที่สามารถผลิตเอนไซม์ไคติเนส และโปรติเอสได้ในสภาวะอาหารแข็ง

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

3.3.5 การคัดแยกเชื้อราจากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค

เตรียมน้ำกลั่น ใส่หลอดทดลองหลอดละ 9 มิลลิลิตร จำนวน 5 หลอด นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำที่ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที รอให้เย็น นำชิ้นส่วนของพืชที่เก็บตรงบริเวณที่คาดว่าจะมีเชื้ออยู่หั่นเป็นชิ้นเล็กๆ แล้วชั่ง 1 กรัม ใส่ลงในหลอดน้ำกลั่นที่เตรียมไว้หลอดที่ 1 จะได้ความเจือจาง 1 : 10 เขย่าให้เข้ากัน แล้วใช้ปิเปตขนาด 1 มิลลิลิตร ดูดจากหลอดที่ 1 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่หลอดที่ 2 ได้ความเจือจาง 1 : 10^2 ทำเช่นนี้ต่อไปจนถึงหลอดที่ 5 จะได้ความเจือจาง 1 : 10^5 นำหลอดที่มีความเจือจาง 1 : 10^3 1:10^4 และ 1:10^5 มาทำ spread plate โดยใช้ปิเปตขนาด 1 มิลลิลิตร ดูดแต่ละความเจือจางมา 0.1 มิลลิลิตร ใส่ในจานอาหาร PDA แต่ละความเจือจางทำ 3 ซ้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นำ spreader จุ่มแอลกอฮอล์ ร้อยละ 95 แล้วลนไฟ รอให้เย็นเพื่อฆ่าเชื้อ แล้วนำมาเกลี่ยเชื้อให้ทั่วผิวหน้า อาหาร บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 วัน แล้วจึงแยกเชื้อให้บริสุทธิ์บนอาหาร PDA

3.3.6 การศึกษาปฏิสัมพันธ์ของเชื้อราที่แยกได้จากดินที่ถูกคัดเลือก กับเชื้อราที่แยกจากชิ้นส่วนพืชที่เป็นโรค

นำเชื้อราที่ถูกคัดเลือกตรวจสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อราที่เป็นเชื้อโรคที่แยกจากพืชด้วยวิธี dual culture technique ทำได้โดยการตัดแผ่นกลมของกลุ่มใยราที่เป็นเชื้อโรค (mycelial disc) ที่เลี้ยงไว้บนอาหาร PDA ซึ่งกำลังเจริญและยังไม่สร้างสปอร์ให้ได้ขนาด 5 มิลลิเมตร จากนั้นวางห่างจากขอบของจานเพาะเลี้ยงที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางขนาด 9 เซนติเมตร ประมาณ 1.5 เซนติเมตร จากนั้นนำจานเพาะเชื้อที่ได้ บ่มที่อุณหภูมิ 28 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน แล้วนำแผ่นกลมของกลุ่มใยราที่ถูกคัดเลือก ขนาด 5 มิลลิเมตร ซึ่งกำลังเจริญและยังไม่สร้างสปอร์ มาวางลงในอาหารเลี้ยงเชื้อข้อ 3.3.2 ตรงข้ามกับแผ่นกลมของกลุ่มใยราที่เป็นเชื้อโรค หลังจากนั้น 4 วัน วัดการเจริญของเชื้อราที่แยกได้จากดินและเชื้อราที่แยกจากชิ้นส่วนพืชที่เป็นโรค โดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อวัดขนาดวงใสโดยวัดระยะที่เกินออกมาจากขอบโคโลนีเชื้อรา หรือโซนของการยับยั้ง คือวัดจากขอบของกลุ่มเส้นใยของเชื้อราที่แยกจากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค จนถึงขอบของการเจริญของเชื้อที่แยกได้จากดินในหน่วยเซนติเมตร ทำซ้ำ 3 ครั้ง จากเชื้อราทั้งหมดที่ถูกคัดเลือก (Y.S. Bae และ Guy R. Knudsen, 2005)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการทดลองและอภิปรายผล

4.1 การแยกเชื้อและเลี้ยงเชื้อราเพื่อการผลิตเอนไซม์ไคติเนสและโปรติเอส

จากการทดสอบการผลิตเอนไซม์ไคติเนสในอาหาร Colloidal – CD-medium ของเชื้อราที่แยกได้จากดิน 12 สายพันธุ์ พบว่าสามารถผลิตเอนไซม์ไคติเนสได้ 11 สายพันธุ์ ยกเว้นสายพันธุ์ C 20402 และ เชื้อราสายพันธุ์ *Chaetomium globosum* TISTR 3093 ให้ขนาดวงใสรอบโคโลนีสูงสุดเท่ากับ 0.5 เซนติเมตร และรองลงมาคือเชื้อราสายพันธุ์ C 15304 และ *Acremonium* sp. TISTR 3283 ซึ่งได้ขนาดวงใสรอบโคโลนีเท่ากัน คือ 0.3 เซนติเมตร แสดงดังตารางที่ 4 และทดสอบการผลิตเอนไซม์โปรติเอสในอาหาร skim milk - CD-medium พบว่า เชื้อราสามารถผลิตเอนไซม์โปรติเอสได้ 11 สายพันธุ์ ยกเว้นสายพันธุ์ C 20402 เช่นเดียวกับข้างต้น และเชื้อสายพันธุ์ C 15304 ให้ขนาดวงใสรอบโคโลนีมากที่สุด เท่ากับ 0.8 เซนติเมตร (ดังรูปที่ 5) และรองลงมาคือเชื้อสายพันธุ์ C 22301 (ดังรูปที่ 6), M 14303 (ดังรูปที่ 7) และ C 14507 โดยจะให้ขนาดโคโลนีเท่ากับ 0.4 เซนติเมตร แสดงดังตารางที่ 5

ตารางที่ 4 การทดสอบเอนไซม์ไคติเนสในอาหาร Colloidal – CD-medium

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

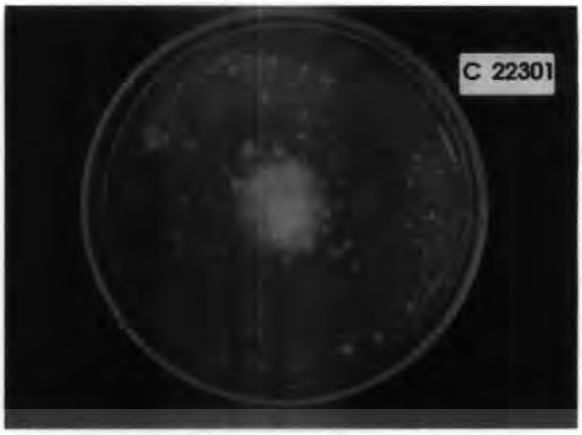
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 5 การทดสอบเอนไซม์โปรติเอสในอาหาร skim milk – CD-medium

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

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



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

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

4.2 การศึกษาปฏิสัมพันธ์ของเชื้อราที่แยกได้จากดินที่ถูกคัดเลือกกับเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค

จากการทดสอบปฏิสัมพันธ์ของเชื้อราที่แยกได้จากดินสายพันธุ์ M 24404 ที่สร้างทั้งเอนไซม์ไคติเนสและโปรติเอส กับเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคชนิดต่างๆ 18 สายพันธุ์ พบว่าเชื้อราที่แยกได้จากดินสายพันธุ์ M 24404 สามารถยับยั้งเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคได้ โดยเชื้อราที่แยกได้จากดินนี้จะมีกลไกควบคุมเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค ในลักษณะการทำลายชีวิต โดยเชื้อราที่แยกได้จากดินสร้างวงใส ซึ่งสามารถยับยั้งเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคสายพันธุ์ PD 4905 ให้ขนาดวงใสมากที่สุด เท่ากับ 0.7 เซนติเมตร รองลงมา คือ PD 4911 ให้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ขนาดวงใส เท่ากับ 0.5 เซนติเมตร แสดงดังตารางที่ 6 ซึ่งปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดินสายพันธุ์ M 24404 กับเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค PD 5904, PD 4905 และ PD 5003 แสดงดังรูปที่ 8, 9 และ 10 ตามลำดับ

ตารางที่ 6 ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดินสายพันธุ์ M 24404 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคชนิดต่างๆ 18 สายพันธุ์

เชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค	เส้นผ่านศูนย์กลางเชื้อราที่แยกได้จากดิน (ซม.)		เส้นผ่านศูนย์กลางเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค (ซม.)		บริเวณยับยั้งของเชื้อราที่แยกได้จากดิน (ซม.)		หมายเหตุ
	วันที่ 4	วันที่ 7	วันที่ 4	วันที่ 7	วันที่ 4	วันที่ 7	
PD 4915	1.9	3.0	3.6	5.0	-	0.3	เชื้อราที่แยกได้จากดินสร้างบริเวณยับยั้ง 0.3 ซม.
PD 5701	1.4	2.1	3.9	6.5	-	0.4	เชื้อราที่แยกได้จากดินสร้างบริเวณยับยั้ง 0.4 ซม.
PD 5904	1.3	3.5	2.7	4.5	-	0.3	เชื้อราที่แยกได้จากดินสร้างบริเวณยับยั้ง 0.3 ซม.
PD 5602	2.0	5.1	3.3	3.5	-	0.1	เชื้อราที่แยกได้จากดินสร้างบริเวณยับยั้ง 0.1 ซม.
PD 4905	2.3	4.0	3.3	5.0	-	0.7	เชื้อราที่แยกได้จากดินสร้างบริเวณยับยั้ง 0.7 ซม.
PD 4410	2.0	3.3	3.2	4.7	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์
PD 5202	2.3	4.0	3.3	5.0	-	0.2	เชื้อทั้งคู่ยับยั้งซึ่งกันและกัน โดยสร้างบริเวณยับยั้ง
PD 4911	1.6	3.5	4.1	5.0	-	0.5	เชื้อราที่แยกได้จากดินสร้างบริเวณยับยั้ง 0.5 ซม.
PD 4806	2.2	4.1	3.3	4.9	-	0.3	เชื้อราที่แยกได้จากดินสร้างบริเวณยับยั้ง 0.3 ซม.
PD 4916	1.4	2.5	2.5	3.0	-	0.2	เชื้อราที่แยกได้จากดินสร้างบริเวณยับยั้ง 0.2 ซม.
PD 4914	2.8	3.7	3.3	5.0	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 6 (ต่อ) ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดินสายพันธุ์ M 24404 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคชนิดต่างๆ 18 สายพันธุ์

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

รูปที่ 8 ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดิน M 24404 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค PD 5904 ซึ่งเชื้อราที่แยกได้จากดินสร้างบริเวณยับยั้ง 0.3 เซนติเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 9 ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดิน M 24404 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค PD 4905 ซึ่งเชื้อราที่แยกได้จากดินสร้างบริเวณยับยั้ง 0.7 เซนติเมตร

รูปที่ 10 ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดิน M 24404 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค PD 5003 ซึ่งเชื้อทั้งคู่ยับยั้งซึ่งกันและกันโดยสร้างบริเวณยับยั้ง

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 7 ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดินสายพันธุ์ C 22301 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคชนิดต่างๆ 21 สายพันธุ์

เชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค	เส้นผ่านศูนย์กลางเชื้อราที่แยกได้จากดิน (ซม.)		เส้นผ่านศูนย์กลางเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค (ซม.)		บริเวณยับยั้งของเชื้อราที่แยกได้จากดิน (ซม.)		หมายเหตุ
	วันที่ 4	วันที่ 7	วันที่ 4	วันที่ 7	วันที่ 4	วันที่ 7	
PD 4915	0.5	2.5	2.3	4.0	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์
PD 5701	1.5	3.3	3.0	5.6	-	0.1	เชื้อราที่แยกได้จากดินสร้างบริเวณยับยั้ง 0.1 ซม.
PD 5904	1.1	2.3	3.5	4.8	-	0.9	เชื้อราที่แยกได้จากดินสร้างบริเวณยับยั้ง 0.9 ซม.
PD 5602	1.5	4.0	2.7	4.5	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์
PD 4905	1.7	3.5	3.0	4.5	-	0.4	เชื้อทั้งคู่ยับยั้งซึ่งกันและกันโดยสร้างบริเวณยับยั้ง
PD 4410	2.0	3.5	3.0	4.5	-	0.4	เชื้อทั้งคู่ยับยั้งซึ่งกันและกันโดยสร้างบริเวณยับยั้ง
PD 5202	1.5	3.5	3.0	4.0	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์
PD 4922	2.2	3.3	4.1	4.8	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์
PD 4911	2.3	3.0	2.5	4.0	0.4	-	เชื้อทั้งคู่ยับยั้งซึ่งกันและกัน โดยสร้างบริเวณยับยั้ง
PD 4806	1.5	3.4	2.8	4.6	-	0.4	เชื้อทั้งคู่ยับยั้งซึ่งกันและกันโดยสร้างบริเวณยับยั้ง
PD 4916	0.7	3.0	2.7	3.5	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์
PD 4914	1.3	3.5	2.5	5.3	-	0.1	เชื้อราที่แยกได้จากดินสร้างบริเวณยับยั้ง 0.1 ซม.
NA 5201	2.0	4.0	3.1	3.5	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์
PD 5102	2.0	3.5	3.1	3.4	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์
NA 5101	1.3	3.0	3.7	5.2	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์
PD 6101	2.3	3.4	3.5	5.5	-	0.1	เชื้อราที่แยกได้จากดินสร้างบริเวณยับยั้ง 0.1 ซม.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 7 (ต่อ) ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดินสายพันธุ์ C 22301 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคชนิดต่างๆ 21 สายพันธุ์

เชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค	เส้นผ่านศูนย์กลาง เชื้อราที่แยกได้จากดิน (ซม.)		เส้นผ่านศูนย์กลางเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค (ซม.)		บริเวณยับยั้งของเชื้อราที่แยกได้จากดิน (ซม.)		หมายเหตุ
	วันที่ 4	วันที่ 7	วันที่ 4	วันที่ 7	วันที่ 4	วันที่ 7	
PD 4921	2.0	3.4	3.1	5.3	-	0.3	เชื้อราที่แยกได้จากดินสร้างบริเวณยับยั้ง 0.3 ซม.
PD 4918	1.9	3.1	3.3	5.7	-	0.2	เชื้อราที่แยกได้จากดินสร้าง บริเวณยับยั้ง 0.2 ซม.
PD 4920	1.4	3.1	3.8	5.5	-	0.4	เชื้อทั้งคู่ยับยั้งซึ่งกันและกันโดยสร้าง บริเวณยับยั้ง
PD 5801	2.3	3.6	3.3	5.2	-	0.1	เชื้อราที่แยกได้จากดินสร้าง บริเวณยับยั้ง 0.1 ซม.
PD 5902	2.0	2.2	3.5	3.7	-	0.2	เชื้อทั้งคู่ยับยั้งซึ่งกันและกันโดยสร้าง บริเวณยับยั้ง

รูปที่ 11 ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดิน C 22301 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค PD 4914 ซึ่งเชื้อราที่แยกได้จากดินสร้างบริเวณยับยั้ง 0.1 เซนติเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 12 ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดิน C 22301 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค PD 4920 ซึ่งเชื้อทั้งคู่ยับยั้งซึ่งกันและกันโดยสร้างบริเวณยับยั้ง

รูปที่ 13 ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดิน C 22301 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค PD 5801 ซึ่งเชื้อราที่แยกได้จากดินสร้างบริเวณยับยั้ง 0.1 เซนติเมตร

จากการทดสอบปฏิสัมพันธ์ของเชื้อราที่แยกได้จากดิน C 21405 ที่สร้างทั้งเอนไซม์ไคติเนสและโปรติเอสกับเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคชนิดต่างๆ 23 สายพันธุ์ พบว่า เชื้อราที่แยกได้จากดินสายพันธุ์ C 21405 สามารถยับยั้งเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคในลักษณะเจริญทับเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค โดยเชื้อราที่แยกได้จากดินนี้จะมีกลไกควบคุมเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคในลักษณะการทำลายชีวิต โดยเชื้อราที่แยกได้จากดินสร้างวงใสซึ่งสามารถยับยั้งเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคสายพันธุ์ PD 5003 ได้สูงสุด ให้ขนาดวงใสมากที่สุด เท่ากับ 0.7 เซนติเมตร รองลงมา คือ PD 5904, PD 4916 และPD 5902 ให้ขนาดวงใส เท่ากับ 0.5 เซนติเมตร แสดงดังตารางที่ 8 ซึ่งปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดินสายพันธุ์ C 21405 กับเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค PD 5102, PD 4921 และ PD 5003 แสดงดังรูปที่ 14, 15 และ 16 ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 8 ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดินสายพันธุ์ C 21405 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคชนิดต่างๆ 23 สายพันธุ์

เชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค	เส้นผ่านศูนย์กลางเชื้อราที่แยกได้จากดิน (ซม.)		เส้นผ่านศูนย์กลางเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค (ซม.)		บริเวณยับยั้งของเชื้อราที่แยกได้จากดิน (ซม.)		หมายเหตุ
	วันที่ 4	วันที่ 7	วันที่ 4	วันที่ 7	วันที่ 4	วันที่ 7	
PD 4915	1.3	3.0	3.3	6.0	-	-	เชื้อราที่แยกได้จากดินเจริญล้ำเข้าไปในเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค 0.5 ซม.
PD 5701	1.5	3.5	3.3	3.5	-	-	เชื้อราที่แยกได้จากดินเจริญล้ำเข้าไปในเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค
PD 5904	1.4	3.5	3.5	5.0	-	0.5	เชื้อราที่แยกได้จากดินสร้างบริเวณยับยั้ง 0.5 ซม.
PD 5602	1.5	3.0	3.0	5.0	-	0.4	เชื้อทั้งคู่ยับยั้งซึ่งกันและกันโดยสร้างบริเวณยับยั้ง
PD 4905	1.5	3.5	3.2	5.0	-	-	เชื้อราที่แยกได้จากดินเจริญล้ำเข้าไปในเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค 1.2 ซม.
PD 4410	1.6	3.0	3.3	5.5	-	0.4	เชื้อราที่แยกได้จากดินสร้างบริเวณยับยั้ง 0.4 ซม.
PD 5202	0.9	3.2	2.9	5.1	-	-	เชื้อราที่แยกได้จากดิน เจริญล้ำเข้าไปในเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค 1.0 ซม.
PD 4911	0.3	2.0	2.3	4.0	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์
PD 4806	1.5	3.5	3.3	5.0	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 8 (ต่อ) ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดินสายพันธุ์ C 21405 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคชนิดต่างๆ 23 สายพันธุ์

เชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค	เส้นผ่านศูนย์กลางเชื้อราที่แยกได้จากดิน (ซม.)		เส้นผ่านศูนย์กลางเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค (ซม.)		บริเวณยับยั้งของเชื้อราที่แยกได้จากดิน (ซม.)		หมายเหตุ
	วันที่ 4	วันที่ 7	วันที่ 4	วันที่ 7	วันที่ 4	วันที่ 7	
PD 4916	1.1	3.4	3.5	5.1	-	0.5	เชื้อราที่แยกได้จากดินสร้าง บริเวณยับยั้ง 0.5 ซม.
PD 4914	1.0	2.8	3.6	5.9	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์
NA 5201	1.5	3.3	3.3	5.1	-	0.4	เชื้อราที่แยกได้จากดินสร้าง บริเวณยับยั้ง 0.4 ซม.
PD 5102	0.4	3.4	2.9	5.4	-	0.3	เชื้อราที่แยกได้จากดินสร้างบริเวณยับยั้ง 0.3 ซม.
NA 5101	1.0	2.2	3.2	6.6	-	0.3	เชื้อราที่แยกได้จากดินสร้างบริเวณยับยั้ง 0.3 ซม.
PD 6101	1.4	2.8	4.9	6.2	-	-	เชื้อราที่แยกได้จากดินเจริญล้ำเข้าไปในเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค 0.7 ซม.
PD 5301	0.5	1.0	5.7	7.0	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์
PD 4921	1.8	3.3	3.5	5.3	-	0.4	เชื้อราที่แยกได้จากดินสร้างบริเวณยับยั้ง 0.4 ซม.
PD 5003	1.4	2.2	2.2	2.5	-	0.7	เชื้อราที่แยกได้จากดินสร้างบริเวณยับยั้ง 0.7 ซม.
PD 4918	1.0	3.0	3.4	4.0	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์
PD 4913	1.0	2.6	3.4	5.7	-	-	เชื้อราที่แยกได้จากดินเจริญล้ำเข้าไปในเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค 0.7 ซม.

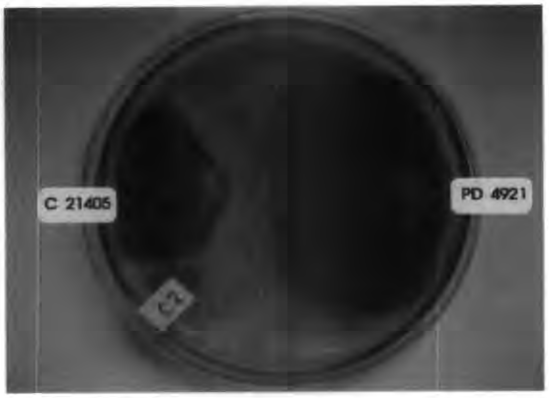
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 8 (ต่อ) ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดินสายพันธุ์ C 21405 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคชนิดต่างๆ 23 สายพันธุ์

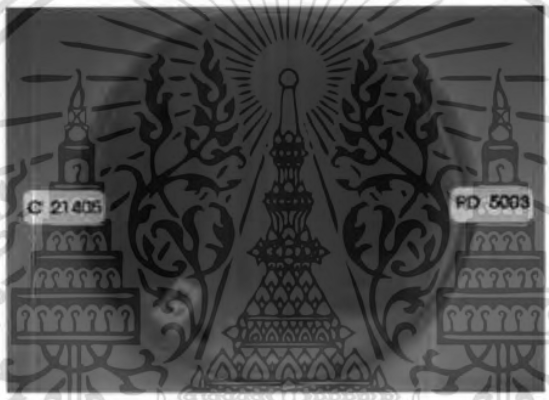
เชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค	เส้นผ่านศูนย์กลางเชื้อราที่แยกได้จากดิน (ซม.)		เส้นผ่านศูนย์กลางเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค (ซม.)		บริเวณยับยั้งของเชื้อราที่แยกได้จากดิน (ซม.)		หมายเหตุ
	วันที่ 4	วันที่ 7	วันที่ 4	วันที่ 7	วันที่ 4	วันที่ 7	
PD 5902	0.8	3.5	2.1	5.0	-	0.5	เชื้อราที่แยกได้จากดินสร้างบริเวณยับยั้ง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

รูปที่ 14 ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดิน C 21405 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค PD 5102 ซึ่งเชื้อราที่แยกได้จากดินสร้างบริเวณยับยั้ง 0.3 เซนติเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 15 ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดิน C 21405 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค PD 4921 โดยเชื้อราที่แยกได้จากดินสร้างบริเวณยับยั้ง 0.4 เซนติเมตร



รูปที่ 16 ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดิน C 21405 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค PD 5003 โดยเชื้อราที่แยกได้จากดินสร้างบริเวณยับยั้ง 0.7 เซนติเมตร

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 9 ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดินสายพันธุ์ C 18402 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคชนิดต่างๆ 21 สายพันธุ์

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

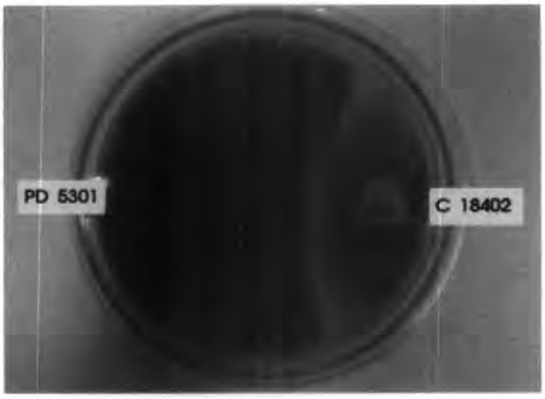
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 9 (ต่อ) ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดินสายพันธุ์ C 18402 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคชนิดต่างๆ 21 สายพันธุ์

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

รูปที่ 17 ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดิน C 18402 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค PD 5602 ซึ่งเชื้อราที่แยกได้จากดินสร้างบริเวณยับยั้ง 0.5 เซนติเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 18 ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดิน C 18402 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค PD 5301 ซึ่งเชื้อราที่แยกได้จากดินสร้างบริเวณยับยั้ง 0.2 เซนติเมตร

รูปที่ 19 ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดิน C 18402 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค PD 5503 ซึ่งเชื้อทั้งคู่ยับยั้งซึ่งกันและกันโดยสร้างบริเวณยับยั้ง

จากการทดสอบปฏิสัมพันธ์ของเชื้อราที่แยกได้จากดิน M 14303 ที่สร้างทั้งเอนไซม์ไคติเนสและโปรติเอสกับเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคชนิดต่างๆ 23 สายพันธุ์ พบว่า เชื้อราที่แยกได้จากดิน M 14303 สามารถยับยั้งเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคได้โดยเชื้อราที่แยกได้จากดินมีกลไกควบคุมเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค ในลักษณะการทำลายชีวิตโดยเชื้อราที่แยกได้จากดินสร้างวงใส ซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคสายพันธุ์ PD 4922 ได้สูงสุด ให้ขนาดวงใสมากที่สุดเท่ากับ 1.1 เซนติเมตร รองลงมาคือ PD 4911 และ PD 5503 ให้ขนาดวงใส เท่ากับ 0.3 เซนติเมตร แสดงดังตารางที่ 10 ซึ่งปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดินสายพันธุ์ M 14303 กับเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค PD 4915, PD 4918 และ PD 5902 แสดงดังรูปที่ 20, 21 และ 22 ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 10 ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดินสายพันธุ์ M 14303 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคชนิดต่างๆ 23 สายพันธุ์

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

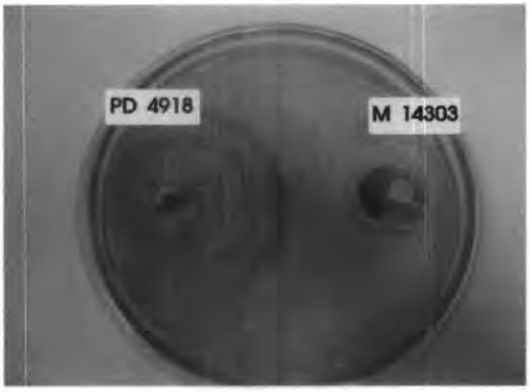
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 10 (ต่อ) ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดินสายพันธุ์ M 14303 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคชนิดต่างๆ 23 สายพันธุ์

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

รูปที่ 20 ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดิน M 14303 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค PD 4915 ซึ่งเชื้อราที่แยกได้จากดินสร้างบริเวณยับยั้ง 0.1 เซนติเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 21 ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดิน M 14303 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค PD 4918 ซึ่งเชื้อราที่แยกได้จากดินสร้างบริเวณยับยั้ง 0.1 เซนติเมตร

รูปที่ 22 ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดิน M 14303 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค PD 5902 ซึ่งเชื้อราที่แยกได้จากดินสร้างบริเวณยับยั้ง 0.1 เซนติเมตร

จากการทดสอบปฏิสัมพันธ์ของเชื้อราที่แยกได้จากดิน C 18404 ที่สร้างทั้งเอนไซม์ไคติเนสและโปรติเอสกับเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคชนิดต่างๆ 21 สายพันธุ์ พบว่าเชื้อราที่แยกได้จากดิน C 18404 สามารถยับยั้งเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคได้โดยเชื้อราที่แยกได้จากดินมีกลไกควบคุมเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค ในลักษณะการทำลายชีวิต โดยเชื้อราที่แยกได้จากดินสร้างวงใส ซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคสายพันธุ์ PD 4913 ได้สูงสุด ให้ขนาดวงใสมากที่สุดเท่ากับ 0.6 เซนติเมตร รองลงมาคือ PD 4905 ให้ขนาดวงใสเท่ากับ 0.5 เซนติเมตร แสดงดังตารางที่ 11 ซึ่งปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดินสายพันธุ์ C 18405 กับเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค PD 5904, PD 4905 และ PD 4921 แสดงดังรูปที่ 23, 24 และ 25 ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 11 ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดินสายพันธุ์ C 18404 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคชนิดต่างๆ 21 สายพันธุ์

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

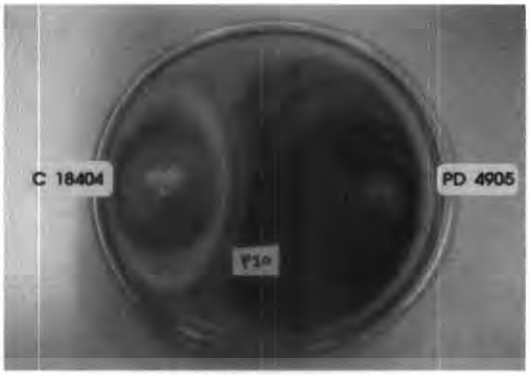
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 11 (ต่อ) ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดินสายพันธุ์ C 18404 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคชนิดต่างๆ 21 สายพันธุ์

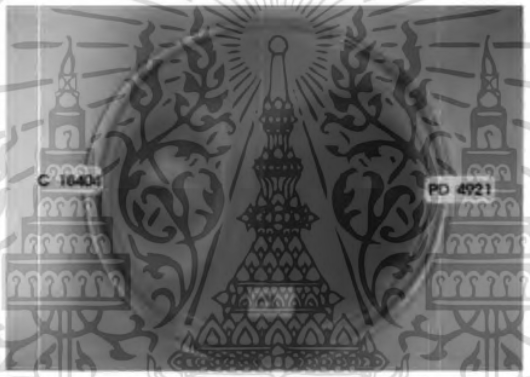
เชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค	เส้นผ่านศูนย์กลางเชื้อราที่แยกได้จากดิน (ซม.)		เส้นผ่านศูนย์กลางเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค (ซม.)		บริเวณยับยั้งของเชื้อราที่แยกได้จากดิน (ซม.)		หมายเหตุ
	วันที่ 4	วันที่ 7	วันที่ 4	วันที่ 7	วันที่ 4	วันที่ 7	
PD 5301	1.5	3.6	2.8	5.0	-	0.4	เชื้อราที่แยกได้จากดินสร้างบริเวณยับยั้ง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

รูปที่ 23 ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดิน C 18404 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค PD 5904 ซึ่งเชื้อราที่แยกได้จากดินสร้างบริเวณยับยั้ง 0.3 เซนติเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 24 ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดิน C 18404 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค PD 4905 ซึ่งเชื้อราที่แยกได้จากดินสร้างบริเวณยับยั้ง 0.5 เซนติเมตร



รูปที่ 25 ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดิน C 18404 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค PD 4921 ซึ่งเชื้อทั้งคู่ยับยั้งซึ่งกันและกันโดยสร้างบริเวณยับยั้ง

จากการทดสอบปฏิสัมพันธ์ของเชื้อราที่แยกได้จากดิน C 15305 ที่สร้างทั้งเอนไซม์ไคติเนสและโปรติเอสกับเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคชนิดต่างๆ 16 สายพันธุ์ พบว่า เชื้อราที่แยกได้จากดิน C 15305 สามารถยับยั้งเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคได้โดยเชื้อราที่แยกได้จากดินมีกลไกควบคุมเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค ในลักษณะการทำลายชีวิต โดยเชื้อราที่แยกได้จากดิน สร้างวงใส ซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคสายพันธุ์ PD 4410 และ PD 5003 ได้สูงสุด ให้ขนาดวงใสมากที่สุด เท่ากับ 0.3 เซนติเมตร รองลงมาคือ PD 4915, PD 5701, PD 5202 และ PD 6101 ให้ขนาดวงใสเท่ากับ 0.2 เซนติเมตร แสดงดังตารางที่ 12 ซึ่งปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดินสายพันธุ์ C 15305 กับเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค PD 4914, PD 6101 และ PD 5801 แสดงดังรูปที่ 26, 27 และ 28 ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 12 ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดินสายพันธุ์ C 15305 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคชนิดต่างๆ 16 สายพันธุ์

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

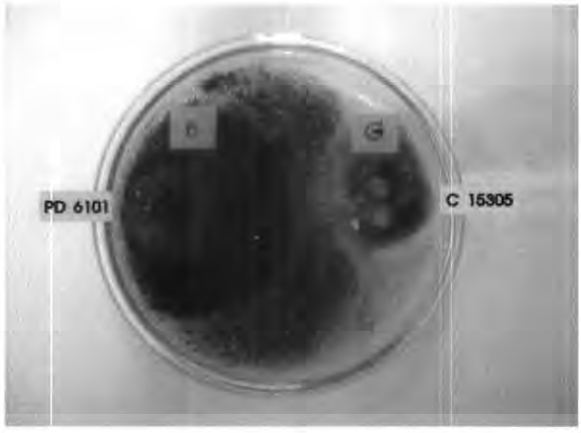
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 12 (ต่อ) ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดินสายพันธุ์ C 15305 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคชนิดต่างๆ 16 สายพันธุ์

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

รูปที่ 26 ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดิน C 15305 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค PD 4914 ซึ่งเชื้อราที่แยกได้จากดินสร้างบริเวณยับยั้ง 0.1 เซนติเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 27 ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดิน C 15305 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค PD 6101 ซึ่งเชื้อราที่แยกได้จากดินสร้างบริเวณยับยั้ง 0.2 เซนติเมตร

รูปที่ 28 ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดิน C 15305 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค PD 5801 ซึ่งเชื้อราที่แยกได้จากดินสร้างบริเวณยับยั้ง 0.1 เซนติเมตร

จากการทดสอบปฏิสัมพันธ์ของเชื้อราที่แยกได้จากดิน C 15304 ที่สร้างทั้งเอนไซม์ไคติเนสและโปรติเอสกับเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคชนิดต่างๆ 21 สายพันธุ์ พบว่า เชื้อราที่แยกได้จากดิน C 15304 สามารถยับยั้งเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคได้โดยเชื้อราที่แยกได้จากดินมีกลไกควบคุมเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค ในลักษณะการทำลายชีวิต โดยเชื้อราที่แยกได้จากดิน สร้างวงใส ซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคสายพันธุ์ PD 4905, PD 5102 และ PD 5003 ได้สูงสุด ให้ขนาดวงใสมากที่สุด เท่ากับ 0.5 เซนติเมตร รองลงมาคือ PD 4921 ให้ขนาดวงใสเท่ากับ 0.4 เซนติเมตร แสดงดังตารางที่ 13 ซึ่งปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดินสายพันธุ์ C 15304 กับเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค PD 5102, PD 6101 และ PD 5801 แสดงดังรูปที่ 29, 30 และ 31 ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 13 ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดินสายพันธุ์ C 15304 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคชนิดต่าง 21 สายพันธุ์

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

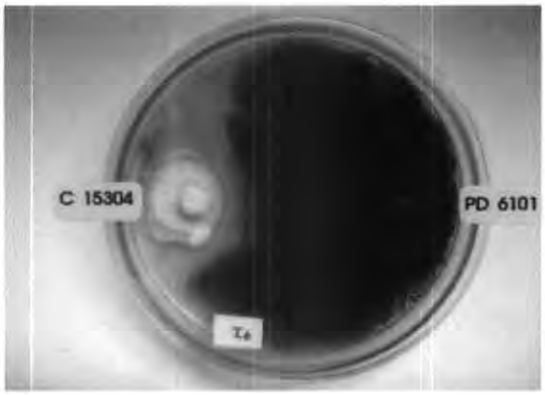
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 13 (ต่อ) ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดินสายพันธุ์ C 15304 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคชนิดต่าง 21 สายพันธุ์

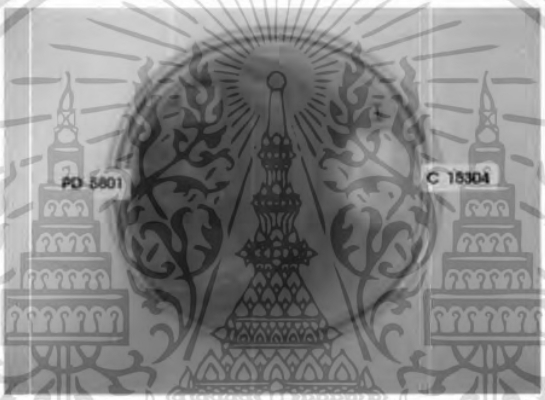
เชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค	เส้นผ่านศูนย์กลางเชื้อราที่แยกได้จากดิน (ซม.)		เส้นผ่านศูนย์กลางเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค (ซม.)		บริเวณยับยั้งของเชื้อราที่แยกได้จากดิน (ซม.)		หมายเหตุ
	วันที่ 4	วันที่ 7	วันที่ 4	วันที่ 7	วันที่ 4	วันที่ 7	
PD 4903	2.2	3.3	5.5	5.6	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์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

รูปที่ 29 ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดิน C 15304 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค PD 5102 ซึ่งเชื้อราที่แยกได้จากดินสร้างบริเวณยับยั้ง 0.5 เซนติเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 30 ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดิน C 15304 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค PD 6101 ซึ่งเชื้อราที่แยกได้จากดินสร้างบริเวณยับยั้ง 0.3 เซนติเมตร



รูปที่ 31 ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดิน C 15304 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค PD 5801 ซึ่งเชื้อราที่แยกได้จากดินสร้างบริเวณยับยั้ง 0.1 เซนติเมตร

จากการทดสอบปฏิสัมพันธ์ของเชื้อราที่แยกได้จากดิน C 14507 ที่สร้างทั้งเอนไซม์ไคติเนสและโปรติเอสกับเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคชนิดต่างๆ 19 สายพันธุ์ พบว่า เชื้อราที่แยกได้จากดิน C 14507 สามารถยับยั้งเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคได้โดยเชื้อราที่แยกได้จากดินมีกลไกควบคุมเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคในลักษณะการทำลายชีวิต โดยเชื้อราที่แยกได้จากดินสร้างวงใส ซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคสายพันธุ์ PD 5602, PD 5301 และ PD 4903 ได้สูงสุด ให้ขนาดวงใสมากที่สุด เท่ากับ 0.5 เซนติเมตร รองลงมาคือ PD 5201 และ PD 4913 ให้ขนาดวงใสเท่ากับ 0.4 เซนติเมตร แสดงดังตารางที่ 14 ซึ่งปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดินสายพันธุ์ C 14507 กับเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค PD 4911, PD 4806 และ PD 4903 แสดงดังรูปที่ 32, 33 และ 34 ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 14 ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดินสายพันธุ์ C 14507 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคชนิดต่างๆ 19 สายพันธุ์

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

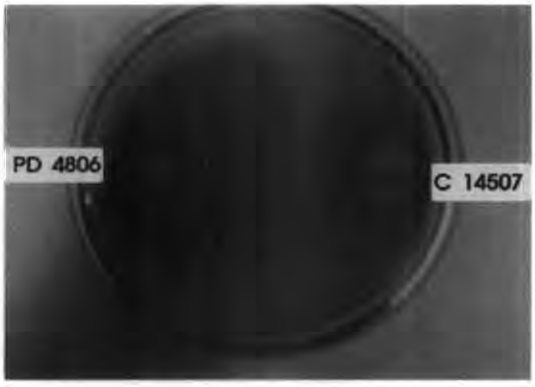
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 14 (ต่อ) ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดินสายพันธุ์ C 14507 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคชนิดต่างๆ 19 สายพันธุ์

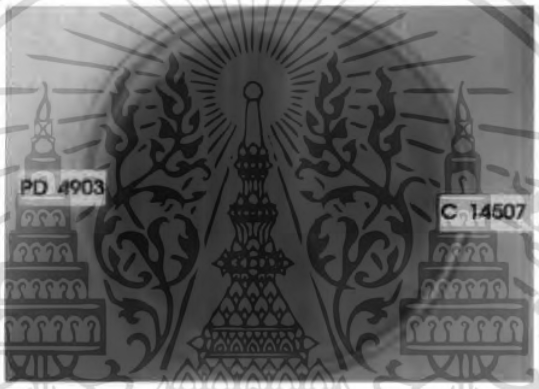
เชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค	เส้นผ่านศูนย์กลางเชื้อราที่แยกได้จากดิน (ซม.)		เส้นผ่านศูนย์กลางเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค (ซม.)		บริเวณยับยั้งของเชื้อราที่แยกได้จากดิน (ซม.)		หมายเหตุ
	วันที่ 4	วันที่ 7	วันที่ 4	วันที่ 7	วันที่ 4	วันที่ 7	
NA 5101	1.7	3.2	4.2	5.5	-	0.3	เชื้อราที่แยกได้จากดินสร้างบริเวณยับยั้ง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

รูปที่ 32 ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดิน C 14507 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค PD 4911 ซึ่งเชื้อราที่แยกได้จากดินสร้างบริเวณยับยั้ง 0.3 เซนติเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 33 ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดิน C 14507 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค PD 4806 ซึ่งเชื้อทั้งคู่ยับยั้งซึ่งกันและกันโดยสร้างบริเวณยับยั้ง



รูปที่ 34 ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดิน C 14507 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค PD 4903 ซึ่งเชื้อราที่แยกได้จากดินสร้างบริเวณยับยั้ง 0.5 เซนติเมตร

จากการทดสอบปฏิสัมพันธ์ของเชื้อรา *Chaetomium globosum* TISTR 3093 จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์ ที่สร้างทั้งเอนไซม์ ไคติเนสและโปรติเอส กับเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคชนิดต่างๆ 29 สายพันธุ์ พบว่าเชื้อราสายพันธุ์นี้ สามารถยับยั้งเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคได้ โดยมีกลไกควบคุมเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคในลักษณะการทำลายชีวิต โดยสร้างวงใส ซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคสายพันธุ์ PD 5904 และ PD 4903 ได้สูงสุด ซึ่งให้ขนาดวงใสมากที่สุด เท่ากับ 1.0 เซนติเมตร รองลงมาคือ PD 4908 ให้ขนาดวงใสเท่ากับ 0.9 เซนติเมตร แสดงดังตารางที่ 15 ซึ่งปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราสายพันธุ์ *Chaetomium globosum* TISTR 3093 กับเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค PD 5904, NA 5102 และ PD 5301 แสดงดังรูปที่ 35, 36 และ 37 ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 15 ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราสายพันธุ์ *Chaetomium globosum* TISTR 3093 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคชนิดต่างๆ 29 สายพันธุ์

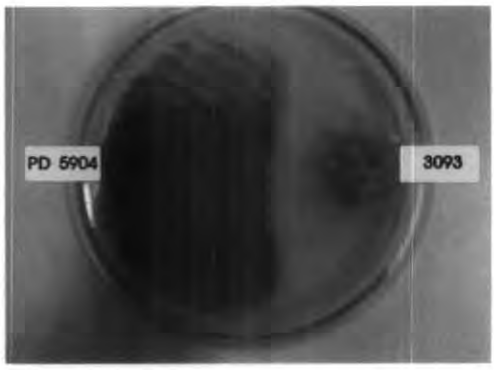
เชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค	เส้นผ่านศูนย์กลางเชื้อราที่แยกได้จากดิน (ซม.)		เส้นผ่านศูนย์กลางเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค (ซม.)		บริเวณยับยั้งของเชื้อราที่แยกได้จากดิน (ซม.)		หมายเหตุ
	วันที่ 4	วันที่ 7	วันที่ 4	วันที่ 7	วันที่ 4	วันที่ 7	
PD 4915	1.1	2.7	4.4	6.0	-	0.3	เชื้อราที่แยกได้จากดินสร้างบริเวณยับยั้ง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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

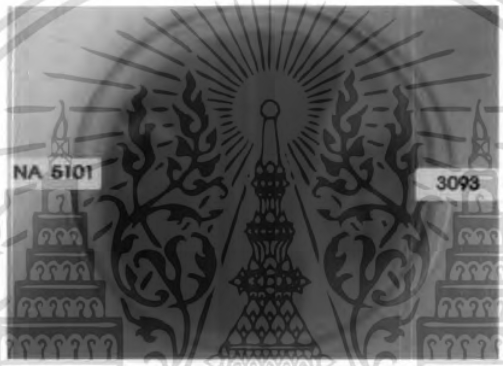
ตารางที่ 15 (ต่อ) ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราสายพันธุ์ *Chaetomium globosum* TISTR 3093 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคชนิดต่างๆ 29 สายพันธุ์

เชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค	เส้นผ่านศูนย์กลางเชื้อราที่แยกได้จากดิน (ซม.)		เส้นผ่านศูนย์กลางเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค (ซม.)		บริเวณยับยั้งของเชื้อราที่แยกได้จากดิน (ซม.)		หมายเหตุ
	วันที่ 4	วันที่ 7	วันที่ 4	วันที่ 7	วันที่ 4	วันที่ 7	
PD 6101	1.0	2.8	4.3	5.7	-	0.5	เชื้อราที่แยกได้จากดินสร้างบริเวณยับยั้ง 0.5 ซม.
PD 4921	1.0	1.5	3.3	4.8	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์
PD 5003	1.0	2.4	4.2	5.4	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์
PD 4903	1.0	2.6	3.9	5.4	-	1.0	เชื้อราที่แยกได้จากดินสร้างบริเวณยับยั้ง 1.0 ซม.
PD 5503	1.0	3.0	3.9	5.5	-	0.5	เชื้อราที่แยกได้จากดินสร้างบริเวณยับยั้ง0.5 ซม.
PD 4918	1.2	1.0	2.8	4.6	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์
PD 4913	0.9	3.1	3.0	5.9	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์
PD 4920	0.9	2.4	3.3	4.7	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์
PD 5801	2.0	3.5	4.0	5.5	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์
PD 5902	1.3	2.4	4.0	4.9	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์
PD 4922	1.4	2.2	3.5	5.2	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์
PD 5004	1.0	2.8	2.9	4.1	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์
PD 4908	1.5	3.0	3.8	5.1	-	0.9	เชื้อราที่แยกได้จากดินสร้างบริเวณยับยั้ง 0.9 ซม.
PD 5401	0.8	2.5	2.8	5.9	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



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



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

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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

ตารางที่ 16 ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราสายพันธุ์ *Acremonium* sp.TISTR 3283 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคชนิดต่างๆ 24 สายพันธุ์

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

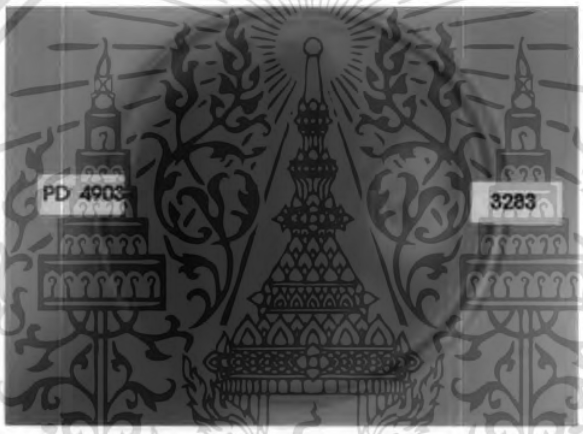
ตารางที่ 16 (ต่อ) ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราสายพันธุ์ *Acremonium* sp.TISTR 3283 และเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคชนิดต่างๆ 24 สายพันธุ์

เชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค	เส้นผ่านศูนย์กลางเชื้อราที่แยกได้จากดิน (ซม.)		เส้นผ่านศูนย์กลางเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค (ซม.)		บริเวณยับยั้งของเชื้อราที่แยกได้จากดิน (ซม.)		หมายเหตุ
	วันที่ 4	วันที่ 7	วันที่ 4	วันที่ 7	วันที่ 4	วันที่ 7	
PD 4922	1.4	3.1	3.8	5.9	-	-	เชื้อราที่แยกได้จากดินเจริญล้ำเข้าไปในเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืช ที่เป็นโรค
PD 5004	0.7	0.8	2.9	4.7	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์
PD 4412	0.5	0.7	3.0	4.1	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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



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

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 17 ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากดินชนิดต่างๆ 9 สายพันธุ์ และเชื้อราก่อโรคพืช สายพันธุ์ *Fusarium oxysporum* DOAC 0893

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

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

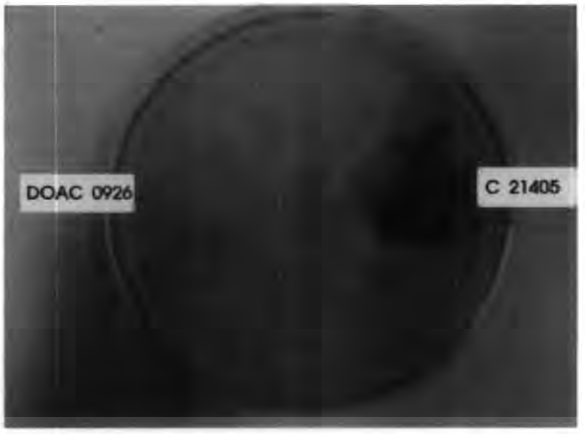
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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

ตารางที่ 18 ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราก่อโรคพืชสายพันธุ์ *Sclerotium rolfsii* DOAC 0926 และเชื้อราที่แยกได้จากดินชนิดต่างๆ 8 สายพันธุ์

เชื้อราที่แยกได้จากดิน	เส้นผ่านศูนย์กลาง เชื้อราที่แยกได้จากดิน (ซม.)		เส้นผ่านศูนย์กลางเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค (ซม.)		บริเวณยับยั้งของเชื้อราที่แยกได้จากดิน (ซม.)		หมายเหตุ
	วันที่ 4	วันที่ 7	วันที่ 4	วันที่ 7	วันที่ 4	วันที่ 7	
M 24404	1.5	2.4	7.5	6.6	-	-	เชื้อราก่อโรคพืชเจริญทับเชื้อราที่แยกได้จากดิน
C 22301	2.0	2.6	7.0	6.4	-	-	เชื้อราก่อโรคพืชเจริญทับเชื้อราที่แยกได้จากดิน
C 21405	1.6	3.1	5.0	5.9	-	-	เชื้อราก่อโรคพืชเจริญทับเชื้อราที่แยกได้จากดิน
C 18402	1.3	2.8	5.3	6.2	-	-	เชื้อราก่อโรคพืชเจริญทับเชื้อราที่แยกได้จากดิน
C 18404	2.3	3.2	2.4	3.9	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์
C 15305	0.9	1.4	3.2	3.4	-	-	ไม่พบปฏิสัมพันธ์
C 20402	1.0	1.8	6.0	7.2	-	-	เชื้อราก่อโรคพืชเจริญทับเชื้อราที่แยกได้จากดิน
C 14507	2.1	3.4	5.2	5.6	-	-	เชื้อราก่อโรคพืชเจริญทับเชื้อราที่แยกได้จากดิน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



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

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

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

ในกลุ่มของจุลินทรีย์สาเหตุโรคพืช เชื้อราจัดเป็นสาเหตุที่สำคัญที่ทำความเสียหายให้แก่พืชผลมากที่สุด มีเชื้อรามากกว่า 8,000 ชนิดที่เป็นสาเหตุโรคพืช และมีพืชชั้นสูงและหรือพืชผลทางการเกษตรเกิดโรค เนื่องจากเชื้อราไม่น้อยกว่า 100,000 โรค เชื้อราสามารถแพร่ระบาดไปตามที่ต่าง ๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ได้โดยติดไปกับซากพืชเป็นโรค เมล็ด ดิน ปุ๋ยคอก หรือวัสดุปลูกต่าง ๆ รวมทั้งแพร่ไปกับน้ำและปลิวไปกับลมได้ดี (http://www.forest.go.th/Ferd/ferdTHAI/pathology.html)

ในกระบวนการควบคุมโรคพืชโดยชีววิธีด้วยการใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์นั้น นอกจากการมีจุลินทรีย์ที่มีคุณภาพและประสิทธิภาพสูงแล้ว รูปแบบและวิธีการใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์นับเป็นปัจจัยสำคัญประการหนึ่งที่จะกำหนดความสำเร็จของการควบคุมโรคพืชโดยชีววิธีด้วยเช่นกัน วิธีการใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่ดีควรเป็นวิธีการที่ปฏิบัติได้ง่าย สะดวก รวดเร็ว สอดคล้องกับวิธีปฏิบัติทางเกษตรกรรม ไม่ส่งผลกระทบต่อความมีชีวิตของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ทั้งในระหว่างหรือหลังการใช้ และต้องสามารถพาจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ไปสู่บริเวณที่เชื้อโรคพืชปรากฏอยู่ หรือบริเวณส่วนของพืชที่เชื้อโรคพืชอาจจะเข้าทำลายได้นอกจากนี้วิธีการใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่เหมาะสม ควรมีส่วนสนับสนุนกิจกรรมต่าง ๆ ของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ได้ เช่น ส่งเสริมการเจริญ การเพิ่มปริมาณ และการเข้าทำลายหรือหยุดยั้งการเจริญของเชื้อโรคพืช ตลอดจนปัจจัยที่ช่วยให้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์มีโอกาสอยู่รอดในสภาพธรรมชาติได้ในปริมาณที่สูงอย่างไรก็ตาม วิธีการใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ควรมุ่งเน้นการใช้เพื่อการป้องกันการเกิดโรคมากกว่าการใช้เพื่อรักษา หรือเพื่อฟื้นฟูสภาพทรุดโทรมของต้นพืชอันเนื่องมาจากโรคพืช ดังนั้นวิธีการใด ๆ ก็ตามที่ช่วยให้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ได้มีโอกาสสัมผัสกับส่วนของพืชก่อนที่เชื้อโรคจะเข้าทำลายไม่ว่าพืชจะอยู่ในระยะกล้า ระยะกำลังเจริญเติบโต กำลังให้ผลผลิต จนถึงหลังการเก็บเกี่ยว แล้วจึงนับเป็นวิธีการที่ควรปฏิบัติ (จิรเดช, 2547)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาได้คัดเลือกเชื้อราที่สามารถผลิตเอนไซม์ไคติเนสและโปรติเอส จากดินแหล่งต่างๆ จำนวน 12 ไอโซเลต โดยใช้อาหาร CD-medium ที่มีคอลลอยดอลไคตินและหางนม เป็นแหล่งคาร์บอน และแหล่งไนโตรเจน ตามลำดับ พบว่าสายพันธุ์ที่สามารถผลิตเอนไซม์ไคติเนสและโปรดิเอส มีจำนวน 11 ไอโซเลต คือ M 24404, C 22301, C 21405, C 18402, M 14303, C18404 C15305, C 15304, C 14507, *Chaetomium globosum* TISTR 3093 และ *Acremonium* sp. TISTR 3283 หลังจากนั้นนำเชื้อราปฏิปักษ์ทั้ง 11 ไอโซเลต มาศึกษาปฏิสัมพันธ์กับเชื้อราก่อโรคพืช 30 ไอโซเลต และสายพันธุ์อ้างอิง 2 สายพันธุ์ พบว่าเชื้อราปฏิปักษ์ 11 ไอโซเลตมีกลไกควบคุมเชื้อก่อโรคพืชในลักษณะการแข่งขันและการทำลายชีวิต โดยเชื้อปฏิปักษ์จะเจริญล้ำเข้าไปในเชื้อก่อโรคพืช มีลักษณะคล้ายการเจริญทับเชื้อก่อโรคพืชและสร้างบริเวณยับยั้ง ได้แก่ เชื้อ M 24404, C 21405 และ TISTR No. 3283 และในลักษณะการทำลายชีวิต โดยเชื้อปฏิปักษ์สร้างบริเวณยับยั้งเชื้อก่อโรคพืช ได้แก่ เชื้อ C 22301, C 18402, M 14303, C 18404, C 15305, C 15304, C 14507 และ *Chaetomium globosum* TISTR 3093 ซึ่งมีลักษณะคล้าย *Trichoderma harzianum* ที่ถูกทำให้กลายพันธุ์เพื่อสร้างเอนไซม์โปรติเอสเพิ่มมากขึ้น เพื่อยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Fusarium culmorum* (Andras และคณะ, 2004)

แต่อย่างไรก็ตาม อาจกล่าวได้ว่าในการทำการทดลองขั้นนี้อาจจะยังไม่สามารถสรุปได้อย่างแน่นอนว่าเชื้อราสายพันธุ์ที่ทดสอบมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราก่อโรคพืชได้มากน้อยเพียงไร ซึ่งยังมีอีกหลายปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการยับยั้งเชื้อราก่อโรคพืช แต่งานวิจัยนี้เป็นการทดลองขั้นต้นที่นำเสนอถึงแนววิธีการประยุกต์ใช้ในการควบคุมโรคพืชทางชีวภาพ โดยใช้เชื้อราที่สามารถผลิตเอนไซม์ไคติเนสและโปรดิเอส มาผลิตยาปราบศัตรูพืชแทนการใช้สารเคมี ซึ่งมีผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมเป็นอย่างมาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

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

เกรียงไกร พรวิลาศสิริม ฉัตรชัย เจริญชุษณะ และนพพล บรรลือเขตร์. 2540. การคัดเลือกแบคทีเรียที่ผลิตเอนไซม์ย่อยไคติน. โครงงานพิเศษวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

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

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

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

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

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

วันทนีย์ อู่วาณิชย์ และจงรัก จารุเนตร. 2541. การควบคุมโรคเหี่ยวของอ้อย. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช และ ศูนย์วิจัยพืชไร่ระยอง กรมวิชาการเกษตร.

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สุวิตา แสไพศาล วีระศักดิ์ ศักดิ์ศิริรัตน์ และพรเทพ ถนนแก้ว. 2549. การตรวจสอบกิจกรรมของ Extracellular Degrading Enzymes ของเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* spp. ภาควิชาโรคพืช วิทยา คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น และ ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

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

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

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

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

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

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

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

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

Elad Y, Kapat A. 1999. The role of *Trichoderma harzianum* protease in the biocontrol of *Botrytis cinerea*. *Eur. J. Plant Pathol.* 105, 177-89.

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

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

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

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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

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

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

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

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

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

Suresh, PV. and Chandrasekharan, M. 1999. Impact of process parameters on chitinase production by alkalophilic marine *Beauveria bassiana* in solid-state fermentation. *Process Biochem.* 34, 257-67.

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

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

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

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

การเตรียมคอลลอยดอลไคติน (Roberts and Selirennikoff, 1998)

นำไคติน 50 กรัม เติมลงในกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น ปริมาตร 60 มิลลิลิตร กวนตลอดเวลาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นเติมสารละลายเอทธานอล เข้มข้นร้อยละ 95 ปริมาตร 2 ลิตร กวนตลอดเวลาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่งโมง นำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 5,000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้ว ปรับความเป็นกรดด่างเท่ากับ 7 จากนั้นนำไประเหยแห้งโดยวิธี Freeze dry

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้