รายงานการวิจัย

การคัดเลือกเชื้อราจากป่าพรุควนเคร็งที่สร้างเอนไซม์ที่มีประโยชน์ทางอุตสาหกรรม

Screening of Fungi from Kuankreng Peatland which Produce Extracellular Industrially Important Enzymes

สุมาลี เลี่ยมทอง
โสภนา วงศ์ทอง

ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากงบประมาณสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2556
มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช

รหัสโครงการ 2556A13602020

รายงานการวิจัย

การคัดเลือกเชื้อราจากป่าพรุควนเคร็งที่สร้างเอนไซม์ที่มีประโยชน์ทางอุตสาหกรรม

Screening of Fungi from Kuankreng Peatlands which Produce Extracellular Industrially Important Enzymes

สุมาลี เลี่ยมทอง
โสภนา วงศ์ทอง

ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากงบประมาณสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2556
มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยเรื่อง “การคัดเลือกเชื้อราจากป่าพรุควนเคร็งที่สร้างเอนไซม์ที่มีประโยชน์ทางอุตสาหกรรม” ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจาก สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ผู้วิจัยขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูง

ขอขอบคุณนางสาวจำเนียร กิ้วเส้ง ผู้ช่วยวิจัย นางสาวมันตราภรณ์ อ่อช้าย และนางสาวเกษสุดา คำนวณ นักศึกษาปริญญาตรี หลักสูตรจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช ที่มีส่วนร่วมในการทำงานวิจัย จนงานวิจัยชิ้นนี้สำเร็จสมบูรณ์

คณะผู้วิจัย
ธันวาคม 2557

ชื่อโครงการ การคัดเลือกเชื้อราจากป่าพรุควนเคร็งที่สร้างเอนไซม์ที่มีประโยชน์ทางอุตสาหกรรม
ผู้วิจัย สุมาลี เลี่ยมทอง
โสภนา วงศ์ทอง
ปีงบประมาณ 2556

บทคัดย่อ

การวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อคัดเลือกเชื้อราที่แยกได้จากพืช ดิน และน้ำ ในป่าพรุควนเคร็ง จังหวัดนครศรีธรรมราช ที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ที่มีประโยชน์ทางอุตสาหกรรม 7 ชนิด คือ อะไมเลส เซลลูเลส ไคติเนส แลคเคส ไลเปส โปรติเอส และไทโรซีเนส ผลการศึกษาพบว่า จากจำนวนเชื้อราทีแยกได้จากป่าพรุควนเคร็งทั้งหมด 1,013 ไอโซเลต สามารถคัดเลือกเชื้อราที่สามารถเจริญได้ดี โดยให้ค่าเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเมื่อเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar เป็นเวลา 7 วัน มากกว่าหรือเท่ากับ 5 เซนติเมตร ได้จำนวน 417 ไอโซเลต เมื่อนำเชื้อดังกล่าวไปทดสอบการสร้างเอนไซม์ ด้วยวิธี culture plate method วัดผลโดยการคำนวณหาค่า extracellular enzyme production ratio (EPR) ซึ่งเป็นค่าอัตราส่วนระหว่างเส้นผ่านศูนย์กลาง clear zone หรือ color zone ต่อค่าเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีเชื้อรา ผลการศึกษาพบว่ามีเชื้อรา 211 ไอโซเลต ที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ได้ 1 - 3 ชนิด ซึ่งเป็นเชื้อราที่สร้างเอนไซม์ 1 ชนิด มากที่สุด จำนวน 159 ไอโซเลต (38.1%) สร้างเอนไซม์ 2 ชนิด จำนวน 35 ไอโซเลต (8.4%) และสร้างเอนไซม์ 3 ชนิด (4.1%) จำนวน 17 ไอโซเลต เชื้อราป่าพรุที่นำมาทดสอบสามารถสร้างเอนไซม์เซลลูเลสได้มากที่สุด โดยมีเชื้อราที่สร้างเอนไซม์นี้ได้จำนวน 123 ไอโซเลต (29.5%) รองลงมาคือเอนไซม์ไลเปส ซึ่งมีเชื้อราที่สร้างได้จำนวน 80 ไอโซเลต (19.2%) มีเชื้อราป่าพรุจำนวน 40 (9.6%) และ 23 (5 5%) ไอโซเลต ที่สามารถสร้างเอนไซม์ไทโรซิเนสและเอนไซม์อะไมเลสได้ตามลำดับ เชื้อราป่าพรุสามารถสร้างโปรติเอสและแลคเคสได้น้อย โดยมีเชื้อราเพียง 18 (4.3%) และ 10 ไอโซเลต (2.4%) ที่สามารถสร้างเอนไซม์นี้ได้ ตามลำดับ และไม่มีเชื้อราป่าพรุใดที่สามารถสร้างเอนไซม์ไคติเนสได้

เมื่อนำเชื้อราจำนวน 7, 8 และ 28 ไอโซเลต ที่ให้ค่า EPR ในการทดสอบการสร้างเอนไซม์อะไมเลส เซลลูเลส และ ไลเปส เชื้อรา $\geq$ 2 และเชื้อราที่ให้ค่า EPR ในการทดสอบการสร้างเอนไซม์โปรติเอส แลคเคส และไทโรซิเนส สูงสุดจำนวนชนิดละ 5 ไอโซเลต ไปจำแนกชนิดโดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยา ผลการศึกษาพบว่า จากจำนวนเชื้อราที่นำมาจำแนก 53 ไอโซเลต พบเป็นเชื้อราที่มีการสร้างสปอร์และสามารถจำแนกชนิดได้จำนวน 43 ไอโซเลต อยู่ใน division Eumycota ใน sub-division Deuteromycotina โดยจัดเป็นเชื้อราในกลุ่ม Hyphomycetes จำนวน 42 ไอโซเลต ได้แก่ *Aspergillus* spp. (n=20), *Penicillium* spp. (n=9), *Trichoderma* spp. (n=7), *Fusarium* spp. (n=3), *Acremonium* spp. (n=2) และ *Paecilomyces* sp. (n=1) และเป็นเชื้อราใน sub-division Zygomycotina อยู่ในกลุ่ม Zygomycetes จำนวน 1 ไอโซเลต ได้แก่ *Gongronella* sp. นอกจากนั้นพบเชื้อราที่ไม่สร้างสปอร์ (mycelia sterilia) จำนวน 10 ไอโซเลต

เมื่อนำเชื้อราที่ให้ค่า EPR ในการทดสอบการสร้างเอนไซม์แต่ละชนิด สูงสุด 5 ไอโซเลตแรกมาจำแนกชนิดโดยอาศัยลักษณะทางชีวโมเลกุล ผลการศึกษาพบว่าให้ผลสอดคล้องกับผลจากการจำแนกด้วยวิธีการทางสัณฐานวิทยา

ผลจากการศึกษาในครั้งนี้แสดงให้เห็นว่า ป่าพรุควนเคร็งเป็นแหล่งของเชื้อราที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ที่มีประโยชน์ทางอุตสาหกรรม โดยเฉพาะอย่างยิ่งเอนไซม์ เซลลูเลส ไลเปส และอะไมเลส

Research Title: Screening of Fungi from Kuankreng Peatlands which Produce Extracellular Industrially Important Enzymes

Reserchers : Sumalee Liamthong
Sopana Wongtong

ABSTRACT

This study aim to screen for plant-, soil- and water-isolated fungi from Kuankreng Peatlands in Nakorn Si Thamarat province that can produce 7 types of useful industrial enzyme including amylase, cellulose, chitinase, laccase, lipase, protease and tyrosinase. The result show that, from totally 1,013 isolates of fungi, 417 isolates that show the diameter of growth at least 5 cm. in potato dextrose agar for 7 days were selected. The enzyme production of selected fungi was tested by culture plate method. The result of extracellular enzyme production ration (EPR) was determined by calculation of ratio between diameter of clear zone or color zone and diameter of fungal colony. Result found 211 isolates that can produce 1-3 types of enzyme, 159 isolates (38.1%) produce 1 enzyme, 35 isolates (8.4%) produce 2 enzymes and 17 isolates (4.1%) produce 3 enzymes. The most of the tested peatland fungi produce cellulase enzyme. The amount of fungi that produce this enzyme is 123 isolates (29.5%), follow by lipase from 80 isolates (19.2%), tyrosinase from 40 isolates (9.6%) and amylase from 23 isolates (5.5%). A few amounts of isolated fungi can produce protease and laccase with 18 (4.3%) and 10 isolates (2.4%), respectively, and all of the selected fungi can not produce chitinase enzyme.

The selected fungi of 7, 8 and 28 isolates that give EPR value ≥ 2 for amylase, cellulose, and lipase production and 5 isolated fungi showing highest EPR value for each protease, laccase and tyrosinase enzyme production were identified by their morphology. Result show that 43 from selected 53 isolates are sporulating fungi, 42 isolates can be classified into division Eumycota, sub-division Deuteromycotina, form-class Hyphomycetes including *Aspergillus* spp. (n=20), *Penicillium* spp. (n=9), *Trichoderma* spp. (n=7), *Fusarium* spp. (n=3), *Acremonium* spp. (n=2) and

Paecilomyces sp (n=1). One isolate was classified into sub-division Zygomycotina, class Zygomycetes which is *Gongronella* sp In addition, 10 isolates were found to be non-sporulating fungi (mycelia sterilia). Five isolates of fungi that show highest EPR value for each enzyme production were identified by biomolecular character and the result is consistent with morphological identification

The result of this study indicate that Kuan Kreng peatlands is the source of fungi that can produce useful industrial enzyme especially cellulase, lipase and amylase.

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อภาษาไทย	ข
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ง
สารบัญ	ฉ
สารบัญตาราง	ช
สารบัญตารางภาคผนวก	ซ
สารบัญภาพ	ฌ
สารบัญภาพภาคผนวก	ญ
บทที่ 1 บทนำ	1
ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
วัตถุประสงค์ของการวิจัย	2
ขอบเขตของการวิจัย	2
กรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย	3
คำสำคัญของการวิจัย	4
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	4
บทที่ 2 การทบทวนวรรณกรรม	5
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย	11
บทที่ 4 ผลการวิจัย	16
บทที่ 5 สรุป อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ	67
บรรณานุกรรม	51
ภาคผนวก	54
ภาคผนวก ก การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ	55
ภาคผนวก ข การเตรียมสารเคมี	59
ภาคผนวก ค เชื้อราป่าพรุที่ใช้ในการศึกษา	61
ภาคผนวก ง ผลการทดสอบการสร้างเอนไซม์	72
ภาคผนวก จ ผลการทดสอบการสร้างเอนไซม์ของเชื้อราที่แยกได้จากป่าพรุรวนเคร็ง	77

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
2.1	ชนิดของเอนไซม์ หน้าที่ และตัวอย่างการนำเอนไซม์ไปใช้ประโยชน์ทางอุตสาหกรรม	8
4.1	เชื้อราที่แยกได้จากป่าพรุควนเคร็งที่ใช้ในการศึกษา	17
4.2	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อราเมื่อเลี้ยงบนอาหาร PDA เป็นเวลา 7 วัน	18
4.3	เชื้อราที่สร้างเอนไซม์ 1 ชนิด	20
4.4	เชื้อราทีสร้างเอนไซม์ 2 ชนิด	23
4.5	เชื้อราที่สร้างเอนไซม์ 3 ชนิด	24
4.6	จำนวนเชื้อราที่สร้างเอนไซม์แต่ละชนิด	25
4.7	จำนวนเชื้อราทีมีประสิทธิภาพในการสร้างเอนไซม์	27
4.8	เชื้อราที่มีประสิทธิภาพในการสร้างเอนไซม์อะไมเลส	29
4.9	เชื้อราที่มีประสิทธิภาพในการสร้างเอนไซม์เซลลูเลส	31
4.10	เชื้อราที่มีประสิทธิภาพในการสร้างเอนไซม์ไลเปส	33
4.11	เชื้อราทีมีประสิทธิภาพในการสร้างเอนไซม์โปรติเอส	39
4.12	เชื้อราทีมีประสิทธิภาพในการสร้างเอนไซม์แลคเคส	40
4.13	เชื้อราทีมีประสิทธิภาพในการสร้างเอนไซม์ไทโรซิเนส	41
4.14	ชนิดของเชื้อราทีมีประสิทธิภาพในการสร้างเอนไซม์แต่ละชนิด	42
14.15	ชนิดของราป่าพรุที่สร้างเอนไซม์ทีมีประสิทธิภาพดี	46

สารบัญตารางภาคผนวก

ตารางที่		หน้า
ค.1	เชื้อราเอนโดไฟท์ที่แยกจากพืชในป่าพรุควนเคร็ง ที่มีขนาดโคโลนีมากกว่าหรือเท่ากับ 5 cm เมื่อเลี้ยงบนอาหาร PDA เป็นเวลา 7 วัน	62
ค.2	เชื้อราที่แยกจากดินในป่าพรุควนเคร็ง ทีมีขนาดโคโลนีมากกว่าหรือเท่ากับ 5 cm เมื่อเลี้ยงบนอาหาร PDA เป็นเวลา 7 วัน	63
ค.3	เชื้อราที่แยกจากน้ำในป่าพรุควนเคร็ง ที่มีขนาดโคโลนีมากกว่าหรือเท่ากับ 5 cm เมื่อเลี้ยงบนอาหาร PDA เป็นเวลา 7 วัน	65
ค.4	เชื้อราเอนโดไฟท์ที่แยกจากพืชในป่าพรุควนเคร็ง ที่มีขนาดโคโลนีน้อยกว่า 5 cm เมื่อเลี้ยงบนอาหาร PDA เป็นเวลา 7 วัน	66
ค.5	เชื้อราที่แยกจากดินในป่าพรุควนเคร็ง ที่มีขนาดโคโลนีน้อยกว่า 5 cm เมื่อเลี้ยงบนอาหาร PDA เป็นเวลา 7 วัน	68
ค.5	เชื้อราที่แยกจากน้ำในป่าพรุควนเคร็ง ที่มีขนาดโคโลนีน้อยกว่า 5 cm เมื่อเลี้ยงบนอาหาร PDA เป็นเวลา 7 วัน	70
จ.1	ผลการทดสอบการสร้างเอนไซม์ 7 ชนิด ของเชื้อราที่แยกจากดินในพื้นที่ป่าพรุควนเคร็ง	78
จ.2	ผลการทดสอบการสร้างเอนไซม์ 7 ชนิด ของเชื้อราที่แยกจากน้ำในพื้นที่ป่าพรุควนเคร็ง	92
จ.3	ผลการทดสอบการสร้างเอนไซม์ 7 ชนิด ของเชื้อราเอนโดไฟท์ที่แยกจากพืชในพื้นทีป่าพรุควนเคร็ง	98

สารบัญภาพ

ตารางที่		หน้า
2.1	ป่าพรุควนเคร็ง	5
4.1	เปอร์เซ็นต์ของเชื้อราที่แยกได้จากพืช ดิน และน้ำในป่าพรุควนเคร็งที่ใช้ในการศึกษา	16
4.2	เปอร์เซ็นต์ของเชื้อราที่มีขนาดโคโลนีมากกว่าหรือเท่ากับ 5 cm เมื่อเลี้ยงบนอาหาร PDA เป็นเวลา 7 วัน ที่นำไปทดสอบการสร้างเอนไซม์	18
4.3	เปอร์เซ็นต์ของเชื้อราที่สร้างและไม่สร้างเอนไซม์	19
4.4	จำนวนชนิดของเอนไซม์ที่เชื้อราสร้าง	19
4.5	เปอร์เซ็นต์ของเชื้อราป่าพรุที่สร้างเอนไซม์แต่ละชนิด	26
4.6	จำนวนไอโซเลตของเชื้อราที่มีประสิทธิภาพในการสร้างเอนไซม์แต่ละชนิด	64

สารบัญภาพภาคผนวก

ภาพที่		หน้า
1	เชื้อราที่สร้างเอนไซม์เซลลูเลสได้	73
2	เชื้อราที่สร้างเอนไซม์อะไมเลสได้	73
3	เชื้อราที่สร้างเอนไซม์แลคเคสได้	74
4	เชื้อราที่สร้างเอนไซม์ไลเปสได้	74
5	เชื้อราที่สร้างเอนไซม์โปรติเอสได้	75
6	เชื้อราที่สร้างเอนไซม์ไทโรซิเนสได้	75
7	อาหารทดสอบเอนไซม์ไคติเนส	76

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญและความสำคัญของปัญหา

พรุควนเคร็งเป็นป่าพรุที่ตั้งอยู่ในเขตรอยต่อของพื้นที่ 3 จังหวัด คือจังหวัดนครศรีธรรมราช พัทลุง และสงขลา ที่มีเนื้อที่ประมาณ 195,545 ไร่ มีขนาดใหญ่เป็นอันดับ 2 รองจากพรุโต๊ะแดง บริเวณดังกล่าวเคยเป็นป่าดิบชื้นที่อุดมสมบูรณ์มาก่อน (สมบูรณ์และคณะ, 2545) แต่ในปัจจุบันพบว่าความอุดมสมบูรณ์ของระบบนิเวศน์ในป่าพรุลดลงเป็นอย่างมาก (ปิติวงษ์ และคณะ, 2545) ดินและน้ำบริเวณดังกล่าวมีค่าความเป็นกรดสูง มีค่า pH อยู่ระหว่าง 4-5 อันเป็นผลสืบเนื่องมาจากปัญหาไฟไหม้ป่าและการท่วมขังของน้ำในป่าพรุเป็นเวลานาน (สมบูรณ์และคณะ, 2545; อาแวและคณะ, 2546, และปิติวงษ์และคณะ, 2547)

เชื้อราเป็นจุลินทรีย์ที่พบมากในป่าพรุ นอกจากจะมีบทบาทสำคัญในการหมุนเวียนแร่ธาตุในพื้นที่ป่าพรุ โดยช่วยย่อยสลายซากอินทรีย์วัตถุต่าง ๆ เช่น ใบไม้ กิ่งไม้ และส่วนต่างๆ ของพืช และสัตว์ ให้กลายเป็นอนินทรีย์วัตถุให้พืชในพื้นที่ป่าพรุนำไปใช้ได้แล้ว ภายใต้สภาวะแวดล้อมในป่าพรุที่มีน้ำขังอยู่เกือบตลอดเวลา และสภาพของดินและน้ำที่มีความเป็นกรดสูง (Pinruan *et al.*, 2007) เชื้อรายังต้องมีการปรับตัว โดยการสร้างเอนไซม์หรือสร้างสารทุติยภูมิที่สามารถยับยั้งจุลินทรีย์ชนิดอื่นเพื่อให้เชื้อราสามารถแข่งขันกับจุลินทรีย์ชนิดอื่น และสามารถอยู่รอดได้ภายใต้สภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมนี้ได้ โดยเอนไซม์หรือสารทุติยภูมิที่เชื้อราสร้างขึ้นบางชนิดมีศักยภาพดี สามารถนำไปใช้ประโยชน์ในทางการแพทย์ การเกษตร และการอุตสาหกรรมได้

จากโครงการวิจัยการคัดเลือกราเอนโดไฟท์ที่ผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากพืชในพื้นที่ป่าพรุควนเคร็ง และโครงการวิจัยผลกระทบของไฟป่าต่อความหลากหลายของเชื้อราและสาหร่ายในพื้นที่ป่าพรุควนเคร็ง พบว่า สามารถแยกเชื้อราจากพืช ดิน และน้ำในบริเวณป่าพรุควนเคร็งได้มากกว่า 1,000 ไอโซเลต โดยมีเชื้อราหลายไอโซเลตที่สามารถสร้างสารออกฤทธิ์ที่มีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ได้หลายชนิด ที่อาจจะนำไปพัฒนาเป็นยารักษาโรคติดเชื้อได้ในอนาคต ผู้วิจัยคาดว่าเชื้อราบางไอโซเลตที่แยกได้น่าจะมีการสร้างเอนไซม์ที่มีประโยชน์ในทางอุตสาหกรรม การศึกษาในครั้งนี้ผู้วิจัยจึงมุ่งที่จะคัดเลือกเชื้อราจากป่าพรุควนเคร็ง ที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ที่มีประโยชน์ทางอุตสาหกรรม 7 ชนิด คือ อะไมเลส เซลลูเลส ไคติเนส แลคเคส ไลเปส โปรติเอส และไทโรซิเนส ซึ่งนอกจากจะเป็นแนวทางในการเพิ่มมูลค่าให้กับทรัพยากรธรรมชาติในป่าพรุแล้ว ยังจะเป็นประโยชน์ในการอนุรักษ์สายพันธุ์เชื้อราให้คงอยู่ต่อไปในอนาคต

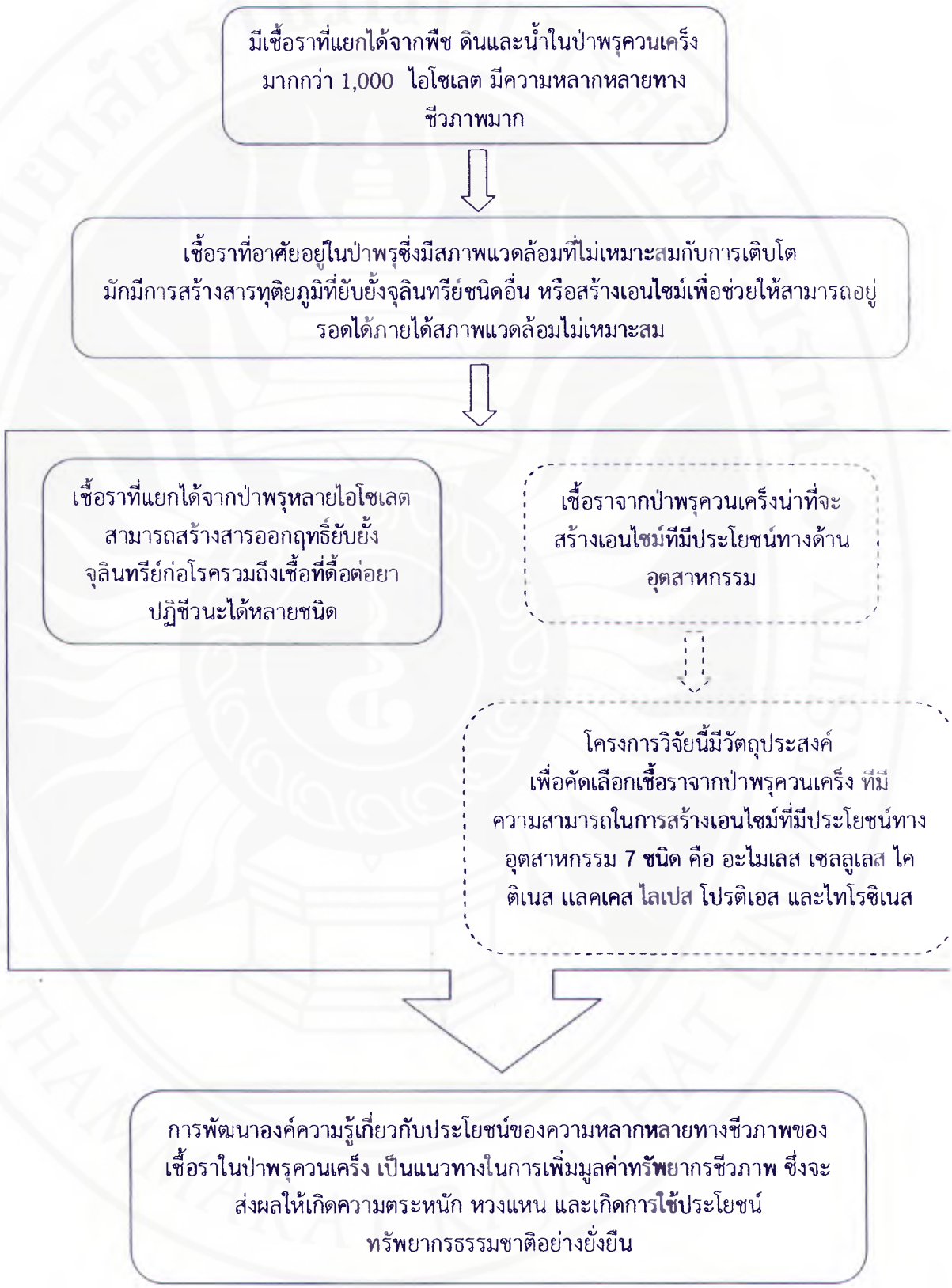
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อคัดเลือกเชื้อราที่แยกได้จากพืช ดิน และน้ำในป่าพรุควนเคร็งที่มีความสามารถสร้างเอนไซม์ที่มีประโยชน์ทางอุตสาหกรรม 7 ชนิด
2. เพื่อจำแนกชนิดของเชื้อราที่มีประสิทธิภาพในการสร้างเอนไซม์ดี
3. เพื่ออนุรักษ์สายพันธุ์ของเชื้อราในป่าพรุ

1.3 ขอบเขตของการวิจัย

นำเชื้อราที่แยกได้จากพืช ดิน และน้ำ ในป่าพรุควนเคร็ง จำนวน 1,013 ไอโซเลต ไปเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato dextrose agar (PDA) เป็นเวลา 7 วัน นำเชื้อราที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีมากกว่าหรือเท่ากับ 5 เซนติเมตร ไปตรวจหาการสร้างเอนไซม์ที่มีประโยชน์ทางอุตสาหกรรม 7 ชนิด คือ อะไมเลส เซลลูเลส ไคติเนส แลคเคส ไลเปส โปรติเอส และไทโรซิเนส จากนั้นนำเชื้อราที่มีประสิทธิภาพในการสร้างเอนไซม์แต่ละชนิดไปจำแนกชนิด โดยศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและเทคนิคทางชีวโมเลกุล และเก็บรักษาสายพันธุ์ของเชื้อราในป่าพรุ

1.4 กรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย



1.5 คำสำคัญของการวิจัย

รา (fungi), ป่าพรุ (peatlands), เอนไซม์ (enzymes), อะไมเลส (amylase), เซลลูเลส (cellulase), ไคติเนส (chitinase) , แลคเคส (laccase), ไลเปส (lipase), โปรตีเอส (protease) ไทโรซิเนส (tyrosinase)

1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. สามารถคัดเลือกเชื้อราจากป่าพรุควนเคร็งที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ที่ประโยชน์ทางด้านอุตสาหกรรมได้

2. ทราบชนิดของราที่ผลิตเอนไซม์ที่มีศักยภาพที่ดี

3. อนุรักษ์สายพันธุ์ราที่คัดแยกได้สำหรับการศึกษาวิจัย และการตรวจกรองหาเอนไซม์หรือสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพอื่นที่อาจมีประโยชน์ทางด้านการแพทย์ เกษตรกรรม และอุตสาหกรรมต่อไป

บทที่ 2

การทบทวนวรรณกรรม

2.1 ป่าพรุควนเคร็ง

ป่าพรุจัดเป็นป่าดงดิบ สังคมพืชที่ประกอบด้วยพรรณไม้เขียวชอุ่มตลอดปี เป็นป่าที่มีน้ำขังอยู่เสมอ พบมากในภาคใต้ที่ระดับน้ำทะเล มีฝนตกชุก ดินชั้นล่างเป็นกรด มีการสะสมของซากพืชและอินทรียวัตถุจะเกิดขึ้นต่อเนื่องกันในสภาวะน้ำท่วมขัง ลักษณะที่เป็นเอกลักษณ์ของป่าพรุนี้จะแตกต่างจากป่าดิบชื้นในเขตร้อนต่างๆ ป่าพรุจึงเป็นเป็นแหล่งรวบรวมความหลากหลายทางชีวภาพ ในภาคใต้ป่าพรุควนเคร็งจัดเป็นป่าพรุที่มีขนาดใหญ่รองจากพรุโต๊ะแดง จ. นราธิวาส มีพื้นที่รวมประมาณ 223,320 ไร่ (ปิติวงษ์ และคณะ, 2547) พืชพรรณในป่าพรุ เดิมมีไม้จำพวก หว้า เตียว จิก เสม็ด กระจูด กก จิระศักดิ์ และคณะ (2542) ศึกษาการกระจายของป่าพรุในประเทศไทยโดยใช้แผนที่และภาพถ่ายจากดาวเทียม และจัดจำแนกป่าพรุตามลักษณะป่าได้เป็น 2 ประเภท ได้แก่ ป่าพรุดั้งเดิม และป่าพรุเปลี่ยนสภาพ โดยพื้นที่ป่าพรุในจังหวัดนครศรีธรรมราชทั้งหมดมีพื้นที่ 118,412.51 ไร่ อยู่ในเขต 4 อำเภอ ได้แก่ อ.ชะอวด อ.เชียรใหญ่ อ.ร่อนพิบูลย์ และ อ.หัวไทร สภาพพื้นที่มีลักษณะเป็นร่องน้ำ และป่าไม้พุ่มกระจายอยู่ทั่วไป (ภาพที่ 2.1) มีลักษณะเป็นป่าพรุเปลี่ยนสภาพ พบไม้เสม็ดขาวขึ้นแทนที่พืชดั้งเดิม จึงนิยมเรียกป่าพรุว่าป่าเสม็ด

ภาพที่ 2.1 ป่าพรุควนเคร็ง

2.2 เชื้อราในป่าพรุ

เชื้อราเป็นจุลินทรีย์ที่พบมากในป่าพรุ โดยมีบทบาทสำคัญที่เกี่ยวข้องกับการย่อยสลายสารอินทรีย์ในสภาพแวดล้อมที่มีความเป็นกรด (Latter *et al.*, 1967; William and Crawford, 1983, Andersen *et al.*, 2006)

เชื้อราในป่าพรุมีความหลากหลายทางชีวภาพเป็นอย่างมาก ดังจะเห็นได้จากการรายงานของ Thromann and Adrianne (2007) ที่รายงานว่า จนถึงปี 2007 ทั่วโลกมีการพบเชื้อราในป่าพรุทั้งสิ้น 601 สปีชีส์ โดยเชื้อรา ascomycetes เป็นเชื้อรากลุ่มใหญ่ที่สุด จำนวน 276 สปีชีส์ (46%) รองลงมา คือ basidiomycetes (243 สปีชีส์, 40%), zygomycetes (55 สปีชีส์, 9%) และ chytridiomycetes (26 species, 4%) เชื้อราจีนัสที่มีจำนวนสปีชีส์มากที่สุด ได้แก่ *Pennicillium* (48 สปีชีส์) *Galerina* (48 สปีชีส์) และ *Mortierella* (20 สปีชีส์) เชื้อรา 20 จีนัสที่พบได้บ่อยที่สุด มีจำนวน 252 สปีชีส์ ซึ่งคิดเป็น 42% ของจำนวนเชื้อราที่พบทั้งหมด เชื้อราที่พบส่วนใหญ่จัดเป็นเชื้อราในกลุ่ม saprobes ที่มีความสำคัญในการย่อยสลายสารอินทรีย์ในป่าพรุ

สำหรับในประเทศไทย มีผู้วิจัยหลายคณะ ที่ทำการศึกษาความหลากหลายทางชีวภาพของเชื้อราในป่าพรุ ซึ่งส่วนใหญ่เป็นการศึกษาในป่าพรุสิริธรและป่าพรุควนเคร็ง แล้วพบว่าเชื้อราในป่าพรุของประเทศไทย มีความหลากหลายทางชีวภาพเป็นอย่างมาก ตัวอย่างของการศึกษาดังกล่าวได้แก่

วสันณ์ (2544) ทำการศึกษาชนิดและปริมาณเชื้อราที่สร้าง zoospore ในป่าพรุสิรินธร จังหวัดนราธิวาส โดยการเก็บตัวอย่างน้ำภายในป่าพรุและคลองรอบ ๆ ป่าพรุ นำมาแยกเชื้อโดยใช้เหยื่อล่อ ได้แก่ เมล็ดข้าวฟ่าง คราบงู ปีกของปลวก และใบหญ้า พบว่าเชื้อราที่พบปริมาณมากส่วนใหญ่อยู่ในสกุล *Achlya* และ *Aphanomyces* ส่วนราชนิดอื่นพบไม่มากนัก ได้แก่ unidentified Chytrids, *Pythium, Phytophthora, Pythiogeton, Dictyuchus, Olpidiopsis, Plectospira, Sapromyces* และ *Saprolegnia* นอกจากนั้นยังได้เก็บตัวอย่างพืชที่เป็นโรคมาศึกษาหาเชื้อสาเหตุ พบเชื้อราสร้าง zoospore จำนวน 4 ชนิด ที่ก่อให้เกิดโรคกับพืชภายในพรุและรอบๆ พรุ คือ *Albugo ipomoeae-aquatica* (โรคราสนิมขาว), *Phytophthora colocasiae* (โรคใบไหม้), *Pseudoperonospora cubensis* (โรคราน้ำค้าง) และ *Synchytrium psophocarpi* (โรคราสนิมเทียม) ซึ่งพบว่าส่วนใหญ่เป็นเชื้อราในสกุล *Achlya, Aphanomyces* และพวก *Pythiaceae*

กาเร็ท (2545) ศึกษาการเจริญของเชื้อราบนปาล์มในป่าพรุสิรินธร จังหวัดนราธิวาส เพื่อเปรียบเทียบความหลากหลายของเชื้อราที่ได้มีการศึกษาไว้จากปาล์มในแหล่งอื่นๆ ของโลก ปาล์มที่เลือกมาศึกษาคือ กระพ้อแดง (*Licuala longecalycata*) และหลุมพี (*Eleiodoxa conferta*) พบเชื้อราทั้งสิ้นประมาณ 65 ชนิด และมีเชื้อราชนิดใหม่ของโลกหลายตัว เช่น *Stachybotrys palmae, Craspedodidymum siamense, Dictyosporium palmae, Vanakripa minutellipsoidea* และ *Chalara siamense*

ฐิติยา (2547) ทำการศึกษาความหลากหลายของเชื้อรา ascomycetes และ mitosporic fungi ในป่าพรุสิรินธร จังหวัดนราธิวาส โดยเก็บตัวอย่างใบ ก้านใบ และผลของพืชวงศ์ปาล์มจำนวน 12 ชนิด จากส่วนที่ติดอยู่บนต้นและจากส่วนที่ร่วงหล่นจมอยู่ใต้น้ำภายในป่าพรุ จากตัวอย่างพืชได้ทั้งหมด 340 ตัวอย่าง พบเชื้อราทั้งหมด 111 ชนิด ได้แก่ ascomycetes 38 ชนิด และ mitosporic fungi 73 ชนิด

เพ็ญพร (2548) ได้ทำการตรวจนับสปอร์ของเชื้อราในตัวอย่างฟอง ซึ่งเก็บจากประตูระบายน้ำ 5 แห่งรอบป่าพรุสิรินธร จังหวัดนราธิวาส โดยเชื้อราที่พบจำแนกได้ 5 สกุล ได้แก่ *Helicomyces, Helicosporium, Sporidesmium, Tetraploac* และ *Tricelophorus* นอกจากนี้ได้เก็บตัวอย่างใบไม้ที่จมอยู่ในน้ำป่าพรุสิรินธรและแยกเชื้อราโดยวิธี dilution plate พบเชื้อรา 38 สายพันธุ์ เชื้อราที่จำแนกได้ ได้แก่ *Aspergillus* spp., *Penicillium* sp., *Trichoderma* sp. และ *Scytalidea* sp. เชื้อราส่วนใหญ่ไม่สามารถจำแนกชนิดได้ เนื่องจากเชื้อราไม่สร้างสปอร์ รวมทั้งได้มีการศึกษาเชื้อราที่ขึ้นอยู่บนเศษซากพืชต่าง ๆ โดยเก็บใบ กิ่ง และผลของพืชที่ร่วงหล่น และจมอยู่ใต้น้ำในป่าพรุสิรินธร ซึ่งได้เก็บตัวอย่างทั้งหมด 408 ตัวอย่าง พบเชื้อรา Hyphomycetes จำนวน 87 ชนิด

Pinnoi *et al.* (2006) ศึกษาเชื้อราบนปาล์ม *Eleiodoxa conferta* ในป่าพรุสิรินธร พบเชื้อราจำนวน 112 taxa ซึ่งส่วนใหญ่เป็นเชื้อราในกลุ่ม ascomycetes

สุมาลีและแน่งน้อย (2555) ทำการศึกษาฤทธิ์ของราเอนโดไฟท์จำนวน 304 ไอโซเลต ที่แยกได้จากพืชที่ขึ้นในป่าพรุควนเคร็งในการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคในคน 7 ชนิด ผลการทดสอบพบว่ามีเชื้อราจำนวน 91 ไอโซเลต (29.9%) ที่มีน้ำเลี้ยงเชื้อราที่สามารถยับยั้งจุลินทรีย์ทดสอบอย่างน้อย 1 ชนิด เมื่อนำน้ำเลี้ยงเชื้อราและเส้นใยราที่มีฤทธิ์ในการทดสอบน้ำเลี้ยงเชื้อไปสกัดสารด้วยตัวทำละลาย แล้วนำมาทดสอบฤทธิ์กับจุลินทรีย์ที่ถูกยับยั้งจากการทดสอบกับน้ำเลี้ยงเชื้อรา พบว่ามีสารสกัดจำนวน 360 สารจากสารสกัดหยาบทั้งหมด 366 สาร (98.3%) จากเชื้อราเอนโดไฟท์จำนวน 91 ไอโซเลต ที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ที่ระดับความเข้มข้น ≤ 200 µg/ml เมื่อนำเชื้อราดังกล่าวมาจำแนกโดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยา พบว่า เป็นเชื้อราที่มีเส้นใยแบบมีผนังกั้น ไม่พบโครงสร้างการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ จัดอยู่ใน division Eumycota ใน subdivision Deuteromycotina โดยจัดเป็นเชื้อราในกลุ่ม Hyphomycetes 72 ชนิด ได้แก่ *Acremonium* sp., *Aspergillus niger*, *Aspergillus* spp., *Curvularia* sp , *Fusarium* spp., *Geotrichum* sp , *Paecilomyces* spp , *Penicillium* spp. และ *Trichoderma* spp. เป็นเชื้อราในกลุ่ม Coelomycetes 1 ชนิด ได้แก่ *Pestalotopsis* sp. เป็นเชื้อรา unidentified species 7 ชนิด และ sterile hyphae 11 ชนิด

โสภนาและมัณฑกา (2555) ศึกษาผลกระทบของไฟป่าต่อความหลากหลายทางชีวภาพของเชื้อราบริเวณพื้นที่ป่าพรุควนเคร็ง โดยเก็บตัวอย่างดินและน้ำจำนวน 7 จุด ครอบคลุมพื้นที่ที่ได้รับผลกระทบจากไฟป่าและพื้นที่ที่ไม่ได้รับผลกระทบจากไฟป่า ผลจากการศึกษาพบว่า ปริมาณเชื้อราในดินมีค่าระหว่าง 2.124×10^4 - 1.24×10^5 CFU/g และมีค่าดัชนีความหลากหลาย Shanon-Wiener Index (Hζ) 0.539-1.136 โดยพื้นที่ที่ไม่ได้รับผลกระทบจากไฟป่ามีค่า Hζ สูงสุด (1.136) และเชื้อราที่แยกได้ในดินมีทั้งหมด 35 genus โดยพบเชื้อราในพื้นที่ที่ได้รับผลกระทบจากไฟป่า 9 genus เชื้อราในพื้นที่ที่ไม่ได้รับผลกระทบจากไฟป่า 29 genus เชื้อบางชนิดพบได้ทุกจุดเก็บตัวอย่าง เช่น *Aspergillus* spp., *Gongronella* sp , *Penicillium* spp และ *Trichoderma* spp. บางชนิดพบบางจุด เช่น *Tritirachium* sp

2.3 เอนไซม์จากเชื้อรา

เชื้อราจัดเป็นแหล่งสำคัญในการผลิตเอนไซม์ โดยส่วนใหญ่เชื้อราสามารถสร้างเอนไซม์ออกมาภายนอกเซลล์ (extracellular enzyme) เพื่อเร่งปฏิกิริยาย่อยสลายสารประกอบโมเลกุลใหญ่ ๆ ที่มีลักษณะโครงสร้างทางเคมีที่สลับซับซ้อนและไม่ละลายน้ำ เช่น เซลลูโลสและลิกนิน เพื่อย่อยวัสดุนั้นให้เป็นโมเลกุลเล็ก ๆ ที่สามารถละลายน้ำได้และนำเข้าสู่เซลล์ได้ (Kathiresan and Bingham, 2001) ดังนั้นเชื้อราจึงเป็นแหล่งของเอนไซม์ที่สำคัญหลายชนิด

เอนไซม์ที่สร้างจากเชื้อรามีความสำคัญมากทั้งในด้านการเกษตร อุตสาหกรรม และการสาธารณสุข เนื่องจากเอนไซม์ที่สร้างจากเชื้อราโดยส่วนใหญ่มีความคงทนต่ออุณหภูมิที่สูง หรือที่ค่า pH ที่เป็นกรดหรือด่างมาก ๆ ได้ดีกว่าเอนไซม์ที่สร้างจากพืชหรือสัตว์ (Maria *et al.*, 2005) มีการนำเอนไซม์ที่สร้างจากเชื้อราไปใช้ในอุตสาหกรรมหลายชนิด เช่น อุตสาหกรรมการผลิตอาหาร เครื่องดื่ม ขนมหวาน อุตสาหกรรมการทอ อุตสาหกรรมเครื่องหนัง อุตสาหกรรมผงซักฟอก เป็นต้น (Ghorai *et al.*, 2009) สำหรับการศึกษาในครั้งนี้จะศึกษาเอนไซม์ที่มีประโยชน์ทางอุตสาหกรรม 7 ชนิด คือ เอนไซม์อะไมเลส เซลลูเลส ไคติเนส แลคเคส ไลเปส โปรติเอส และไทโรซิเนส ซึ่งมีหน้าที่และตัวอย่างการนำไปเอนไซม์ดังกล่าวไปใช้ประโยชน์ทางอุตสาหกรรมดังแสดงในตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 ชนิดของเอนไซม์ หน้าที่ และตัวอย่างการนำเอนไซม์ไปใช้ประโยชน์ทางอุตสาหกรรม

ชนิดของเอนไซม์	หน้าที่	ตัวอย่างการนำไปใช้ประโยชน์ทางอุตสาหกรรม
Amylase	ย่อยแป้ง	อุตสาหกรรมการผลิตน้ำเชื่อมกลูโคส ลูกกวาด เครื่องดื่มที่มีแอลกอฮอล์ อุตสาหกรรมการหมักที่ใช้แป้งเป็นวัตถุดิบ อุตสาหกรรมผงซักฟอก อุตสาหกรรมกระดาษ
Cellulase	ย่อยเซลลูโลส	อุตสาหกรรมการผลิตอาหารและน้ำผลไม้ อุตสาหกรรมการผลิตปุ๋ย อุตสาหกรรมการผลิตอาหารสัตว์
Chitinase	ย่อยไคติน	อุตสาหกรรมการผลิตอาหารสัตว์
Laccase	ย่อยลิกนิน	อุตสาหกรรมอาหาร อุตสาหกรรมการผลิตกระดาษ อุตสาหกรรมการสิงทอ อุตสาหกรรมการบำบัดน้ำเสีย อุตสาหกรรมการผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพ อุตสาหกรรมเครื่องสำอาง
Lipase	ย่อยไขมัน	อุตสาหกรรมการผลิตเนยแข็ง
Protease	ย่อยโปรตีน	อุตสาหกรรมการแปรรูปเนื้อสัตว์ ซอสปรุงรส น้ำปลา ไวน์ เบียร์ อุตสาหกรรมผงซักฟอก
Tyrosinase	การสร้างเมลานิน ช่วยย่อยลิกนิน	การแพทย์ สร้างสารป้องกันการเกิดมะเร็งผิวหนัง การผลิตกระดาษ

มีคณะผู้วิจัยหลาย ๆ คณะ ได้ทำการศึกษาการสร้างเอนไซม์ของเชื้อรา ตัวอย่างของการศึกษาดังกล่าวได้แก่

บุณฑริก (2548) คัดแยกเชื้อราเจริญที่อุณหภูมิสูง ที่สามารถสร้างเอนไซม์เซลลูเลสจากดินและเศษซากพืชที่เกิดจากการย่อยสลาย ในจังหวัดพิษณุโลกและจังหวัดพิจิตร สามารถแยกเชื้อราได้ 359 ไอโซเลต จาก 160 ตัวอย่าง พบว่า เชื้อราสายพันธุ์ D2 สามารถผลิตเอนไซม์เบต้ากลูโคซิเดสที่อุณหภูมิ 40, 45 และ 50 องศาเซลเซียส ได้สูงกว่าสายพันธุ์มาตรฐาน *Trichoderma reesei* QM9414

ประดับ และวรรธนะชัย (2554) ทำการศึกษาเชื้อราที่คัดแยกจากดินทางการเกษตรของจังหวัดสุรินทร์ ที่สามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลสและเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการย่อยสลายพบว่าเชื้อราที่มีความสามารถในการย่อยสลายสูงที่สามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลสได้สูงสุดคือ *Aspergillus niger, Aspergillus* sp., *Chaetomium murorum* และ *Trichoderma* sp. ส่วนเชื้อรา *Acremonium* sp., *Aspergillus niger, Aspergillus* sp , *Chaetomium murorum, Humicola grisea, Paecilomyces inflatus, Paecilomyces roseolus, Paecilomyces victoriae, Penicillium janthinellum, Penicillium lanosum* และ *Trichoderma* sp. สามารถผลิตเอนไซม์ไซม์แลนเนส ส่วนเชื้อราที่ผลิตเอนไซม์เพอร์รอกซิเดส ได้แก่ *Paecilomyces victoriae* และ*Trichoderma* sp และผลิตเอนไซม์แลคเคส ได้แก่ *Humicola grisea* และ *Paecilomyces inflates*

ประไพพิศ (2552) ทำการแยกราเอนโดไฟท์ จากพืชป่าชายเลนในภาคใต้ โดยสุ่มเลือกมา 300 ไอโซเลต เพื่อศึกษาการสร้างไลเปสและเซลลูเลสและสุ่มเลือกอีก 180 ไอโซเลต เพื่อศึกษาการสร้างอะไมเลสและโปรติเอสด้วยวิธี plate method พบว่าราเอนโดไฟท์ที่ศึกษาส่วนใหญ่สร้างเอนไซม์ไลเปสและเซลลูเลสได้ และพบการสร้างเอนไซม์อะไมเลสน้อยมาก แต่ไม่พบราเอนโดไฟท์ที่สามารถสร้างเอนไซม์โปรติเอส

เสาวภา และคณะ (2554) ทำการแยกเชื้อราที่สามารถสร้างเอนไซม์เซลลูเลส จากดินจำนวน 74 ตัวอย่าง ภายในพื้นที่ป่าโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช อันเนื่องมาจากพระราชดำริสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี จังหวัดจันทบุรี พบว่าแยกเชื้อราได้จำนวน 298 ไอโซเลต และนำมาทดสอบความสามารถในการสร้างเอนไซม์เซลลูเลสของเชื้อรา ประกอบด้วย 2 ขั้นตอนคือ การคัดกรองเบื้องต้นบนอาหารแข็ง Carboxyl methyl cellulose (CMC) agar มี 144 ไอโซเลตที่ให้ผลการเกิดบริเวณใส (48.32%) จากนั้นจึงนำไปทำการทดสอบในอาหารเหลว CMC broth อีกครั้งพบว่า *Aspergillus niger* RB145-8 มีความสามารถสูงในการสร้างเอนไซม์เซลลูเลส

Raghukumar *et al.* (1994) พบว่าราที่แยกได้จากดินทุกชนิดสามารถสร้างเอนไซม์ lignocellulose-modifying exoenzymes และพบว่าราที่แยกจากใบของโกงกางใบเล็ก (*Rhizophora apiculate*) ที่เน่าเปื่อยทุกชนิดสามารถสร้างเอนไซม์ cellulase ได้ บางชนิดสามารถสร้างเอนไซม์ amylase, xylanase, pectinase และ protease ได้

Kader *et al.* (1999) ได้คัดเลือกเชื้อราที่สร้างเอนไซม์เซลลูเลส จากตัวอย่างดินบริเวณ Bario Highland ประเทศมาเลเซีย สามารถคัดแยกได้ 9 ชนิด และจำแนกได้ 3 สกุล คือ *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp. และ *Trichoderma* sp.

Maria *et al.* (2005) ได้ศึกษาการสร้างเอนไซม์ของราเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากพืชป่าชายเลน 2 ชนิด คือ Acanthus ilicifolius และ Acrostichum aureum พบว่า Acremonium sp. สามารถสร้างเอนไซม์ cellulase และ lipase ได้ Fusarium sp. สามารถสร้างเอนไซม์ cellulase และ lipase ได้ และ Pestalotiopsis sp. สามารถสร้างเอนไซม์ cellulase, amylase และ protease ได้

Mahmood *et al.* (2006) ทำการศึกษาราในดินที่มีความสามารถในการย่อยสลายเซลลูโลส จากตัวอย่างดินบริเวณต่าง ๆ ณ รัฐราวาลพินดี ประเทศปากีสถาน พบเชื้อรา 16 สายพันธุ์ที่สามารถเจริญและสร้างสปอร์ได้ในอาหารที่มีเซลลูโลสเป็นองค์ประกอบ และราส่วนใหญ่ที่ย่อยสลายเซลลูโลสได้ เป็นเชื้อราในจีนัส *Aspergillus* และ *Penicillium* โดย *Aspergillus niger* และ *Mucor hiemalis* พบกระจายตัวในเกือบทุกตัวอย่างดิน

Mishra and Dadhich (2010) ศึกษาการสร้างเอนไซม์อะไมเลสและไซลาเนส ของเชื้อราที่แยกจากดินใน Rajahthan แล้วพบว่า จากจำนวนเชื้อรา 15 ไอโซเลต ที่ผลิตเอนไซม์ทั้งสองชนิดได้ เชื้อรา *A niger* สามารถผลิตเอนไซม์อะไมเลส ที่มีประสิทธิภาพดีที่สุด (196.4 U/g) และเชื้อรา *Trichoderma* sp RJ2 สามารถผลิตเอนไซม์ไซลาเนสได้ดีที่สุด (140.8 U/g)

บทที่ 3

วิธีการดำเนินการวิจัย

การศึกษาวิจัยเรื่องการคัดเลือกเชื้อราที่แยกได้จากพืช ดิน และน้ำ จากป่าพรุควนเคร็งที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ที่มีประโยชน์ทางอุตสาหกรรมมีวัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการทดลองดังต่อไปนี้

1. วัสดุและอุปกรณ์

1.1 อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี

1.1.1อาหารเลี้ยงเชื้อ

1.1.1.1 Potato dextrose agar (PDA)

1.1.1.2 Glucose yeast extract peptone (GYP) agar

1.1.1.3 Yeast extract peptone agar (YPA)

1.1.1.4 Colloidal chitin agar (CCA)

1.1.1.5 Peptone agar (PA)

1.1.2 สารเคมี

1.1 2.1 0.5% Na-carboxymethyl cellulose

1.1 2.2 0.2% Congo red

1.1.2.3 1 M NaCl

1.1.2.4 0.005% 1-naphthol

1.1.2.5 0.4% Gelatin

1.1.2.6 0.11% P-cresol

1.1.2.7 0.05% Glycine

1.1.2.8 2 % Starch solution

1.1.2.9 7.0% and 95% Alcohol

1.1.2.10 Calcium chloride dehydrate ($CaCl_2.2H_2O$)

1.1.2.11 Tween 20

1.1.2.12 Ammonium sulphate

1.1.2.13 Lactophenal cotton blue

1.1.2.14 2% Potassium iodide

1.1.2.15 1% Iodine

1.1.2.16 Distilled water

1.2 วัสดุและอุปกรณ์

1.2.1 เครื่องแก้ว

1.2.1.1 Petri dish
1.2.1.2 Dropper
1.2.1.3 Glass slide
1.2.1.4 Cover slip
1.2 1.5 V-shaped glass rod
1.2 1.6 Beaker
1.2 1.7 Volumetric flask
1.2 1.8 Duran bottle
1.2.1.9 Erlenmeyer flask
1.2.1.10 Pipette
1.2.1.11 Tube
1.2.1.12 Cylinder
1.2.1.13 Glass rod
1.2.1.14 Pasteur pipette

1.2.2 อุปกรณ์

1.2 2.1 Laminar air flow cabinet
1.2.2.2 Hot air oven
1.2 2.3 Autoclave
1.2 2.4 Compound microscope
1.2.2.5 Water bath
1.2 2.6 pH Meter
1.2.2.7 3-Decimal balance
1.2.2.8 Camera
1.2.2.9 Vernier caliper
1.2.3.10 Alcohol burner
1.2.3.11 Magnetic stirrer
1.2.3.12 Magnetic bar
1.2.3.13 Spatula
1.2.3.14 Needle
1.2 3.15 Marking pen

2. วิธีการทดลอง

2.1 การคัดเลือกเชื้อราที่ใช้ในการทดสอบการสร้างเอนไซม์

นำเชื้อราที่แยกได้จากพืช ดิน และน้ำในป่าพรุควนเคร็ง จำนวน 1,013 ไอโซเลต มาเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar (PDA) เป็นเวลา 7 วัน ทำการคัดเลือกเชื้อราที่จะนำไปตรวจหาการสร้างเอนไซม์เฉพาะเชื้อราที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีมากกว่าหรือเท่ากับ 5 cm

2.2 การเตรียมเชื้อราที่ใช้ในการทดสอบการสร้างเอนไซม์

นำเชื้อราสำหรับทดสอบการสร้างเอนไซม์มาเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เป็นเวลา 5 วัน เตรียมชิ้นส่วนเชื้อราที่จะนำไปทดสอบ โดยใช้ ปลายของ pasteur pipette เจาะบริเวณขอบของเชื้อรา ให้มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3 mm

2.3 การตรวจสอบเชื้อราทีสร้างเอนไซม์

การตรวจหาเชื้อราที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์โดยวิธี culture plate method โดยการเลี้ยงเชื้อราบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ ทีมีการเติมสารตั้งต้นของเอนไซม์แต่ละชนิดลงไปในอาหารเลี้ยงเชื้อ ตรวจสอบความสามารถของเชื้อที่สามารถสร้างเอนไซม์ย่อยสลายสารตั้งต้น โดยการวางชิ้นส่วนราขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3 mm บนอาหารเลี้ยงเชื้อ และทำการบ่มไว้เป็นเวลา 3-5 วัน ที่อุณหภูมิ 27 - 35 องศาเซลเซียส ก่อนทำการตรวจผล

วิธีการตรวจสอบการสร้างเอนไซม์เซลลูเลส จะใช้วิธีการของ Lingappa and Lockwood (1962) ส่วนเอนไซม์อีก 6 ชนิดที่เหลือใช้ตามวิธีการของ Hankı and Angnosakis (1975) โดยมีรายละเอียดของการทดสอบดังนี้ คือ

2.3.1 การทดสอบการสร้างเอนไซม์เซลลูเลส

ทำโดยเลี้ยงเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อ yeast extract peptone agar (YPA) (yeast extract, 0.1 g; peptone 0 5 g; agar, 16 g; distilled water, 1000 mL) ที่เติม 0.5% Na-carboxymethyl cellulose (CMC) หลังจากการบ่มเทสารละลาย 0 2% congo red ให้ท่วมจานอาหาร ย้อมทับด้วย 1M NaCl เป็นเวลา 15 นาที การเกิดของ clear zone รอบโคโลนีของเชื้อราจะเป็นผลจากการทำงานของเอนไซม์เซลลูเลส (ภาพที่ ง.1)

2.3.2 การทดสอบการสร้างเอนไซม์อะไมเลส

ทำโดยเลี้ยงเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อ glucose yeast extract peptone (GYP) agar (glucose, 1 g; yeast extract, 0.1 g; peptone, 0.5 g; agar, 16 g; distilled water, 1000 mL; pH 6) ที่เติมน้ำแป้ง 2 % หลังจากการเลี้ยงเชื้อ นำสารละลาย 1% iodine ใน 2% potassium iodide เทให้ท่วมจานอาหาร เชื้อราที่สร้างเอนไซม์อะไมเลสได้จะมี clear zone รอบโคโลนีของเชื้อรา (ภาพที่ ง.2)

2.3.3 การทดสอบการสร้างเอนไซม์แลคเคส

ทำโดยการเลี้ยงเชื้อราที่ต้องการทดสอบลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ GYP agar ที่เติม 0.005% 1-naphthol (pH 6) แล้วทำการบ่มเชื้อ เอนไซม์แลคเคสจะออกซิไดส์ 1-naphthol และทำให้สีของอาหารลี้ยงเชื้อเปลี่ยนจากไม่มีสีเป็นสีฟ้า (ภาพที่ ง.3)

2.3.4 การทดสอบการสร้างเอนไซม์ไลเปส

ทำโดยการเลี้ยงเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อ peptone agar (PA) (peptone, 10 g; NaCl, 5 g; $CaCl_2.2H_2O$, 0.1 g; agar 16 g; distilled water, 1000 mL; pH 6) ที่เติม Tween 20 (1 mL/100mL ของอาหาร) แล้วทำการบ่มเชื้อ เชื้อราที่สร้างเอนไซม์ไลเปสได้จะมี clear zone รอบโคโลนีของเชื้อรา (ภาพที่ ง.4)

2.3.5 การทดสอบการสร้างเอนไซม์โปรติเอส

ทำโดยเลี้ยงเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อ GYP ที่เติม 0.4% gelatin (pH 6) หลังการบ่มเชื้อเทสารละลายอิ่มตัวของ ammonium sulphate ให้ท่วมอาหาร สำหรับเชื้อราที่ไม่สามารถสร้างเอนไซม์โปรติเอสได้ จะเห็นการตกตะกอนของ gelatin ด้วยสารละลาย ammonium sulphate ในขณะที่จะเห็น clear zone รอบโคโลนีของเชื้อราที่สร้างเอนไซม์โปรติเอส (ภาพที่ ง 5)

2.3.6 การทดสอบการสร้างเอนไซม์ไทโรซิเนส

ทำโดยเพาะเลี้ยงเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อ GYP หลังการบ่มเชื้อจะเททับผิวหน้าโคโลนีของเชื้อราด้วย 0.11% p-cresol และ 0.05% glycine ตรวจผลหลังจากบ่มต่อ 24 ชั่วโมง เชื้อราที่สร้างเอนไซม์ไทโรซิเนสได้ จะสังเกตเห็นสีแดงอมน้ำตาลรอบ ๆ โคโลนี (ภาพที่ ง.6)

2.3.7 การทดสอบการสร้างเอนไซม์ไคติเนส

ทำโดยเลี้ยงเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อ colloidal chitin agar (CCA) (colloidal chitin, 2 g; agar, 16 g; distilled water, 1000 mL) หลังการบ่มเชื้อเชื้อราที่สร้างเอนไซม์ไคติเนสได้จะมี clear zone รอบโคโลนีของเชื้อรา (ภาพที่ ง.7)

2.4 การอ่านผลการทดสอบในการสร้างเอนไซม์ของเชื้อรา

ตรวจผลการสร้างเอนไซม์โดยการวัดค่าเส้นผ่านศูนย์กลาง clear zone หรือ color zone ที่เกิดจากการทดสอบการสร้างเอนไซม์ และวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีเชื้อรา แล้วนำมาหาประสิทธิภาพของเชื้อราในการสร้างเอนไซม์ โดยการคำนวณหาค่า extracellular enzyme production ratios (EPR) ซึ่งหมายถึงค่าอัตราส่วนระหว่างขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของ clear zone ต่อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีรา ซึ่งหาได้จากสูตร

$$EPR = \frac{\text{ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง clear zone หรือ color zone}}{\text{ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนี}}$$

ทำการคัดเลือกเชื้อราที่มีประสิทธิภาพในการสร้างเอนไซม์แต่ละชนิดได้ดี โดยพิจารณาจากเชื้อราที่ให้ค่า EPR มากกว่าหรือเท่ากับ 2 หรือหากให้ค่า EPR น้อยกว่า 2 จะคัดเลือกเชื้อราที่ให้ค่า EPR สูงสุด จำนวน 5 ไอโซเลต

2.5 การจำแนกชนิดของเชื้อราที่มีประสิทธิภาพในการสร้างเอนไซม์ดี

2.5.1 การจำแนกชนิดของเชื้อราโดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยา

นำเชื้อราที่มีประสิทธิภาพในการสร้างเอนไซม์แต่ละชนิดดี มาทำการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา โดยการทำศึกษาลักษณะของโคโลนีที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ ศึกษาลักษณะเส้นใยรา และโครงสร้างที่ใช้ในการสืบพันธุ์ โดยการทำ slide culture ซึ่งมีวิธีการทำดังนี้

1. เตรียมจานเพาะเชื้อ โดยการนำแท่งแก้วงอตัว V วางลงในจานเพาะเชื้อ แล้วนำสไลด์ที่สะอาดวางบนแท่งแก้วงอรูปตัว V แล้วนำไปอบเพื่อฆ่าเชื้อ
2. เตรียมอาหาร PDA โดยเทบนจานเพาะเชื้อซึ่งเทหนากว่าปกติ แล้วตัดวุ้นเป็นรูปสี่เหลี่ยมจัตุรัสหลาย ๆ ชิ้น นำวุ้นที่ตัดเป็นรูปสี่เหลี่ยมจัตุรัสวางลงบนสไลด์ในจานเลี้ยงเชื้อ
3. นำโคโลนีของเชื้อราที่มีการเจริญดีแล้วมาเขี่ยเชื้อสายราบริเวณขอบโคโลนี นำสายราที่เขี่ยได้แตะบนด้านข้างของชิ้นวุ้นทั้ง 4 ด้าน โดยใช้ 1 เชื้อต่อวุ้น 1 ชิ้น จากนั้นใช้กระจกปิดสไลด์จุ่มลงใน 95 % แอลกอฮอล์ นำไปลนไฟ รอให้เย็น แล้ววางกระจกปิดสไลด์ทับชิ้นวุ้น
4. นำน้ำกลั่นที่ปราศจากเชื้อเทลงในจานเพาะเชื้อพอประมาณเพื่อให้เกิดความชื้นแล้วปิดฝาจานเพาะเชื้อ
5. บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง เมื่อโคโลนีของเชื้อราเจริญจนเกือบถึงขอบของกระจกปิดสไลด์ สามารถใช้แตรียมแผ่นสไลด์ได้ 2 แผ่น โดยแผ่นแรกใช้ปากคีบค่อย ๆ ดึงกระจกปิดสไลด์ออก นำมาวางบนสไลด์ที่หยด lactophenal cotton blue 1 หยด ส่วนแผ่นที่ 2 ใช้ปากคีบคีบชิ้นวุ้นออก หยด lactophenal cotton blue 1 หยด บนแผ่นสไลด์แล้วนำกระจกปิดสไลด์มาปิด ระวังอย่าให้เกิดฟองอากาศ
6. ทาขอบทั้งสี่ของกระจกปิดสไลด์ด้วยน้ำยาทาเล็บ รอให้น้ำยาทาเล็บแห้ง แล้วนำสไลด์ไปส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์

นำลักษณะโคโลนีของเชื้อราที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ลักษณะเส้นใยและสปอร์ของเชื้อราที่ได้จากการทำ slide culture ไปจำแนกชนิดของเชื้อรา โดยเทียบเคียงกับลักษณะของเชื้อราใน Compendium of Soil Fungi Volume I (Domsch *et. al.*, 1993), Illustrated Genera of Imperfect Fungi (Barnett and Hunter, 1998) และ Identification of Pathogenic Fungi (Campbell *et. al.*, 2013)

2.5.2 การจำแนกชนิดของเชื้อราโดยวิธีทางชีวโมเลกุล

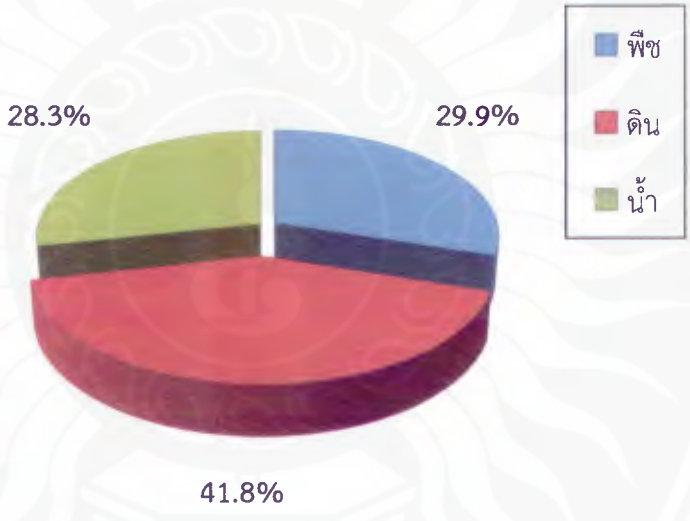
นำไอโซเลตของเชื้อราดินที่สามารถสร้างเอนไซม์ให้ค่า EPR ของเอนไซม์แต่ละชนิดสูงสุด 5 ลำดับแรก มาสกัดดีเอ็นเอ และ ทำ PCR บริเวณยีน ITS1 ถึง ITS2 (Lian *et al* , 2008) ด้วยคู่ primer ITS5 และ ITS4 จำแนกชนิดเชื้อราดินถ้ำโดยหาลำดับเบสของ DNA ด้วยวิธี direct sequenced ที่ Macrogen ประเทศเกาหลี แล้วนำข้อมูลมา BLAST search ผ่าน NCBI GenBank database (Altschul *et al* , 1990)

บทที่ 4

ผลการวิจัย

1. เชื้อราจากป่าพรุควนเคร็ง

เชื้อราจากป่าพรุควนเคร็งที่ใช้ในการทดสอบการสร้างเอนไซม์ในครั้งนี้ มีแหล่งที่มาจาก 3 แหล่ง คือ เชื้อราเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากพืชในพื้นที่ป่าพรุควนเคร็ง จำนวน 303 ไอโซเลต (29.9%) ได้รับมาจากสุมาลี เลี่ยมทอง จากโครงการวิจัยการคัดเลือกเชื้อราเอนโดไฟท์ที่ผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากพืชในพื้นที่ป่าพรุควนเคร็ง เชื้อราที่แยกได้จากดินในพื้นที่ป่าพรุควนเคร็ง จำนวน 423 ไอโซเลต (41.8%) และเชื้อราที่แยกจากน้ำในพื้นที่ป่าพรุควนเคร็งจำนวน 287 ไอโซเลต (28.3%) ได้รับมาจากโสภนา วงศ์ทอง จากโครงการวิจัยผลกระทบของไฟป่าต่อความหลากหลายของเชื้อราและสาหร่ายในพื้นที่ป่าพรุควนเคร็ง รวมทั้งหมด 1,013 ไอโซเลต (ภาพที่ 4.1 และตารางที่ 4.1)



ภาพที่ 4.1 เปอร์เซ็นต์ของเชื้อราที่แยกได้จากพืช ดิน และน้ำในป่าพรุควนเคร็งที่ใช้ในการศึกษา

ตารางที่ 4.1 เชื้อราที่แยกได้จากป่าพรุควนเคร็งที่ใช้ในการศึกษา

แหล่งของเชื้อรา	จำนวน (ไอโซเลต)	รหัส* / จำนวน (ไอโซเลต)
เชื้อราเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากพืช ในป่าพรุควนเคร็ง	303	ML / 50 AV / 74 MM / 53 SC / 48 RT / 16 TA / 24 MC / 10 LA / 28
เชื้อราที่แยกจากดิน ในพื้นที่ป่าพรุควนเคร็ง	423	SP / 138 SPS/6 DPS / 151 S / 56 SS / 72
เชื้อราที่แยกจากน้ำ ในพื้นที่ป่าพรุควนเคร็ง	287	W/ 204 P /46 PW / 37
รวม	1,013	1,013

* ML เป็นราเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากเสม็ดขาว SC เป็นราเอนโดไฟท์ที่แยกได้หว้า
MC เป็นราเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากเสม็ด AV เป็นราเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากเม่า
RT เป็นราเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากโทะ TA เป็นราเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากปรือ
MM เป็นราเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากโคลงเคลง LA เป็นราเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากกระจูด
SP, SPS, S และ SS เป็นราที่แยกจากดินโดยวิธี soil plate method
DPS เป็นราที่แยกจากดินโดยวิธี dilution plate method
W, P และ PW เป็นราที่แยกจากน้ำโดยวิธี dilution plate method

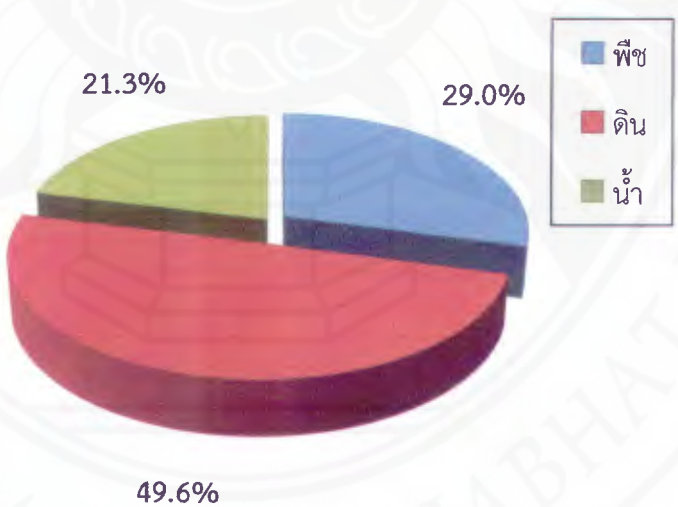
2. การคัดเลือกเชื้อราที่ใช้ในการทดสอบการสร้างเอนไซม์

จากการนำเชื้อราที่แยกได้จากพืช ดิน และน้ำในป่าพรุควนเคร็ง จำนวน 1,013 ไอโซเลต ไปเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เป็นเวลา 7 วัน เพื่อทำการคัดเลือกเชื้อราที่จะนำไปตรวจหาการสร้างเอนไซม์ โดยเลือกเอาเฉพาะเชื้อราที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีมากกว่าหรือเท่ากับ 5 cm ไปทดสอบการสร้างเอนไซม์ พบว่า มีเชื้อราจำนวนทั้งสิ้น 417 ไอโซเลต (41.2%) ที่ให้ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีมากกว่าหรือเท่ากับ 5 cm ซึ่งเป็นเชื้อราเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากพืช จำนวน 121 ไอโซเลต แยกได้จากดิน จำนวน 207 ไอโซเลต และแยกได้จากน้ำ จำนวน 89 ไอโซเลต ซึ่งคิด

เป็น 29.0, 49.7 และ 21.3% ของเชื้อราที่จะนำไปทดสอบการสร้างเอนไซม์ ตามลำดับ (ตารางที่ 4.2 และภาพที่ 4.2) โดยมีรายละเอียดของเชื้อราที่แยกจากพืช ดิน และน้ำ ที่ให้ขนาดโคโลนีเมื่อเลี้ยงบน PDA มากกว่าหรือเท่ากับ 5 cm แสดงในตารางที่ ค.1, ค.2 และ ค.3 ตามลำดับ ส่วนเชื้อราที่ให้ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อราเมื่อเลี้ยงบน PDA น้อยกว่า 5 cm ที่ไม่นำมาทดสอบเอนไซม์ มีจำนวน 596 ไอโซเลต จัดเป็นเชื้อราที่แยกจากพืช จำนวน 182 ไอโซเลต จากดินจำนวน 216 ไอโซเลต และจากน้ำ จำนวน 198 ไอโซเลต แสดงรายละเอียดใน ตารางที่ ค.4, ค.5 และ ค.6 ตามลำดับ

ตารางที่ 4.2 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อราเมื่อเลี้ยงบนอาหาร PDA เป็นเวลา 7 วัน

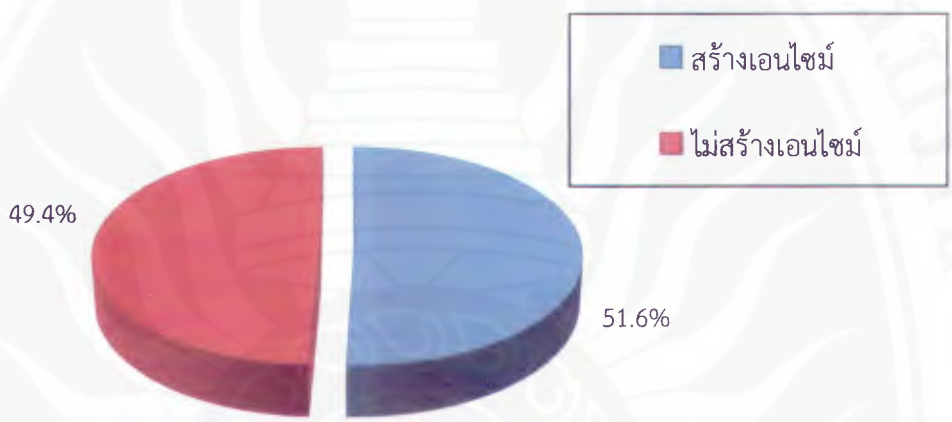
เชื้อราที่ใช้ในการศึกษา	จำนวน (ไอโซเลต)	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อราเมื่อเลี้ยงบนอาหาร PDA เป็นเวลา 7 วัน	
		มากกว่าหรือเท่ากับ 5 cm	น้อยกว่า 5 cm
เชื้อราเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากพืชในป่าพรุควนเคร็ง	303	121	182
เชื้อราที่แยกจากดินในพื้นที่ป่าพรุควนเคร็ง	423	207	216
เชื้อราที่แยกจากน้ำในพื้นที่ป่าพรุควนเคร็ง	287	89	198
รวม	1,013	417	596



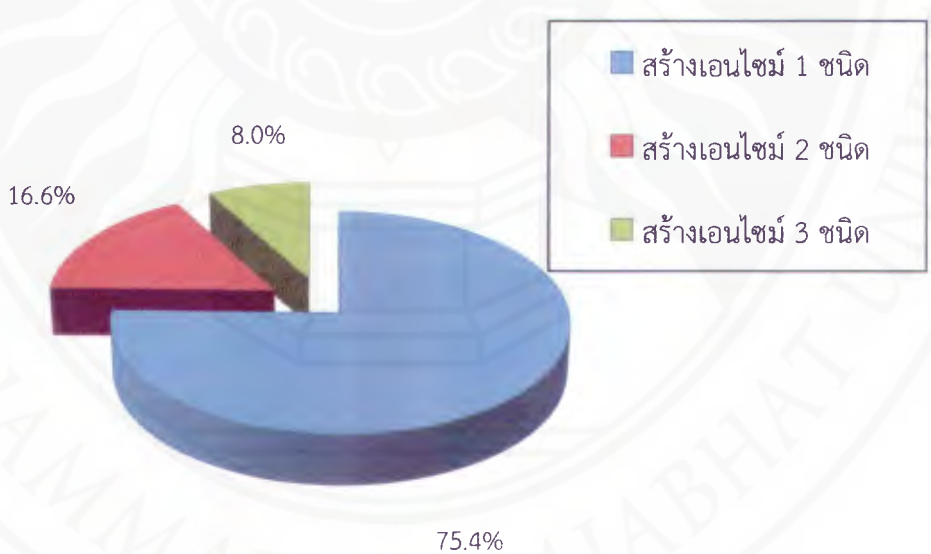
ภาพที่ 4.2 เปอร์เซ็นต์ของเชื้อราที่มีขนาดโคโลนีมากกว่าหรือเท่ากับ 5 cm เมื่อเลี้ยงบนอาหาร PDA เป็นเวลา 7 วัน ที่นำไปทดสอบการสร้างเอนไซม์

3. เชื้อราที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์

ผลการทดสอบการสร้างเอนไซม์ของเชื้อราจากป่าพรุควนเคร็งแสดงดังข้อมูลในภาคผนวก จ. ซึ่งพบว่าจากเชื้อราจำนวน 417 ไอโซเลต ที่นำมาทดสอบการสร้างเอนไซม์ 7 ชนิด มีเชื้อราจำนวน 211 ไอโซเลต (51.0%) (ภาพที่ 4.3) ที่สามารถสร้างเอนไซม์ได้ โดยสร้างได้ 1-3 ชนิด ซึ่งจัดเป็นเชื้อราที่สร้างเอนไซม์ 1 ชนิด มากที่สุด จำนวน 159 ไอโซเลต (76.4%) รองลงมาคือเชื้อราที่สร้างเอนไซม์ 2 ชนิด จำนวน 35 ไอโซเลต (8.0%) และเชื้อราที่สร้างเอนไซม์ 3 ชนิด น้อยที่สุด โดยมีเชื้อราเพียง 17 ไอโซเลต (16.6%) ที่สร้างเอนไซม์ได้ 3 ชนิด (ภาพที่ 4.4)



ภาพที่ 4.3 เปอร์เซ็นต์ของเชื้อราที่สร้างและไม่สร้างเอนไซม์



ภาพที่ 4.4 จำนวนชนิดของเอนไซม์ที่เชื้อราสร้าง

สำหรับเชื้อราที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ 1 ชนิด จำนวน 159 ไอโซเลต จัดเป็นเชื้อราที่สร้างเอนไซม์เซลลูเลสได้มากที่สุด จำนวน 83 ไอโซเลต รองลงมาคือเอนไซม์ไลเปส จำนวน 45 ไอโซเลต และสร้างไทโรซิเนส แลคเคส อะไมเลส และโปรติเอส ได้ 14, 7, 6 และ 4 ไอโซเลต ตามลำดับ (ตารางที่ 4.3)

ตารางที่ 4 3 เชื้อราที่สร้างเอนไซม์ 1 ชนิด

เอนไซม์	เชื้อรา (extracellular enzyme production ratios)				จำนวน
อะไมเลส	DP S 1-5 (1 73)	DP S 1-19 (3.25)	DP S 1-20 (1 91)	DP S2-28 (1.13)	6
	DP S 5-16 (1.38)	DP S 5-40 (1.60)			
โปรติเอส	S5 42 (1.92)	P 39 (1.60)	P 41 (1.17)	S5 47 (1.12)	4
ไลเปส	SP 7-35 (2 27)	DP S 6-16 (1.24)	4 ML B1 3 (1.68)	3 AV B 1.2 (1.09)	45
	SP S1-4 (1.06)	DP S 6-20 (1.16)	1 MM L 1.1 (1.94)	4 AV L 1.6 (2.08)	
	DP S 1-3 (1.87)	DP S 6-40 (1.72)	1 MM M 1.3 (1 04)	2 LA S 1.3 (1.70)	
	DP S 1-24 (2 66)	DP S 6-33 (5.28)	4 MM L 1.3 (2 00)	3 LA S 1.1 (1.38)	
	DP S 2-2 (8.33)	DP S 6-36 (1.07)	4 MM M 1 4 (1 20)	4 LA S 1.8 (1.70)	
	DP S 2-7 (1.21)	S5 58 (2.33)	1 AV L 1.4 (2.07)	4 LA S 1.9 (1.95)	
	DP S 2-41 (1.26)	W 120 (1.66)	4 AV L 1.8 (1 25)	4 LA S 1.5 (1.91)	
	DP S 5-11 (1.02)	W 163 (1.60)	4 AV L 1.10 (2.75)	4 TA S 1.12 (1.80)	
	DP S 5-19 (2.40)	W 170 (2.14.)	4 AV M 1 2 (1.43)	4 TA M 1 2 (1.13)	
	DP S 5-38 (1.03)	W 250 (1.11)	2 AV M 1 2 (2.75)	3 RT L 1.1 (2.36)	
	DP S 5-47 (1.54)	W 261 (1.27)	P 49 (1.50)	SS 36 (1.62)	
	DP S 6-15 (3.10)				

ตารางที่ 4.3 เชื้อราที่สร้างเอนไซม์ 1 ชนิด (ต่อ)

เอนไซม์	เชื้อรา (extracellular enzyme production ratios)				จำนวน
เซลลูเลส	SP 1-6 (1.57)	DP S 1-23 (1 40)	DP S 6-14 (1.38)	P 4 (1.52)	76
	SP 1-33 (1.21)	DP S 2-14 (1.14)	DP S 7-2 (1.45)	P 18 (1.18)	
	SP 2-14 (1.07)	DP S 2-25 (1 17)	DP S 7-3 (1.07)	P 21 (1.18)	
	SP 4-20 (1.20)	DP S 2-26 (1 30)	SS 14 (1.50)	P 32 (1.14)	
	SP 5-2 (1.43)	DP S 2-27 (1 25)	SS 39 (1.21)	P 42 (1.90)	
	SP 5-44 (1.13)	DP S 2-31 (1.60)	SS 43 (1.30)	PW 8 (2.14)	
	SP 5-49 (1.16)	DP S 2-36 (1 04)	SS 64 (1.42)	PW 10 (1.20)	
	SP 6-19 (1.20)	DP S 3-1 (1.06)	SS 70 (1.17)	W 94 (1.46)	
	SP 7-56 (1.29)	DP S 3-4 (1.52)	S1 22 (1.06)	W 137 (1.85)	
	SP S 4-4 (1.17)	DP S 3-8 (1.13)	S2 32 (1.20)	W 138 (1.37)	
	SP S 4-6 (1.15)	DP S 5-12 (1.72)	S2 43 (2.00)	W 154 (1.12)	
	DP S1-15 (1.14)	DP S 5-32 (1 30)	S2 49 (1.18)	W 200 (1.16)	
	DP S 1-22 (1.13)	DP S 5-33 (1.42)	S5 40 (1.10)	W 248 (1.63)	
	2 ML L 1.1 (1.11)	4 MM M 1.7 (1.76)	4 AV P 1.2 (1.61)	4 LA S 1.1 (1.20)	
	2 ML L 1.2 (1.50)	1 AV B 1.2 (1 66)	1SC V 1.2 (1.29)	4 LA S 1.12 (1.59)	
	2 ML B 1.7 (1.08)	1 AV L 1.5 (1 80)	3 SC L 1.1 (2.50)	4 TA M 1.4 (1.59)	
	3 ML B 1.1 (1.02)	1 AV B 1.7 (1 12)	4 SC B 1.7 (1.65)	1 RT P 1.1 (1.78)	
	3 ML B 1.3 (1.86)	1 AV M 1 1 (1.40)	4 SC L 1.9 (1.74)	2 RT B 1.4 (1.88)	
	3 ML M 1.1 (1.80)	2 AV M 1.1 (1 54)	4 SC P 1.8 (1.34)	2 MC B1.4 (1.08)	

ตารางที่ 4.3 เชื้อราที่สร้างเอนไซม์ 1 ชนิด (ต่อ)

เอนไซม์	เชื้อรา (extracellular enzyme production ratios)				จำนวน
เซลลูเลส (ต่อ)	4 ML L 1.2 (1.41)	4 AV M 1.5 (1.25)	1 LA S 1.3 (1.21)	DP S 5-36 (1.32)	7
	4 MM M 1.3 (2.37)	3 AV L 1.2 (1.93)	2 LA S 1.4 (1.23)		
แลคเคส	W 80 (1.67)	W 147 (1.33)	W 204 (1.33)	W 123 (1.33)	7
	W 98 (1.67)	W 149 (1.67)	SS 23 (1.50)		
ไทโรซิเนส	SP 2-18 (1.32)	4 MM M 1.8 (1.07)	4 MM M 1.5 (1.05)	4 SC L 1.11 (1.05)	14
	1 MM B 1.2 (1.07)	4 MM P 1.8 (1.50)	4 SC B 1.4 (1.04)	4 LA S 1.11 (1.08)	
	4 MM L 1.6 (1.08)	1 AV B 1.3 (1.09)	4 SC L1.6 (1.05)	4 TA S 1.8 (1.04)	
	4 MM M1.2 (1.06)	4 AV B 1.3 (1.21)			
รวม					159

ส่วนเชื้อราที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ 2 ชนิด ที่มีจำนวน 35 ไอโซเลต แยกได้เป็น 7 กลุ่ม คือ กลุ่มที่สร้างเซลลูเลสกับไลเปส 15 ไอโซเลต เซลลูเลสกับโปรติเอส และอะไมเลสกับไลเปส กลุ่มละ 5 ไอโซเลต อะไมเลสกับเซลลูเลส เซลลูเลสกับไทโรซิเนส และไลเปสกับไทโรซิเนส กลุ่มละ 3 ไอโซเลต และโปรติเอสกับไทโรซิเนส จำนวน 1 ไอโซเลต (ตารางที่ 4.4)

ตารางที่ 4.4 เชื้อราที่สร้างเอนไซม์ 2 ชนิด

เอนไซม์	เชื้อรา (extracellular enzyme production ratios)			จำนวน
อะไมเลส + เซลลูเลส	DP S 1-1 (2.25, 1.13)	DP S 1 21 (1.32, 1.04)	DP S 2-22 (1.56, 1.45)	3
อะไมเลส + ไลเปส	DP S 1-2 (2.33, 2.40)	DP S 1-14 (3.60, 3.42)	DP S 1-25 (2.61, 1.35)	5
	DP S 2-19 (1.87, 1.36)	DP S 2-38 (1 18, 1.88)		
เซลลูเลส + โปรติเอส	SP 3-13 (1.56,1.60)	SP 4-10 (1 86, 1.55)	1 LA S 1 2 (1.09, 1.14)	5
	W 245 (1.18, 1.46)	S2 72 (1 09, 1.57)		
เซลลูเลส + ไลเปส	DP S 1 4 (1.04, 2.00)	DP S 2 33 (1 38, 3.28)	DP S 2 39 (3 25, 1.40)	15
	DP S 2 44 (1.66, 1.23)	DP S 5 15 (1.30, 1.75)	DP S 5 22 (1.13, 3.00)	
	2 ML B1.3 (3.00, 1.62)	3 ML B1.4 (1.24, 1.50)	3 ML L1 2 (1.26, 1.42)	
	3 ML L1.3 (1.29, 1.70)	4AV B1.1 (1.42, 1.66)	2 RT B1.2 (1.32, 1.57)	
	4 RT L1.3 (1.15, 2 18)	S1 23 (1.27, 2.60)	S5 54 (1.21, 1.75)	
เซลลูเลส + ไทโรซิเนส	4 SC L1.4 (1.71, 1.13)	S5 53 (1.15, 1.42)	SS 61 (1.57, 1.56)	3
ไลเปส +ไทโรซิเนส	DPS 6-23 (1.23,1.57)	1 MM B1.3 (1.60, 1.50)	1 AV M1.2 (1.50, 1.05)	3
โปรติเอส + ไทโรซิเนส	S3 66 (1.11, 1.18)			1
รวม				**35**

จากเชื้อราจำนวน 17 ไอโซเลต ที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ 3 ชนิด สามารถแยกออกได้เป็น 7 กลุ่ม คือ กลุ่มที่สร้างอะไมเลส เซลลูเลส และไลเปส จำนวน 6 ไอโซเลต กลุ่มที่สร้างเซลลูเลส โปรติเอส และไทโรซิเนส และกลุ่มที่สร้างเซลลูเลส ไลเปส และโปรติเอส กลุ่มละ 3 ไอโซเลต กลุ่มที่สร้างอะไมเลส เลคเคส และไลเปส จำนวน 2 ไอโซเลต และกลุ่มที่สร้างอะไมเลส เซลลูเลส และโปรติเอส สร้างเซลลูเลส ไลเปส และไทโรซิเนส และสร้างไลเปส โปรติเอส และไทโรซีเนส กลุ่มละ 1 ไอโซเลต (ตารางที่ 4.5)

ตารางที่ 4.5 เชื้อราที่สร้างเอนไซม์ 3 ชนิด

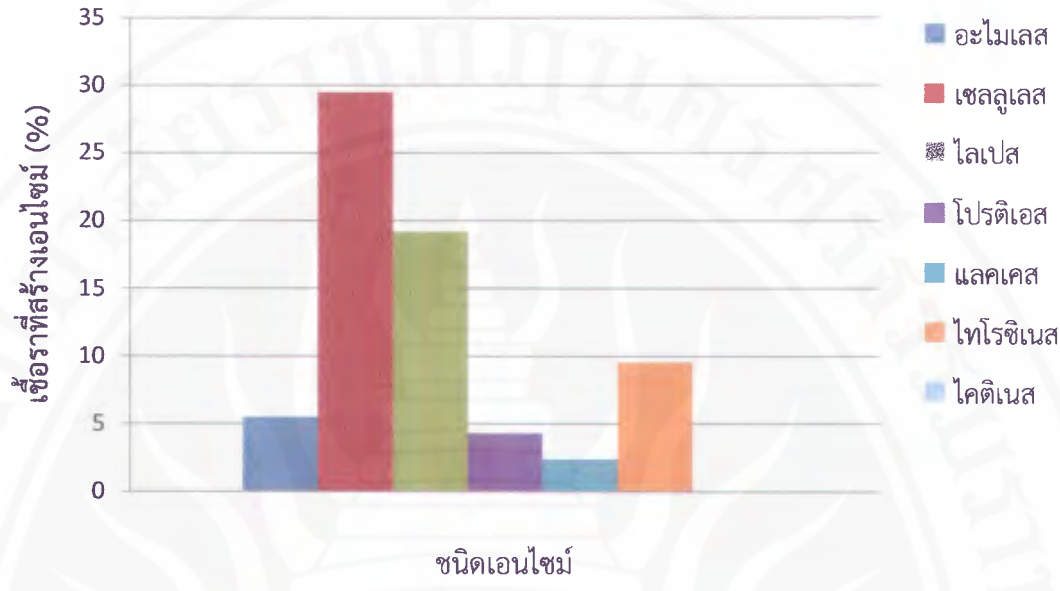
Enzymes	เชื้อรา (extracellular enzyme production ratios)		จำนวน
อะไมเลส + เซลลูเลส + ไลเปส	SP 7-26 (1 20, 1.70, 1.61)	DPS 1-11 (2.75, 1.10, 1.60)	6
	DPS 2-1 (2 91, 1.07, 1.42)	DPS 2-9 (1.53, 1.21, 1.50)	
	DPS 2 34 (1 69, 2.31, 2 27)	DPS 5-2 (1 22, 1.86, 2.50)	
อะไมเลส + แลคเคส + ไลเปส	DPS 2-46 (1.43, 1.67, 5.16)	DP 3-5 (1 20, 1.67, 3.55)	2
อะไมเลส + เซลลูเลส + โปรติเอส	DPS 2-42 (1 66, 2.00, 1.43)		1
เซลลูเลส + โปรติเอส + ไทโรซิเนส	SS 3 (1,33, 1.38, 1.36)	SS 7 (1 28, 1.28, 1.39)	3
	SS 56 (1 24, 1.44, 1.39)		
เซลลูเลส + ไลเปส + ไทโรซิเนส	1 AV L1.7 (1.05, 1.92, 1.44)		1
เซลลูเลส + ไลเปส + โปรติเอส	1 AV P1.3 (1.17, 2.50, 1.46)	4 AV M1.10 (1.13, 2.83, 1.52)	3
	3 SC B1.2 (1.10, 2.25, 1.33)		
แลคเคส + โปรติเอส +ไทโรซิเนส	W 110 (1 33, 1.16, 1.28)		1
รวม			17

เมื่อพิจารณาถึงชนิดของเอนไซม์ที่ถูกสร้างจากเชื้อราป่าพรุ พบว่าเชื้อราป่าพรุที่นำมาทดสอบสามารถสร้างเอนไซม์เซลลูเลสได้มากที่สุด โดยมีเชื้อราที่สร้างเอนไซม์นี้ได้จำนวน 123 ไอโซเลต (29.5%) รองลงมาคือเอนไซม์ไลเปส ซึ่งมีเชื้อราที่สร้างได้จำนวน 80 ไอโซเลต (19.2%) มีเชื้อราป่าพรุจำนวน 40 (9.6%) และ 23 (5.5%) ไอโซเลต ที่สามารถสร้างเอนไซม์ไทโรซิเนสและเอนไซม์อะไมเลสได้ตามลำดับ เชื้อราป่าพรุสามารถสร้างเอนไซม์โปรติเอสและแลคเคสได้น้อย โดยมีเชื้อราเพียง 18 (4.3%) และ 10 ไอโซเลต (2.4%) ที่สามารถสร้างเอนไซม์นี้ได้ ตามลำดับ และไม่มีเชื้อราป่าพรุใดที่สามารถสร้างเอนไซม์ไคติเนสได้ (ตารางที 4 6 และภาพที่ 4.5)

ตารางที่ 4.6 จำนวนเชื้อราที่สร้างเอนไซม์แต่ละชนิด

เอนไซม์	จำนวนเชื้อราที่สร้างเอนไซม์ (ไอโซเลต)			
	1 ชนิด	ร่วมกับเอนไซม์อื่นอีก 1 ชนิด*	ร่วมกับเอนไซม์อื่นอีก 2 ชนิด*	รวม*
อะไมเลส	6	8	9	23
เซลลูเลส	83	26	14	123
ไลเปส	45	23	12	80
โปรติเอส	4	6	8	18
แลคแคส	7	0	3	10
ไทโรซิเนส	14	21	5	40
ไคติเนส	0	0	0	0
รวม	159	84	51	294

*มีเชื้อราบางไอโซเลตที่จัดได้มากกว่า 1 กลุ่ม



ภาพที่ 4.5 เปอร์เซ็นต์ของเชื้อราป่าพรุที่สร้างเอนไซม์แต่ละชนิด

4. จำนวนเชื้อราที่มีประสิทธิภาพในการสร้างเอนไซม์

จากเชื้อราที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ จำนวนทั้งสิ้น 211 ไอโซเลต ได้นำมาทำการคัดเลือกหาเชื้อราที่มีประสิทธิภาพในการสร้างเอนไซม์ โดยพิจารณาจากเชื้อราที่ให้ค่า EPR มากกว่าหรือเท่ากับ 2 หรือหากให้ค่า EPR น้อยกว่า 2 จะคัดเลือกเชื้อราที่ให้ค่า EPR สูงสุด 5 ไอโซเลตแรก จากการศึกษาพบว่าเชื้อราที่มีประสิทธิภาพในการสร้างเอนไซม์อะไมเลส เซลลูเลส และไลเปส จะเป็นกลุ่มของเชื้อราที่ที่ให้ค่า EPR มากกว่าหรือเท่ากับ 2 ซึ่งพบว่ามีเชื้อราที่สามารถสร้างเอนไซม์อะไมเลส เซลลูเลส และไลเปสที่มีประสิทธิภาพ จำนวน 7, 8 และ 28 ไอโซเลต ตามลำดับ ส่วนเชื้อราที่มีประสิทธิภาพในการสร้างเอนไซม์โปรติเอส แลคเคส และไทโรซิเนส จะเป็นกลุ่มของเชื้อราที่ให้ค่า EPR สูงสุด 5 ลำดับแรก (ตารางที่ 4.7)

เมื่อพิจารณาถึงเชื้อราที่มีประสิทธิภาพในการสร้างเอนไซม์แต่ละชนิด พบว่า มีเชื้อรา 5 ไอโซเลต ที่สามารถสร้างเอนไซม์ที่มีประสิทธิภาพได้ถึง 2 ชนิด คือ เชื้อรา DPS 1-2 และ DPS 1-14 ที่สามารถสร้างเอนไซม์ได้อะไมเลสและไลเปสที่มีประสิทธิภาพ เชื้อรา DP S2-34 ที่ สร้างเอนไซม์เซลลูเลสและไลเปสที่มีประสิทธิภาพ และเชื้อรา DPS 2-46 และ DPS 3-5 ที่สร้างเอนไซม์ไลเปสและแลคเคสที่มีประสิทธิภาพ ทำให้ได้เชื้อราที่สร้างเอนไซม์ที่มีประสิทธิภาพไปใช้ในการจำแนกโดยอาศัยลักษณะสัณฐานวิทยา จำนวน 53 ไอโซเลต (ตารางที่ 4.7)

ตารางที่ 4.7 จำนวนเชื้อราที่มีประสิทธิภาพในการสร้างเอนไซม์

เอนไซม์	ค่า extracellular enzyme production ratios	เชื้อราที่มีประสิทธิภาพในการสร้างเอนไซม์ดี			
อะไมเลส	2.25-3.25	DP S 1-1 (2.25)	DP S 1-2 (2.33)	DP S 1-11 (2.75)	DP S 1-19 (3.25)
		DP S 1-14 (3.60)	DP S 1-25 (2.61)	DP S 2-1 (2.91)	
เซลลูเลส	2.13-3.25	DP S 2-34 (2.13)	DP S 2-39 (3.25)	DP S 2-42 (2.00)	2 ML B1.3 (3.00)
		4 MM M1.3(2.73)	3 SC L1.1 (2.50)	S2 43 (2.00)	PW 8 (2.14)
ไลเปส	2.00-8.33	SP 7-35 (2.27)	DP S 1-2 (2.40)	DP S 1-4 (2.00)	DP S 1-14 (3.42)
		DP S 1-24 (2.66)	DP S 2-2 (8.33)	DP S 2-33 (3.28)	DP S 2-34 (2.27)
		DP S 2-46(5.16)	DP S 3-5 (3.55)	DP S 5-2 (2.50)	DP S 5-19 (2.40)
		DP S 5-22 (3.00)	DP S 6-15 (3.10)	DP S 6-33 (5.28)	1 AV L 1.4(2.07)
		1 AV P 1.3 (2.50)	2 AV M 1.2 (2.75)	4 AV L 1.6 (2.08)	4 AV L1.10(2.75)
		4 AVM 1.10(2.83)	3 SC B 1.2 (2.25)	3 RT L 1.1 (2.36)	4 RT L1.3 (2.18)
		4 MM L 1.3(2.00)	S1 23 (2.60)	S5 58 (2.33)	W 170 (2.14)
โปรติเอส	1.52-1.92	SP 3-13 (1.60)	S5 42 (1.92)	S2 72 (1.57)	P 39 (1 60)
		SP 4-10 (1.55)			
แลคเคส	+	DPS 2-46 (1.67)	DPS 3-5 (1.67)	W 80 (1.67)	W 98 (1.67)
		W 149 (1.67)			
ไทโรซิเนส	+	DPS 6-23 (1.57)	1 MM B1.3 (1.50)	4 MMM1.8 (1.50)	1 AV L1.7(1.44)
		SS 61(1.56)			
ไคติเนส	-	-	-	-	-

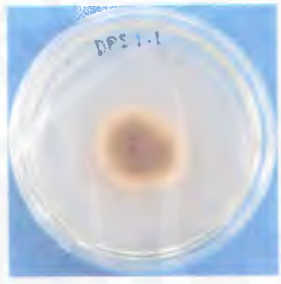
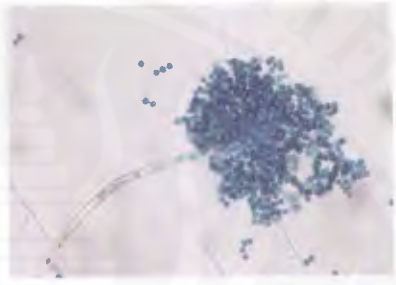
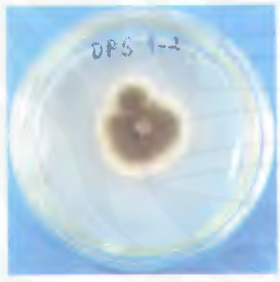
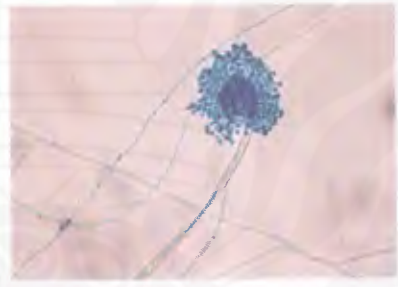
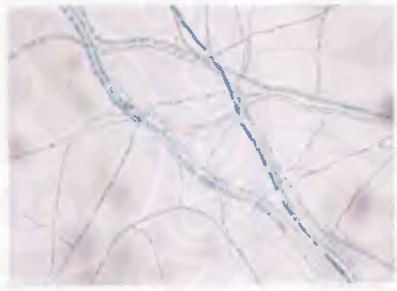
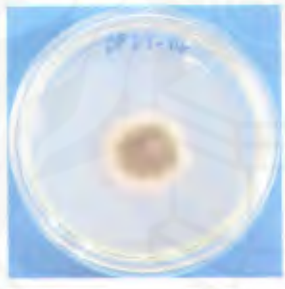
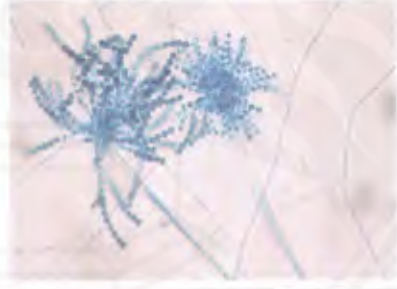
หมายเหตุ - ไม่มีการสร้างเอนไซม์

5. การจัดจำแนกเชื้อราโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา

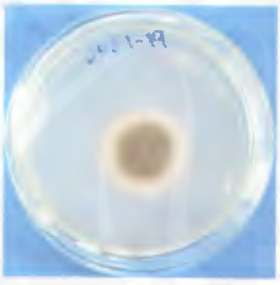
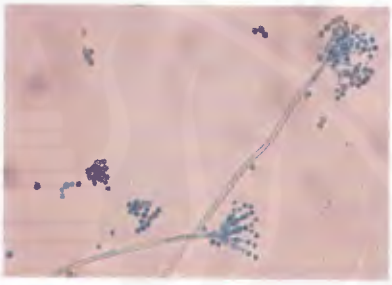
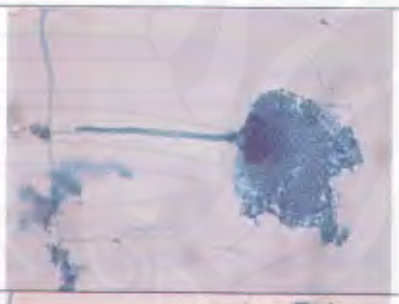
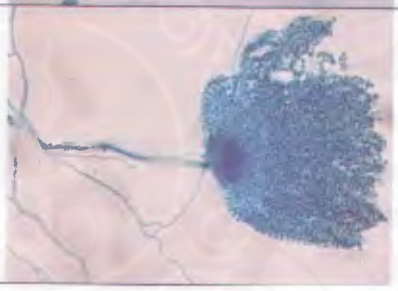
จากการนำเชื้อราที่แยกได้จากพืช ดิน และน้ำในป่าพรุควนเคร็ง ที่มีประสิทธิภาพในการสร้างเอนไซม์ จำนวนทั้งสิ้น 53 ไอโซเลต ไปจำแนกชนิดโดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยาและโครงสร้างต่าง ๆ ของราภายใต้กล้องจุลทรรศน์เช่น สี ผนัง ขนาดของเส้นใยและสปอร์ การเกิดของสปอร์ รูปร่างของสปอร์ ลักษณะของก้านชูสปอร์ (conidiophore) โครงสร้างหรือ fruiting body ต่าง ๆ ที่เชื้อราสร้างขึ้น โดยใช้เทคนิค slide culture พร้อมทั้งถ่ายภาพลักษณะต่าง ๆ ที่สำคัญของเชื้อรา แล้วนำรายละเอียดทั้งหมดที่ได้จากการศึกษาไปเปรียบเทียบกับเอกสารทางด้านอนุกรมวิธาน เพื่อจำแนกชนิดรา ซึ่งลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อราที่มีที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์อะไมเลส เซลลูเลส ไลเปส โปรติเอส แลคเคส และไทโรซิเนส แสดงดังตารางที่ 4.8, 4.9, 4.10, 4.11, 4.12 และ 4.13 ตามลำดับ

จากจำนวนเชื้อราที่นำมาจำแนก 53 ไอโซเลต พบเป็นเชื้อราที่มีการสร้างสปอร์และสามารถจำแนกชนิดได้จำนวน 43 ไอโซเลต อยู่ใน division Eumycota ใน sub-division Deuteromycotina โดยจัดเป็นเชื้อราในกลุ่ม Hyphomycetes จำนวน 42 ไอโซเลต ได้แก่ *Aspergillus* spp., *Trichoderma* spp., *Penicillium* spp., *Acremonium* spp., *Paecilomyces* sp และ *Fusarium* spp. และเป็นเชื้อราใน sub-division Zygomycotina อยู่ในกลุ่ม Zygomycetes จำนวน 1 ไอโซเลต ได้แก่ *Gongronellap* sp. นอกจากนั้นพบเชื้อราที่ไม่สร้างสปอร์ (sterile hypha) จัดอยู่ในกลุ่ม mycelia sterilia จำนวน 10 ไอโซเลต สำหรับเชื้อราในกลุ่ม Hyphomycetes จำนวน 42 ไอโซเลต พบว่า เป็นเชื้อรา *Aspergillus* spp. โดยพบ จำนวน 20 ไอโซเลต รองลงมาคือ *Penicillium* spp., *Trichoderma* spp., *Fusarium* spp., *Acremonium* spp. และ *Paecilomyces* sp จำนวน 9, 7, 3, 2 และ 1 ไอโซเลต ตามลำดับ (ตารางที่ 4.14)

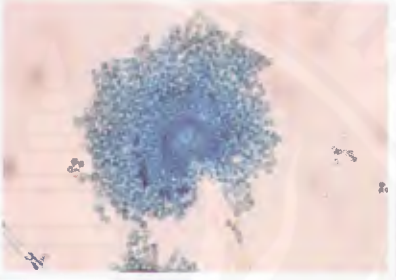
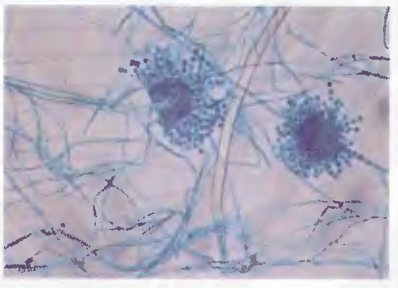
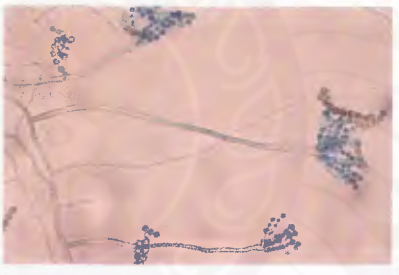
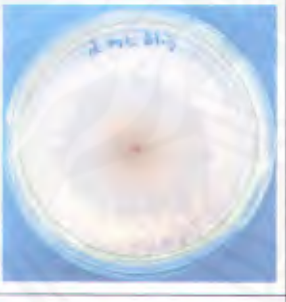
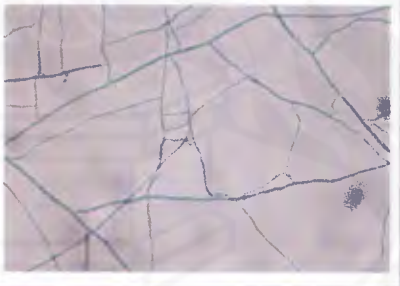
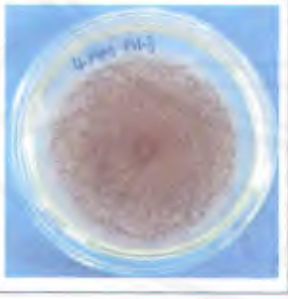
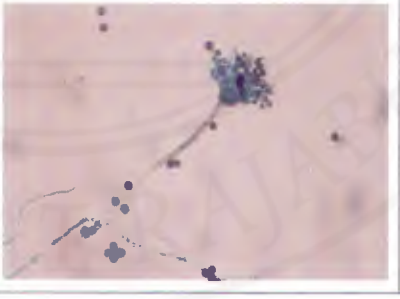
ตารางที่ 4.8 เชื้อราที่มีประสิทธิภาพในการสร้างเอนไซม์อะไมเลส

รหัสเชื้อ	ลักษณะโคโลนี	ลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์	ชนิด
S 1-1			*Aspergillus* sp.
DP S 1-2			*Aspergillus* sp.
DP S 1-11			Sterile hypha
DP S 1-14			*Aspergillus* sp.

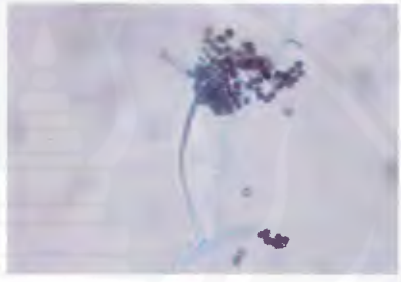
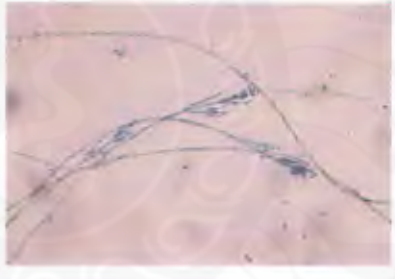
ตารางที่ 4.8 เชื้อราที่มีประสิทธิภาพในการสร้างเอนไซม์อะไมเลส (ต่อ)

รหัสเชื้อ	ลักษณะโคโลนี	ลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์	ชนิด
DP S 1-19			*Penicillium* sp.
DP S 1-25			*Aspergillus* sp.
DP S 2-1			*Aspergillus* sp.

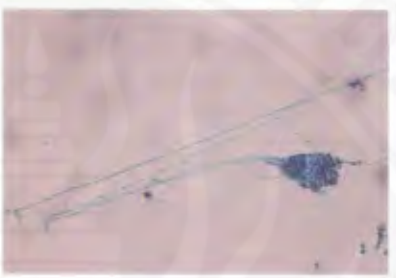
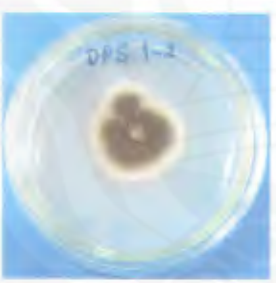
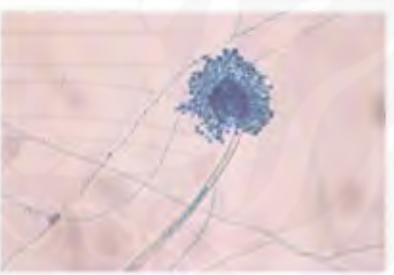
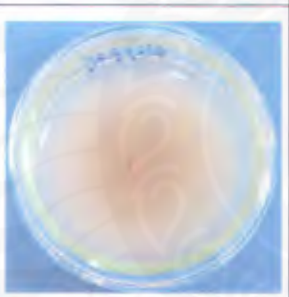
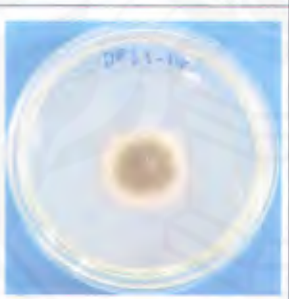
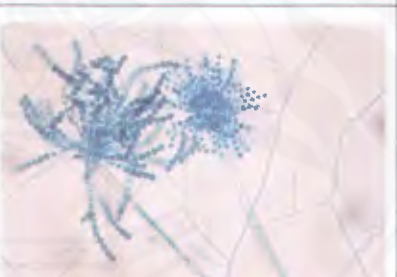
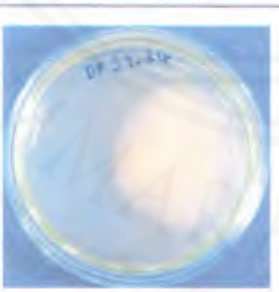
ตารางที่ 4.9 เชื้อราที่มีประสิทธิภาพในการสร้างเอนไซม์เซลลูเลส

รหัสเชื้อ	ลักษณะโคโลนี	ลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์	ชนิด
DP S 2-34			*Aspergillus* sp.
DP S 2-39			*Aspergillus* sp.
DP S 2-42			*Penicillium* sp.
2 ML B1.3			Sterile hypha
4 MMM1.3			*Aspergillus* sp.

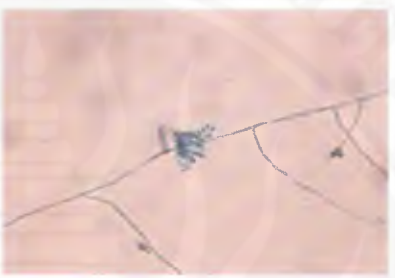
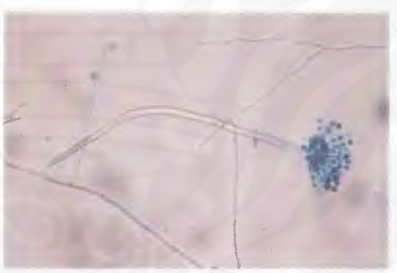
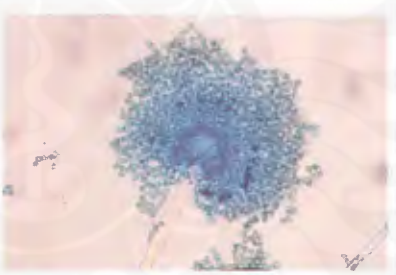
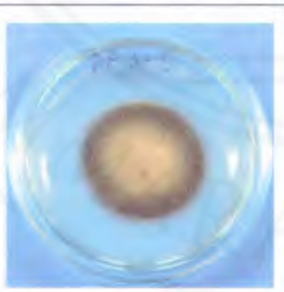
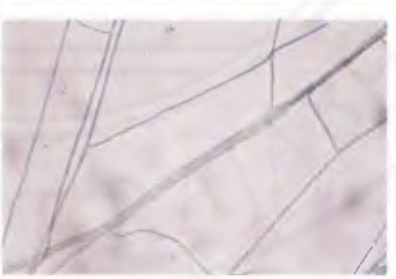
ตารางที่ 4.9 เชื้อราที่มีประสิทธิภาพในการสร้างเอนไซม์เซลลูเลส (ต่อ)

รหัสเชื้อ	ลักษณะโคโลนี	ลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์	ชนิด
3 SC L1.1			*Aspergillus* sp.
S 2 43			*Aspergillus* sp.
PW 8			*Penicillium* sp.

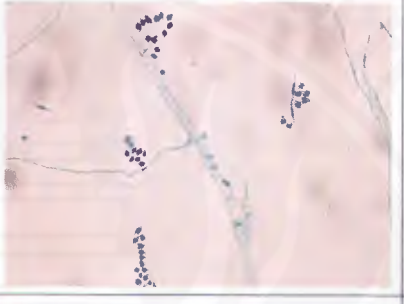
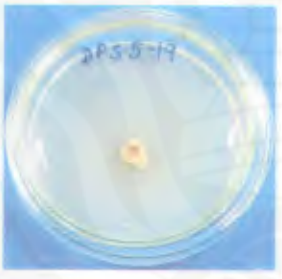
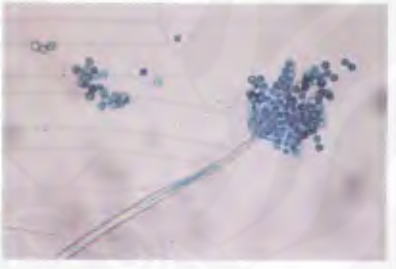
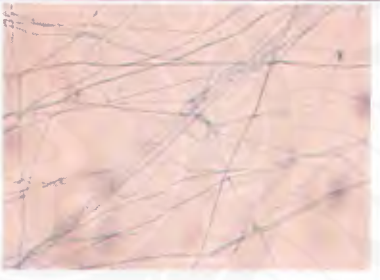
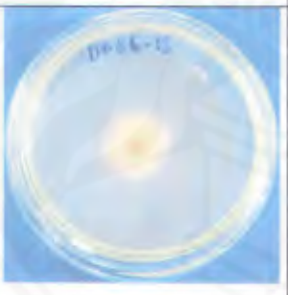
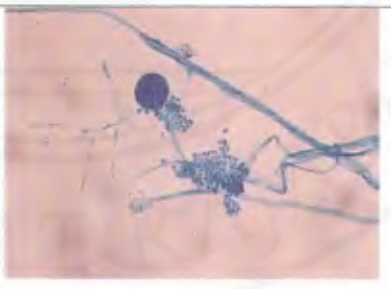
ตารางที่ 4.10 เชื้อราที่มีประสิทธิภาพในการสร้างเอนไซม์ไลเปส

รหัสเชื้อ	ลักษณะโคโลนี	ลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์	ชนิด
SP 7-35			*Penicillium* sp.
DP S 1-2			*Aspergillus* sp.
DP S 1-4			*Paecilomyces* sp.
DP S1-14			*Aspergillus* sp.
DP S 1-24			Sterile hypha

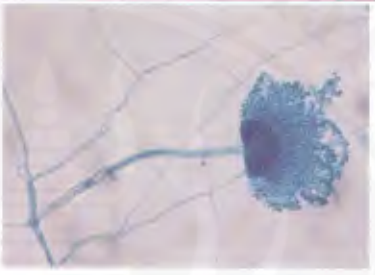
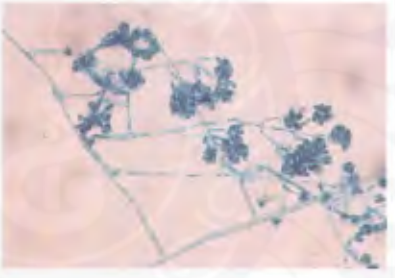
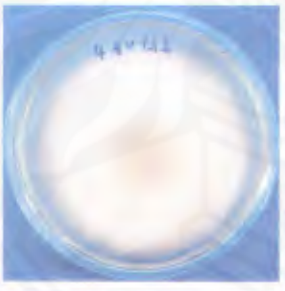
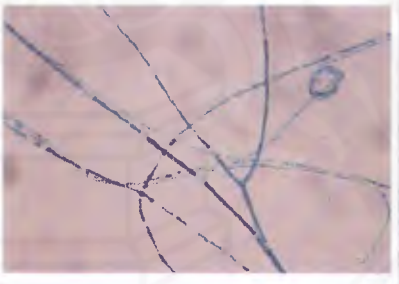
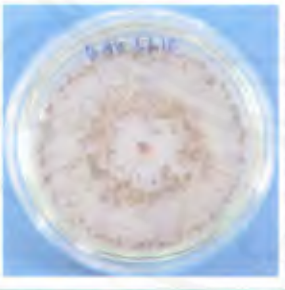
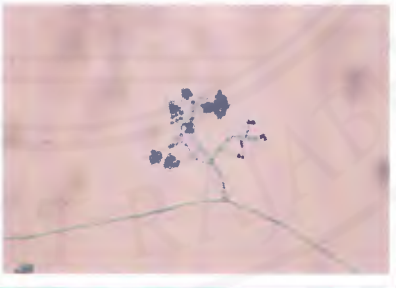
ตารางที่ 4.10 เชื้อราที่มีประสิทธิภาพในการสร้างเอนไซม์ไลเปส(ต่อ)

รหัสเชื้อ	ลักษณะโคโลนี	ลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์	ชนิด
DP S 2-2			*Aspergillus* sp.
DP S 2-33			*Aspergillus* sp.
DP S 2-34			*Aspergillus* sp.
DP S 2-46			*Aspergillus* sp.
DP S 3-5			Sterile hypha

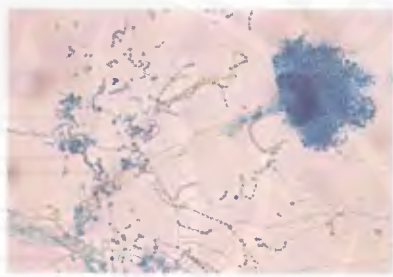
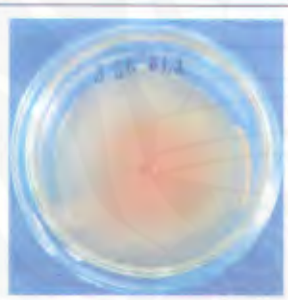
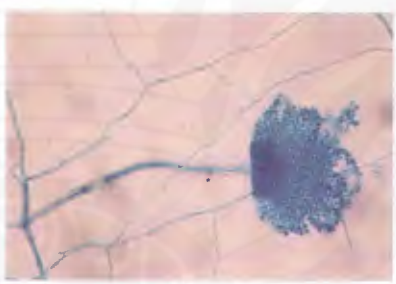
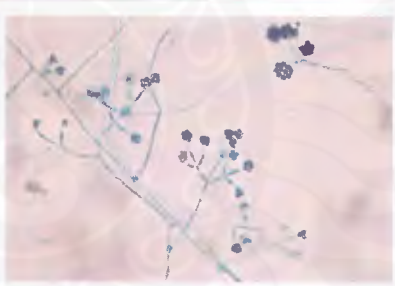
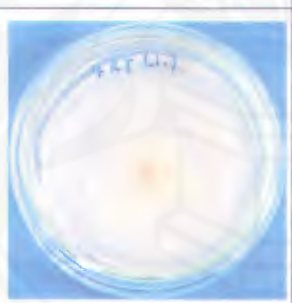
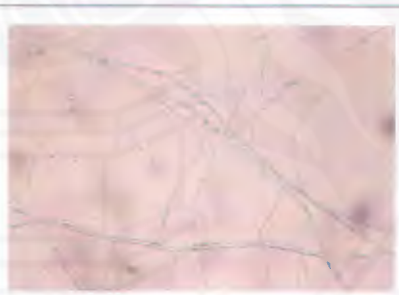
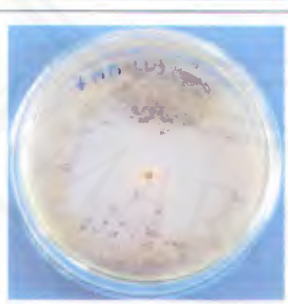
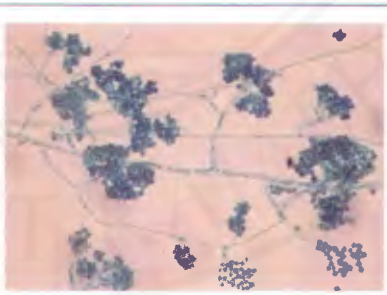
ตารางที่ 4.10 เชื้อราที่มีประสิทธิภาพในการสร้างเอนไซม์ไลเปส (ต่อ)

รหัสเชื้อ	ลักษณะโคโลนี	ลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์	ชนิด
DP S 5-2			*Acremonium* sp.
DP S 5-19			*Aspergillus* sp.
DP S 5-22			Sterile hypha
DP S 6-15			Sterile hypha
DP S 6-33			*Gongrnonella* sp.

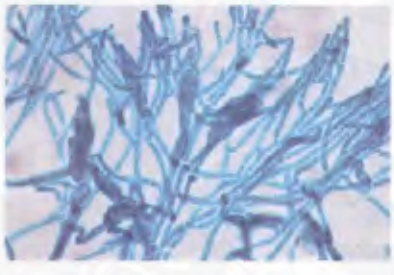
ตารางที่ 4.10 เชื้อราที่มีประสิทธิภาพในการสร้างเอนไซม์ไลเปส (ต่อ)

รหัสเชื้อ	ลักษณะโคโลนี	ลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์	ชนิด
1 AV P1.3			*Aspergillus* sp.
1 AV L1.4			*Aspergillus* sp.
2 AV M1.2			*Trichoderma* sp.
4 AV L1.6			Sterile hypha
4 AVL1.10			*Trichoderma* sp.

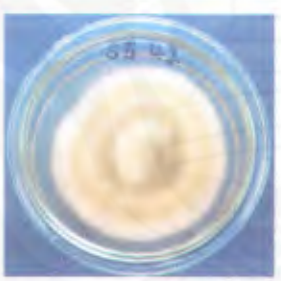
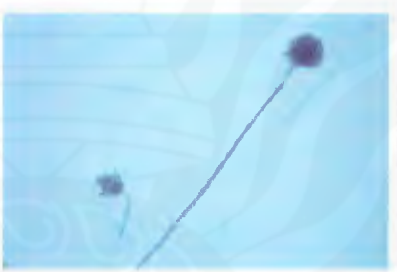
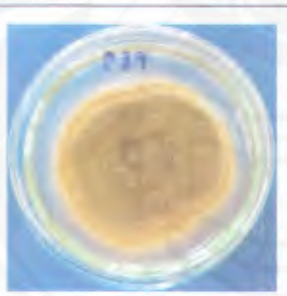
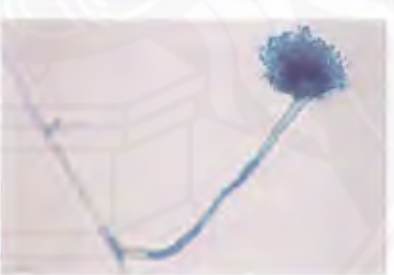
ตารางที่ 4.10 เชื้อราที่มีประสิทธิภาพในสร้างเอนไซม์ไลเปส (ต่อ)

รหัสเชื้อ	ลักษณะโคโลนี	ลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์	ชนิด
4 AV M1.10			*Aspergillus* sp.
3 SC B1.2			*Aspergillus* sp.
3 RT L1.1			*Trichoderma* sp
4 RT L1.3			Sterile hypha
4 MM L1.3			*Trichoderma* sp

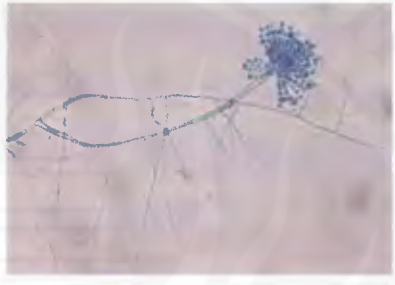
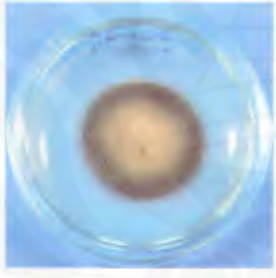
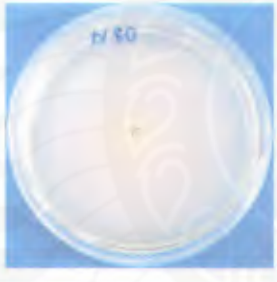
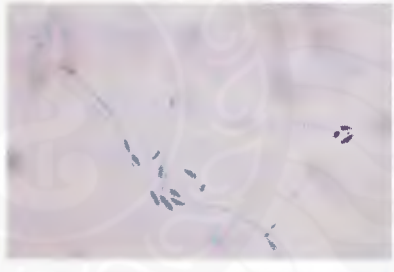
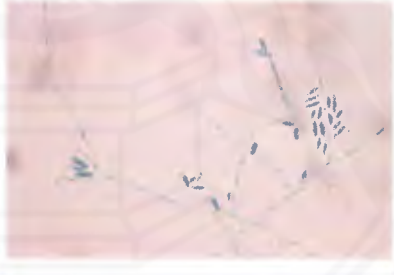
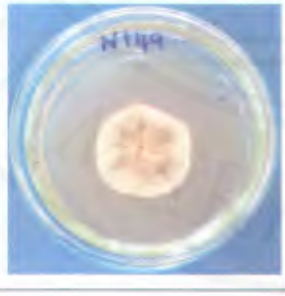
ตารางที่ 4.10 ชนิดของเชื้อราที่มีประสิทธิภาพในสร้างเอนไซม์ไลเปส (ต่อ)

รหัสเชื้อ	ลักษณะโคโลนี	ลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์	ชนิด
W 170			*Fusarium* sp.
S 1 23			*Acremonium* sp.
SS 58			Sterile hypha

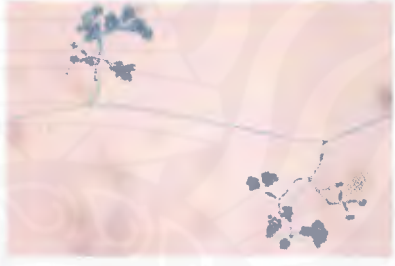
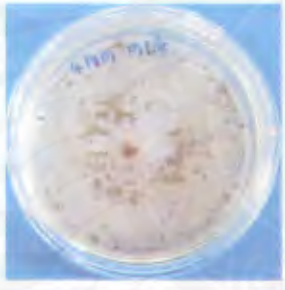
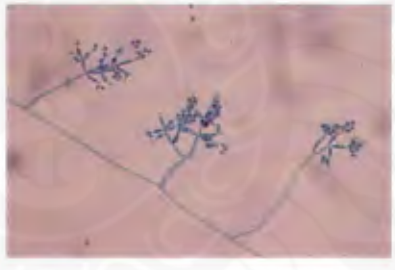
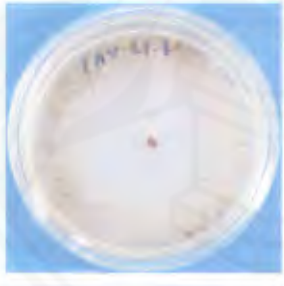
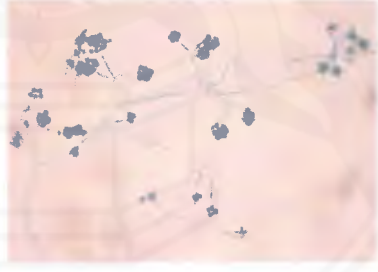
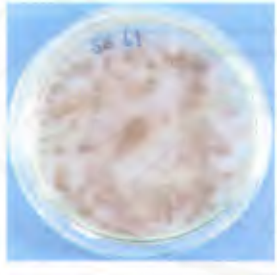
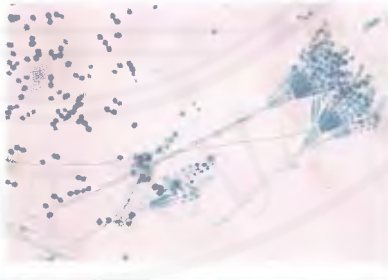
ตารางที่ 4.11 เชื้อราที่มีประสิทธิภาพในการสร้างเอนไซม์โปรติเอส

รหัสเชื้อ	ลักษณะโคโลนี	ลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์	ชนิด
SP 3-13			*Penicillium* sp.
S5 42			*Aspergillus* sp.
S 2 72			*Penicillium* sp.
P 39			*Aspergillus* sp.
SP 4-10			Sterile hypha

ตารางที่ 4.12 เชื้อราที่มีประสิทธิภาพในการสร้างเอนไซม์แลคเคส

รหัสเชื้อ	ลักษณะโคโลนี	ลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์	ชนิด
DP S 2-46			*Aspergillus* sp.
DP S 3-5			Sterile hypha
W 80			*Fusarium* sp.
W 98			*Fusarium* sp.
W 149			*Penicillium* sp.

ตารางที่ 4.13 เชื้อราที่มีประสิทธิภาพในการสร้างเอนไซม์ไทโรซิเนส

รหัสเชื้อ	ลักษณะโคโลนี	ลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์	ชนิด
DP S 6-23			*Penicillium* sp.
1 MM B1.3			*Trichoderma* sp.
4 MMM1.8			*Trichoderma* sp.
1 AV L1.7			*Trichoderma* sp.
SS 61			*Penicillium* sp.

จากเชื้อราที่มีประสิทธิภาพดีในการสร้างเอนไซม์ที่นำมาจำแนกชนิด เมื่อพิจารณาจำนวนไอโซเลตของเชื้อราที่สร้างเอนไซม์ที่มีประสิทธิภาพแต่ละชนิดได้มากที่สุด พบว่าเชื้อรา *Aspergillus* spp. เป็นเชื้อราที่มีจำนวนไอโซเลตที่สร้างเอนไซม์อะไมเลส เซลลูเลส และไลเปส มีประสิทธิภาพมากที่สุด และมีจำนวนไอโซเลตสร้างเอนไซม์โปรติเอสมีประสิทธิภาพดีได้เท่ากับ *Pennicillium* spp. โดยมีเชื้อรา *Aspergillus* spp. ที่สร้างเอนไซม์ดังกล่าวได้จำนวน 5, 5, 11 และ 2 ไอโซเลต ตามลำดับ ในขณะที่เชื้อรา *Fusarium* spp. และ *Trichoderma* spp. มีจำนวนไอโซเลตที่สร้างเอนไซม์แลคเคส และไทโรซิเนส มีประสิทธิภาพดีได้มากที่สุด โดยสร้างได้ 2 และ 3 ไอโซเลต ตามลำดับ (ตารางที่ 4.14 และภาพที่ 4.6)

เมื่อพิจารณาถึงชนิดของเชื้อราที่สร้างเอนไซม์มีประสิทธิภาพดีได้มากชนิด และเอนไซม์ที่มีประสิทธิภาพดีถูกสร้างโดยกลุ่มของเชื้อรามากที่สุด พบว่าเชื้อรา *Aspergillus* spp. และ *Pennicillium* spp. เป็นกลุ่มเชื้อราที่สร้างเอนไซม์มีประสิทธิภาพดีได้มากชนิดที่สุด โดยสร้างได้กลุ่มละ 6 ชนิด ในขณะที่ไลเปสที่มีประสิทธิภาพดีเป็นเอนไซม์ที่ถูกสร้างโดยเชื้อรามากกลุ่มที่สุด โดยมีเชื้อราถึง 8 กลุ่ม ที่สร้างเอนไซม์นี้ได้ (ตารางที่ 4.14 และภาพที่ 4.6)

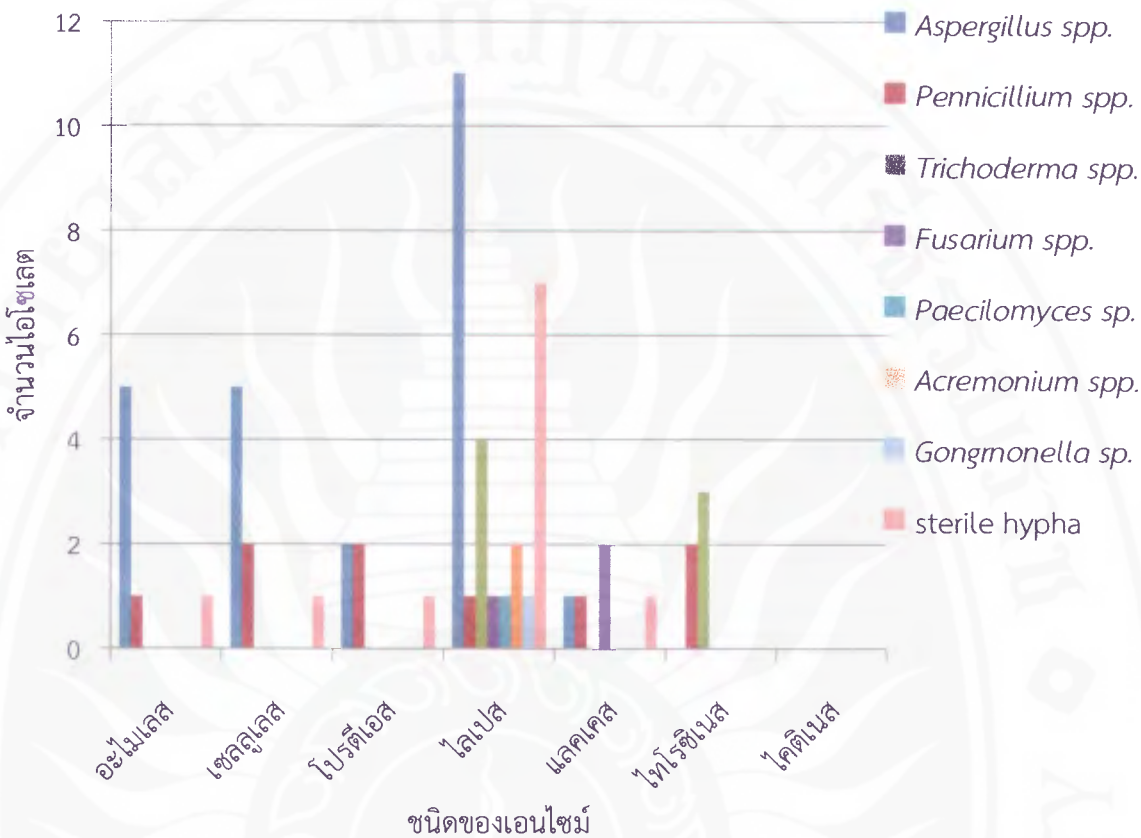
สำหรับเชื้อรากลุ่มที่ไม่สร้างสปอร์ (sterile hypha) เป็นเชื้อราที่พบว่าสามารถสร้างเอนไซม์มีประสิทธิภาพดีได้ 5 ชนิด (ตารางที่ 4.14 และภาพที่ 4.6)

ตารางที่ 4.14 ชนิดของเชื้อราที่มีประสิทธิภาพในการสร้างเอนไซม์แต่ละชนิด

ชนิดเชื้อรา (จำนวนไอโซเลต)	ชนิดเอนไซม์ (extracellular enzyme production ratios)						
	อะไมเลส	เซลลูเลส	ไคติเนส	โปรติเอส	ไลเปส	แลคเคส	ไทโรซิเนส
Aspergillus sp. (20)	DP S 1-1 (2.25)	DP S 2 34 (2.13)		S5 42 (1.92)	DP S 1 2 (2.40)	DP S 2 46 (1.67)	
	DP S 1-2 (2 33)	DP S 2-39 (3.25)		P 39 (1.60)	DP S1-14 (2.00)		
	DP S 1-14 (3.60)	4 MM M1.3 (2.73)			DP S 2-2 (8.33)		
	DP S 1-25 (2.61)	3 SC L1.1 (2.50)			DP S 2-33 (3.28)		
	DP S 2-1 (2 91)	S2 43 (2.00)			DP S 2 34 (2.27)		
					DP S 2-46 (5.16)		
					DP S 5-19 (2.40)		
					1AV P1.3 (2 50)		
					1 AV L1.4 (2.07)		
					4 AV M1.10 (2.83)		
					3 SC B1.2 (2.25)		

ตารางที่ 4.14 ชนิดของเชื้อราที่มีประสิทธิภาพในการสร้างเอนไซม์แต่ละชนิด (ต่อ)

ชนิดเชื้อรา (จำนวนไอโซเลต)	ชนิดเอนไซม์ (extracellular enzyme production ratios)						
	อะไมเลส	เซลลูเลส	ไคติเนส	โปรติเอส	ไลเปส	แลคเคส	ไทโรซิเนส
Paecilomyces sp. (1)					DP S 1-4 (2.00)		
Gongronella sp. (1)					DP S 6-33 (5.28)		
Acremonium sp. (2)					DP S 5 2 (2.50)		
					S1 23 (2.60)		
Trichoderma spp. (7)					2 AV M1.2 (2.75)		1 MM B1 3 (1.50)
					4 AVL1.10 (2.75)		4 MM M1.8 (1 50)
					3 RT L1.1 (2.36)		1 AV L1.7 (1.44)
					4 MML1.3 (2.00)		
Fusarium spp. (3)					W 170 (2 14)	W 80 (1.67)	
						W 98 (1.67)	
Penicillium spp. (9)	DP S 1 19 (3.25)	DP S 2-42 (2.00)		SP 3-13 (1.60)	SP 7-35 (2.27)	W 149 (1.67)	DP S 6 23 (1 57)
		PW 8 (2.14)		S2 72 (1.57)			SS 61 (1.56)
Sterile hypha (11)	DP S 1-11 (2.75)	2 ML B1.3 (3.00)		SP 4-10(1 55)	DP S 1 24 (2.66)	DP S 3-5 (1.67)	
					DP S 3-5 (3.55)		
					DP S 5-22 (3.00)		
					DP S 6-15 (3 10)		
					4AV L1.6 (2.08)		
					4 RT L1.3 (2.18)		
					S5 58 (2.33)		
รวม	7	8	0	5	28	5	5



ภาพที่ 4.6 จำนวนไอโซเลตของเชื้อราที่มีประสิทธิภาพในการสร้างเอนไซม์แต่ละชนิด

6. การจำแนกชนิดของเชื้อราป่าพรุที่มีประสิทธิภาพในการสร้างเอนไซม์ดีด้วยวิธีทางชีวโมเลกุล

จากการคัดเลือกเชื้อราป่าพรุที่มีประสิทธิภาพในการสร้างเอนไซม์แต่ละชนิดสูงสุด 5 อันดับแรก ไปจำแนกโดยอาศัยวิธีการทางชีวโมเลกุล พบว่า มีเชื้อรา 3 ไอโซเลต คือ ที่สร้างเอนไซม์ที่มีประสิทธิภาพดี 2 ชนิด ทำให้ได้เอนไซม์ที่นำไปจำแนกโดยอาศัยวิธีการชีวโมเลกุล 27 ชนิด เมื่อนำเชื้อราดังกล่าวไปสกัด DNA แล้วนำ DNA ที่สกัดได้ไปทำ PCR บริเวณยีน ITS1 ถึง ITS2 ด้วยคู่ primer ITS5 และ ITS4 พบว่ามีเชื้อราจำนวน 3 ไอโซเลต คือ DPS 1-11, DPS 3-5 และ SP 4-10 ที่เป็นเชื้อราในกลุ่มที่ไม่สร้างสปอร์ (mycelia sterilia) ที่ไม่สามารถเพิ่มปริมาณ DNA ในส่วนของ ITS rDNA ได้ สำหรับเชื้อราที่เพิ่มปริมาณ DNA ได้ ได้ส่ง PCR product ที่ได้ไปอ่านลำดับเบสของ DNA ด้วยวิธี direct sequenced ที่ Macrogen ประเทศเกาหลี แล้วนำข้อมูลที่ได้มา BLAST search ผ่าน NCBI GeneBank database ซึ่งพบว่ามีเชื้อราจำนวน 23 ไอโซเลต ที่สามารถจำแนกได้ถึงระดับสปีชีส์ และมีเชื้อรา 1 ไอโซเลต ที่สามารถจำแนกได้เพียงระดับจีนัส ข้อมูลของเชื้อราที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้ให้ค่า % identities กับข้อมูลใน NCBI GeneBank database อยู่ในช่วง 95-100% และผลจากการจำแนกเชื้อราในครั้งนี้พบว่าการจำแนกชนิดเชื้อราในระดับจีนัสของเชื้อราที่สร้างสปอร์โดยอาศัยข้อมูลทางชีวโมเลกุลให้ผลสอดคล้องกับผลจากการจำแนกโดยอาศัยข้อมูลทางสัณฐานวิทยา (ตารางที่ 4.15)

เชื้อราดินถ้ำที่ยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคได้ดีทีสามารถเพิ่มปริมาณ DNA ได้ ที่สร้างสปอร์จำนวน 23 ไอโซเลตที่นำมาจำแนกทางชีวโมเลกุล พบเป็น เชื้อรา *Aspergillus* 10 ไอโซเลต (*A. flavus* 4 ไอโซเลต, *A. terreus* 2 ไอโซเลต และ *A. niger*, *A. nidulans*, *A. ustus* และ *A. paradoxus* ชนิดละ 1 ไอโซเลต) เป็นเชื้อ *Penicililum* 7 ไอโซเลต (*P. citrium*, *P. notatum*, *P. expansum*, *P. commune*, *P. purpurogenum*, *P. frequentans* และ *Penicililum* sp F02 ชนิดละ 1 ไอโซเลต) เป็น *Trichoderma* 3 ไอโซเลต (*T. atroviridae*, *T. pleurotum* และ *T. hazianum* ชนิดละ 1 ไอโซเลต) เป็นเชื้อ *Fusarium oxysporium* 2 ไอโซเลต *Gongronella butleri* 1 ไอโซเลต ส่วนเชื้อรา 2ML B1.3 ที่ไม่สร้างสปอร์ เมื่อนำมาจำแนกพบว่าเป็นเชื้อรา *Schizophylum commune* (ตารางที่ 4.13)

สำหรับราดินที่ให้ค่าประสิทธิภาพในการสร้างเอนไซม์ดี 2 ชนิด คือ DPS 1-14 ที่สร้างอะไมเลสและไลเปสที่มีประสิทธิภาพดี ส่วน DPS 2-46 ที่สร้างไลเปสและแลคเคสที่มีประสิทธิภาพ ผลการจำแนกพบว่าเป็นเชื้อ *A. flavus* แต่ไม่สามารถเพิ่มปริมาณ DNA ของ DPS 3-5 ที่เป็นเชื้อราที่สร้างไลเปสและแลคเคสที่มีประสิทธิภาพ แต่ไม่สร้างสปอร์ได้ จึงไม่สามารถจำแนกเชื้อไอโซเลตนี้ได้

ตารางที่ 14.15 ชนิดของราป่าพรุที่สร้างเอนไซม์ที่มีประสิทธิภาพดี

รหัสเชื้อราดินถ้ำ	ผลการจำแนกด้วยวิธีทางชีวโมเลกุล		ผลการจำแนกด้วยวิธีทางสัณฐานวิทยา	ชนิดของเอนไซม์ที่มีประสิทธิภาพดี
	ชนิดของรา	% identities	ชนิดของรา	
DPS 1-11	-		Mycelia sterilia	อะไมเลส
DPS 1-14	*Aspergillus flavus*	100	*Aspergillus* sp.	อะไมเลสและไลเปส
DPS 1-19	*Pennicillium notatum*	100	*Pennicillium* sp.	อะไมเลส
DPS 1-25	*Aspergillus terreus*	98	*Aspergillus* sp.	อะไมเลส
DPS 2-1	*Aspergillus terreus*	99	*Aspergillus* sp.	อะไมเลส
DPS 2-39	*Aspergillus flavus*	100	*Aspergillus* sp.	เซลลูเลส
2ML B1.3	*Schizophylum commune*	95	Mycelia sterilia	เซลลูเลส
4MM M1.3	*Aspergillus niger*	98	*Aspergillus* sp.	เซลลูเลส
3SC L1.1	*Aspergillus flavus*	100	*Aspergillus* sp.	เซลลูเลส
PW 8	*Pennicillium expansum*	100	*Pennicillium* sp.	เซลลูเลส
DPS 2-2	*Aspergillus nidulans*	99	*Aspergillus* sp.	ไลเปส
DPS 2-46	*Aspergillus flavus*	100	*Aspergillus* sp.	ไลเปสและแลคเคส
DPS 3-5	-		Mycelia sterilia	ไลเปสและแลคเคส
DPS 6-33	*Gongronella butleri*	98	*Gongronella* sp.	ไลเปส
SP 3-13	*Pennicillium* sp. FO2	100	*Pennicillium* sp.	โปรติเอส
S 5 42	*Aspergillus ustus*	98	*Aspergillus* sp.	โปรติเอส
S 2 72	*Pennicillium commune*	98	*Pennicillium* sp.	โปรติเอส
P 39	*Aspergillus paradoxus*	98	*Aspergillus* sp.	โปรติเอส
SP 4-10	-		Mycelia sterilia	โปรติเอส
W 80	*Fusarium oxysporum*	100	*Fusarium* sp.	แลคเคส
W 98	*Fusarium oxysporum*	100	*Fusarium* sp.	แลคเคส
W 149	*Pennicillium purpurogenum*	98	*Pennicillium* sp.	แลคเคส
DPS 6-23	*Pennicillium frequentans*	98	*Pennicillium* sp.	ไทโรซิเนส
1MM B1.3	*Trichoderma atroviridae*	100	*Trichoderma* sp.	ไทโรซิเนส
4MM M1.8	*Trichoderma pleurotum*	100	*Trichoderma* sp.	ไทโรซิเนส
1AV L1.7	*Trichoderma harzianum*	99	*Trichoderma* sp.	ไทโรซิเนส
SS 61	*Pennicillium citrium*	100	*Pennicillium* sp.	ไทโรซิเนส

- = ไม่สามารถเพิ่มปริมาณ DNA ในส่วนของ ITS rDNA ได้

บทที่ 5

สรุป อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

จากการนำเชื้อราที่แยกได้จากพืช ดิน และน้ำในป่าพรุควนเคร็งจำนวนทั้งหมด 1,013 ไอโซเลต เป็นเชื้อราที่แยกได้จากดิน พืช และน้ำ จำนวน 423, 303 และ 287 ไอโซเลต ตามลำดับ ไปเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เป็นเวลา 7 วัน เพื่อคัดเลือกเฉพาะเชื้อราที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีมากกว่าหรือเท่ากับ 5 cm เพื่อนำไปใช้ในการทดสอบการสร้างเอนไซม์พบว่า มีจำนวนเชื้อราที่คัดเลือกได้ทั้งหมดจำนวน 417 ไอโซเลต ซึ่งเป็นเชื้อราที่แยกได้จากดิน พืช และน้ำ จำนวน 207, 121 และ 89 ไอโซเลต ตามลำดับ

ในการศึกษาครั้งนี้ได้ทำการทดสอบการสร้างเอนไซม์ด้วยวิธี culture plate method ซึ่งจะทำการเลี้ยงเชื้อราบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีการเติมสารตั้งต้นของเอนไซม์แต่ละชนิดลงไปในอาหารเลี้ยงเชื้อ แล้วตรวจสอบความสามารถของเชื้อราที่สามารถสร้างเอนไซม์ย่อยสลายสารตั้งต้นซึ่งการสังเกตการสร้างเอนไซม์แต่ละชนิดจะแตกต่างกัน โดยเชื้อราที่มีการสร้างเอนไซม์อะไมเลส เซลลูเลส ไคติเนส ไลเปส และโปรติเอส เมื่อทดสอบด้วยสารละลายที่ใช้ทดสอบการสร้างเอนไซม์พบว่าจะเห็นวงใสรอบ ๆ โคโลนีของเชื้อรา ส่วนเอนไซม์แลคเคสและไทโรซิเนสจะให้ผลการสร้างเอนไซม์โดยการเปลี่ยนสีของอาหารเลี้ยงเชื้อ ซึ่งเชื้อราที่สร้างเอนไซม์แลคเคสจะออกซิไดส์ 1-naphthol ทำให้สีของอาหารเลี้ยงเชื้อเปลี่ยนจากไม่มีสีเป็นสีฟ้า-ม่วง และเชื้อราที่มีการสร้างเอนไซม์ไทโรซิเนสได้จะสังเกตเห็นสีแดงอมน้ำตาลรอบ ๆ โคโลนี ซึ่งจากผลการทดลองในครั้งนี้พบว่าในบางครั้งจะสังเกตการสร้าง clear zone หรือสารสีได้ยาก ซึ่งอาจเป็นเพราะเชื้อรามีการสร้างเอนไซม์น้อยหรือเอนไซม์ที่สร้างได้มีความเจือจางมากหรือวิธีการที่ใช้ในการตรวจสอบมีความไวต่ำ ด้วยเหตุผลดังกล่าวจึงมีผู้วิจัยบางกลุ่มที่ได้พยายามหาสารเคมีชนิดใหม่เพื่อใช้ในการตรวจผลการสร้างเอนไซม์ เช่น ในการตรวจหาจุลินทรีย์ที่สามารถผลิตเซลลูเลส โดยทั่วไปจะนำจานอาหารที่บรรจุคาร์บอกซีเมธิลเซลลูโลส (CMC) มาเททับด้วยเฮกซาดีซิลไทรเมธิลแอมโมเนียมโบรไมด์ 1% หรือเททับด้วย คองโกเรด 0.1% ตามด้วย 1 M โซเดียมคลอไรด์ ซึ่งทั้งสองวิธีจะต้องใช้เวลานาน และเห็นบริเวณที่เกิดการย่อยไม่ชัด Ramesh *et.al.*, (2008) ได้รายงานถึงการใช้แกรมไอโอดีนในการตรวจหาจุลินทรีย์ที่ผลิตเซลลูเลสซึ่งทำบนอาหาร CMC เช่นเดียวกัน แต่เปลี่ยนมาเททับด้วยแกรมไอโดดีนแทนรีเอเจนต์สองตัวดังกล่าว แล้วพบว่าแกรมไอโอดีนจะไปสร้างเป็นสารประกอบเชิงซ้อนสีน้ำเงินดำกับเซลลูโลส แทนที่จะไปจับกับบริเวณที่เกิดการย่อยด้วยเซลลูโลสจึงทำให้มองเห็นบริเวณที่มีสีน้ำเงินดำรอบโคโลนีที่มีการสร้างเซลลูโลสได้อย่างชัดเจน และเห็นผลได้รวดเร็ว เป็นต้น

ผลจากการนำเชื้อราจากป่าพรุควนเคร็ง จำนวนทั้งสิ้น 417 ไอโซเลต ไปทดสอบความสามารถของเชื้อราในการสร้างเอนไซม์ที่มีประโยชน์ทางอุตสาหกรรม 7 ชนิด คือ เอนไซม์อะไมเลส เซลลูเลส ไคติเนส แลคเคส ไลเปส โปรติเอส และไทโรซิเนส พบว่า มีเชื้อราจำนวน 211 ไอโซเลต ที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ได้อย่างน้อย 1-3 ชนิด ซึ่งจัดเป็นเชื้อราที่สร้างเอนไซม์ 1 ชนิด มากที่สุด จำนวน 159 ไอโซเลต และเป็นเชื้อราที่สร้างเอนไซม์ได้ 2 และ 3 ชนิด

จำนวน 35 และ 17 ไอโซเลต ตามลำดับ จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าเชื้อราที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ส่วนใหญ่สามารถสร้างเอนไซม์ได้น้อยชนิด

เชื้อราป่าพรุสามารถสร้างเอนไซม์เซลลูเลสได้มากที่สุด รองลงมาคือเอนไซม์ไลเปสและเอนไซม์ไทโรซิเนส สามารถสร้างเอนไซม์อะไมเลส โปรติเอส และแลคเคสได้น้อย และไม่มีเชื้อราใดที่สามารถสร้างเอนไซม์ไคติเนสได้ ผลการศึกษาในครั้งนี้สอดคล้องกับผลการวิจัยของประไพพิศ (2552) ที่ทำการแยกราเอนโดไฟท์จากพืชป่าชายเลนในภาคใต้ แล้วสุ่มเลือกมา 300 ไอโซเลต เพื่อศึกษาการสร้างไลเปสและเซลลูเลส และสุ่มเลือกอีก 180 ไอโซเลต เพื่อศึกษาการสร้างอะไมเลสและโปรติเอสด้วยวิธี plate method แล้วพบว่าราเอนโดไฟท์ที่ศึกษาส่วนใหญ่สร้างเอนไซม์ไลเปสและเซลลูเลสได้ และพบการสร้างเอนไซม์อะไมเลสน้อยมาก และไม่พบว่ามีราเอนโดไฟท์ใดที่สามารถสร้างเอนไซม์โปรติเอสได้ และสอดคล้องกับงานวิจัยของ Maria และคณะ (2005) ที่ได้ศึกษาการสร้างเอนไซม์จากราเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากพืชป่าชายเลน 2 ชนิด คือ *Acanthus ilicifolius* และ *Acrostichum aureum* ที่ประเทศอินเดีย แล้วพบว่าราเอนโดไฟท์ทุกตัวที่นำมาทดสอบ สามารถสร้างเอนไซม์ไลเปสและเซลลูเลสได้ แต่พบการสร้างอะไมเลสและโปรติเอสน้อยมาก และจากการศึกษาของ Lumyong et al. (2002) ที่ศึกษาการสร้างเซลลูเลส แมนนาเนส โปรติเอส และไซลาเนส โดยราเอนโดไฟท์ที่แยกจากพืชพื้นเมือง จากอุทยานแห่งชาติดอยสุเทพ-ปุย จังหวัดเชียงใหม่ แล้วพบว่าราเอนโดไฟท์สามารถสร้างเอนไซม์ต่าง ๆ เหล่านี้ได้ แต่มีเชื้อราจำนวนน้อยที่สร้างเอนไซม์โปรติเอสได้ ผลจากการศึกษาแสดงให้เห็นว่าราจะสร้างเอนไซม์เพื่อย่อยสลายซับสเตรทต่าง ๆ ที่จำเพาะต่อเอนไซม์ และเชื้อราส่วนใหญ่สามารถสร้างเอนไซม์เซลล์ลูเลสเพื่อย่อยเซลลูโลสที่เป็นองค์ประกอบส่วนใหญ่ของพืช

จากการศึกษาความสามารถในการสร้างเอนไซม์ของเชื้อรา สามารถคัดเลือกเชื้อราที่สามารถสร้างเอนไซม์แต่ละชนิดที่มีประสิทธิภาพได้ จำนวน 53 ไอโซเลต เมื่อไปจำแนกโดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยาและโครงสร้างต่าง ๆ ของราภายใต้กล้องจุลทรรศน์โดยใช้เทคนิค slide culture พบเป็นเชื้อราที่มีการสร้างสปอร์และสามารถจำแนกชนิดได้จำนวน 43 ไอโซเลต อยู่ใน division Eumycota ใน sub-division Deuteromycotina โดยจัดเป็นเชื้อราในกลุ่ม Hyphomycetes จำนวน 42 ไอโซเลต ได้แก่ *Aspergillus* spp., *Trichoderma* spp., *Penicillium* spp., *Acremonium* spp., *Paecilomyces* sp. และ *Fusarium* spp. และเป็นเชื้อราใน sub-division Zygomycotina อยู่ในกลุ่ม Zygomycetes จำนวน 1 ไอโซเลต ได้แก่ *Gongronella* sp. นอกจากนั้นพบเชื้อราที่ไม่สร้างสปอร์ (sterile hypha) จัดอยู่ในกลุ่ม mycelia sterilia จำนวน 10 ไอโซเลต สำหรับเชื้อราในกลุ่ม Hyphomycetes จำนวน 42 ไอโซเลต พบว่า เป็นเชื้อรา *Aspergillus* spp. โดยพบ จำนวน 20 ไอโซเลต รองลงมาคือ *Penicillium* spp., *Trichoderma* spp., *Fusarium* spp., *Acremonium* spp. และ *Paecilomyces* sp. จำนวน 9, 7, 3, 2 และ 1 ไอโซเลต

จากการศึกษาของผู้วิจัยคณะอื่นที่ได้ทำการศึกษาความหลากหลายของเชื้อรา ในป่าพรุสิรินธร จังหวัดนราธิวาส เช่น ฐิติยา (2546) ที่ศึกษาความหลากหลายของเชื้อรา Ascomycetes และ Mitosporic fungi ซึ่งได้เก็บตัวอย่างใบ ก้านใบ และผลของพืชวงศ์ปาล์มจำนวน 12 ชนิด จากตัวอย่างพืชได้ทั้งหมด 340 ตัวอย่าง พบเชื้อราทั้งหมด 111 ชนิด ได้แก่ Ascomycetes 38 ชนิด และ Mitosporic fungi 73 ชนิด และจากการศึกษาของเพ็ญพร (2548) ได้เก็บตัวอย่างใบไม้ที่จมอยู่ใน

น้ำป่าพรุสิรินธร และแยกเชื้อราโดยวิธี dilution plate พบ เชื้อรา 38 สายพันธุ์ เชื้อราที่จำแนกได้ ได้แก่ *Aspergillus* spp., *Penicillium* sp , *Trichoderma* sp. และ *Scytalidea* sp. เชื้อราส่วนใหญ่ไม่สามารถจำแนกชนิดได้ เนื่องจากเชื้อราไม่สร้างสปอร์ รวมทั้งได้มีการศึกษาเชื้อราที่ขึ้นอยู่บนเศษซากพืชต่าง ๆ โดยเก็บใบ กิ่ง และผลของพืชที่ร่วงหล่น และจมอยู่ใต้น้ำในป่าพรุสิรินธร ซึ่งได้เก็บตัวอย่างทั้งหมด 408 ตัวอย่าง พบเชื้อรา Hyphomycetes จำนวน 87 ชนิด

จากการเปรียบเทียบผลการศึกษาความหลากหลายของเชื้อราในพื้นที่ป่าพรุสิรินธรกับการศึกษาความหลากหลายของเชื้อราป่าพรุควนเคร็งที่สร้างเอนไซม์ในครั้งนี้ พบว่าในพื้นที่ป่าพรุทั้ง 2 แห่ง แม้จะพบเชื้อราหลักเหมือนกัน แต่มีเชื้อราบางชนิดที่พบในป่าพรุแต่ละแหล่งเท่านั้น ทั้งนี้อาจเนื่องสภาพแวดล้อมที่แตกต่างกันในป่าพรุแต่ละพื้นที่ อาจส่งผลให้มีเชื้อราที่แตกต่างกันได้ อย่างไรก็ตามลักษณะที่สำคัญอย่างหนึ่งที่ต้องพบในเชื้อราป่าพรุทุกชนิดก็คือเชื้อราจะต้องมีความสามารถในการปรับตัวให้อยู่ในพื้นที่ที่ดินและน้ำมีสภาพเป็นกรดสูง และมีดินอินทรียวัตถุปกคลุมผิวดินมากได้

การจำแนกเชื้อราโดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยา เป็นวิธีการที่ต้องใช้เวลาในการเพาะเลี้ยง มักมีการปนเปื้อนจากเชื้อราในอากาศและมักพบเชื้อราที่ไม่สร้างสปอร์ ทำให้ไม่สามารถจำแนกชนิดของเชื้อราได้ และเชื้อราหลายชนิดมีลักษณะสัณฐานที่คล้ายคลึงกัน แต่ไม่มีความสัมพันธ์เกี่ยวข้องกันนอกจากนี้ลักษณะสัณฐานของเชื้อราส่วนใหญ่จะเปลี่ยนแปลงไปตามปัจจัยสิ่งแวดล้อม ส่งผลให้การจำแนกเชื้อราอาจเกิดการผิดลาดได้ และการจำแนกด้วยวิธีทางสัณฐานวิทยาเพียงอย่างเดียวต้องอาศัยผู้มีประสบการณ์ การจำแนกเชื้อราในปัจจุบันจึงมักเปลี่ยนมาใช้วิธีการทางชีวโมเลกุลแทนการใช้ลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อรา ในการศึกษาครั้งนี้จึงได้ทำการคัดเลือกเชื้อรา 5 ลำดับแรก ที่มีประสิทธิภาพในการสร้างเอนไซม์แต่ละชนิด มาทำการจำแนกอีกครั้งโดยวิธีทางชีวโมเลกุล โดยเลือกศึกษาในส่วนของ internal transcribed spacer (ITS) ซึ่งเป็นบริเวณที่สำคัญในการศึกษาระดับสปีชีส์หรือระหว่างสปีชีส์ เนื่องจากบริเวณนี้เป็นบริเวณที่ผันแปรมากที่สุด ผลจากการศึกษาพบว่าการจำแนกเชื้อราโดยวิธีการทางชีวโมเลกุลในครั้งนี้ สามารถจำแนกเชื้อราส่วนใหญ่ได้ถึงระดับสปีชีส์ และสามารถจำแนกเชื้อราที่ไม่สร้างสปอร์ได้ และให้ผลการจำแนกในระดับจีนัสสอดคล้องกับผลที่ได้การจำแนกโดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยา อย่างไรก็ตามมีเชื้อราที่ไม่สร้างสปอร์บางไอโซเลตที่ไม่สามารถเพิ่มปริมาณ DNA ในส่วนของ ITS ได้ จึงไม่สามารถจำแนกชนิดได้ การเปลี่ยนไปใช้วิธีการเพิ่มปริมาณ DNA ในส่วนอื่น หรือหาสภาวะที่เหมาะสมในการเพิ่มปริมาณ DNA โดยวิธี PCR อาจทำให้สามารถจำแนกเชื้อราในกลุ่มนี้ได้

จากเชื้อราที่มีประสิทธิภาพในการสร้างเอนไซม์ที่นำมาจำแนกชนิด เมื่อพิจารณาจำนวนไอโซเลตของเชื้อราที่สร้างเอนไซม์ที่มีประสิทธิภาพแต่ละชนิดได้มากที่สุด พบว่าเชื้อรา *Aspergillus* spp. เป็นเชื้อราที่มีจำนวนไอโซเลตที่สร้างเอนไซม์อะไมเลส เซลลูเลส และไลเปส มีประสิทธิภาพมากที่สุด และมีจำนวนไอโซเลตสร้างเอนไซม์โปรติเอสมีประสิทธิภาพดีได้เท่ากับ *Pennicillium* spp. ในขณะที่เชื้อรา *Fusarium* spp. และ *Trichoderma* spp. มีจำนวนไอโซเลตที่สร้างเอนไซม์แลคเคสและไทโรซิเนส มีประสิทธิภาพได้มากที่สุด และเมื่อพิจารณาถึงชนิดของเชื้อราที่สร้างเอนไซม์มีประสิทธิภาพดีได้มากชนิด และเอนไซม์ที่มีประสิทธิภาพดีถูกสร้างโดยกลุ่มของเชื้อรามากที่สุด พบว่าเชื้อรา *Aspergillus* spp. และ *Pennicillium* spp. เป็นกลุ่มเชื้อราที่สร้างเอนไซม์มีประสิทธิภาพดีได้มากชนิดที่สุด โดยสร้างได้กลุ่มละ 6 ชนิด ในขณะที่ไลเปสที่มีประสิทธิภาพดีเป็นเอนไซม์ที่ถูกสร้าง

โดยเชื้อรามากกลุ่มที่สุด โดยมีเชื้อราถึง 8 กลุ่ม ที่สร้างเอนไซม์นี้ได้ ผลจากการศึกษาในครั้งนี้ให้ผลสอดคล้องกับการศึกษาของ Kader *et al*., (1999) ที่ได้ทำการคัดแยกเชื้อราที่สามารถสร้างเซลลูเลสจากตัวอย่างดินบริเวณ Bario Highland ประเทศมาเลเซีย แล้วสามารถคัดแยกได้ 9 ชนิด จำแนกได้ 3 สกุล คือ *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp. และ *Trichoderma* sp. และสอดคล้องกับผลงานวิจัยของประดับ และคณะ (2554) ได้ทำการศึกษาเชื้อราที่คัดแยกจากดินทางการเกษตรของจังหวัดสุรินทร์ ที่สามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลสและเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการย่อยสลาย แล้วพบว่าเชื้อราที่มีความสามารถในการย่อยสลายสูงที่สามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลสได้สูงสุด คือ *Aspergillus niger, Aspergillus* sp., และ *Trichoderma* sp. และจากการศึกษาของ Mahmood *et al*., (2006) ที่ได้คัดแยกและศึกษาเชื้อราจากตัวอย่างดิน 22 ตัวอย่าง ที่ 30 องศาเซลเซียส แล้วสามารถแยกเชื้อราได้ 42 ชนิด เมื่อทำการเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ cellulose medium สามารถจำแนกเชื้อราที่สามารถสร้างเซลลูเลสจากตัวอย่างดิน พบว่าร้อยละ 80 คือ *Aspergillus* sp และ *Penicillium* sp.

แม้ว่าการศึกษาในครั้งนี้จะเป็นการศึกษาเกี่ยวกับความสามารถของเชื้อราป่าพรุในการผลิตเอนไซม์เป็นเบื้องต้น แต่จากข้อมูลที่ได้จากการศึกษาได้แสดงให้เห็นว่าป่าพรุควนเคร็งเป็นแหล่งของเชื้อราที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ที่มีประโยชน์ทางอุตสาหกรรมที่สำคัญ โดยเฉพาะอย่างยิ่งเอนไซม์เซลลูเลส ไลเปส และอะไมเลส จึงควรที่จะศึกษาเชื้อราป่าพรุหรือเอนไซม์ที่ป่าพรุสร้างในเชิงลึก เพื่อให้สามารถนำไปใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมต่าง ๆ ได้ต่อไป

บรรณานุกรม

กาเร็ท โจนส์ และอีวาน เบนจามิน. 2545 ความหลากหลายทางชีวภาพของเชื้อราในปาล์มที่ได้จากป่าพรุสิรินธร จังหวัดนราธิวาส ประเทศไทย. บทคัดย่อ โครงการวิจัยและวิทยานิพนธ์ 2545 : การประชุมวิชาการประจำปีโครงการ BRT ครั้งที่ 6. กรุงเทพฯ.

ฐิติยา สารพัฒน์. 2547. ความหลากหลายของเชื้อ Ascomycetes และ Mitosporic fungi บนพืชวงศ์ปาล์ม ในระบบนิเวศน์ป่าพรุสิรินธร จังหวัดนราธิวาส ประเทศไทย. วิทยานิพนธ์มหาบัณฑิตมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

บุณฑริก ภูริมา 2548. การคัดแยกเชื้อราที่ผลิตเอนไซม์เซลลูเลสที่อุณหภูมิสูงเพื่อการผลิตเอทานอลจากปอสา (*Paper Mulberry*). วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต สาขาชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยนเรศวร.

ประดับ เรียนประยูร และวรรธนะชัย อยู่ในวงศ์. 2554. การคัดเลือกเชื้อราในดินที่สามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลสและเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการย่อยสลาย. ภาควิชาเกษตรและสิงแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสุรินทร์

ประไพพิศ เชาวลิศ. 2551. การคัดเลือกราเอนโดไฟท์จากพืชป่าชายเลนที่สร้างเอนไซม์ไลเปส เซลลูเลส อะไมเลส หรือโปรติเอส. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

เพ็ญพร แสงแก้ว. 2548. ความหลากหลายของเชื้อรา Hyphomycetes ที่อาศัยในน้ำระบบนิเวศป่าพรุสิรินธร จังหวัดนราธิวาส

วสันณ์ เพชรรัตน์. 2544. ความหลากหลายของเชื้อราสร้าง zoospore ในป่าพรุสิรินธร จังหวัดนราธิวาส" บทคัดย่อ โครงการวิจัยวิทยานิพนธ์ 2544 : การประชุมวิชาการประจำปีโครงการ BRT ครั้งที่ 5 อุดรธานี.

วิไลลักษณ์ โคมพันธุ์ และวราภรณ์ ฉุยฉาย. 2554. การใช้ประโยชน์เชื้อราทางด้านการฟื้นฟูสภาพแวดล้อมทางชีวภาพ. วารสารวิชาการและการวิจัย มทร.พระนคร ปีที่ 5 ฉบับที่ 2

สมบูรณ์ เจริญจิระตระกูล, อาแว มะแส, ปราโมทย์ แก้ววงศ์ศรีม และ ปริญญา บัณฑิโต. 2545. การวางแผนเพื่อการจัดการทรัพยากรป่าในพรุควนเคร็ง : การวิเคราะห์ความต้องการการฝึกอบรมเพื่อการจัดการทรัพยากรที่ยั่งยืน. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

สุพัตรา ม่วงงาม. (2555). ประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบพญายาและลูกเดือยที่มีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส. วิทยานิพนธ์มหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์.

สุมาลี เลี่ยมทอง และแน่งน้อย แสงเสน่ห์ (2555). รายงานการวิจัยเรื่องการคัดเลือกราเอนโดไฟท์ที่ผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากพืชในพื้นที่ป่าพรุควนเคร็ง. นครศรีธรรมราช: มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช

โสภนา วงศ์ทอง และมัณฑกา วีระพงศ์ 2555. รายงานการวิจัยเรื่องผลกระทบของไฟป่าต่อความหลากหลายทางชีวภาพของเชื้อราบริเวณพื้นที่ป่าพรุควนเคร็ง นครศรีธรรมราช: มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช

เสาวภา สุราวุธ, ประสาน แสงไพบูรณ์, วิญญู ภักดี, เดือนเต็ม ทองเผือก, กาญจนา ราชสุวรรณ, และ วิระ ศรีมาลา. 2554. การคัดแยกเชื้อราที่สร้างเอนไซม์เซลลูเลสในพื้นที่ป่าโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช อันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี.การประชุมวิชาการ ทรัพยากรไทย : ก้าวสู่โลกกว้างอย่างมั่นใจ หน้า 48-54.

อาแว มะแส, สมบูรณ์ เจริญจิระตระกูล, คันธรส พวงแก้ว, และปริญญา บันฑิโต. 2546. บทบาทชายหญิงต่อการพัฒนาอาชีพที่เชื่อมโยงกับการจัดการทรัพยากรธรรมชาติในพรุควนเคร็ง. Wetland International-Thailand Office. และกลุ่มพัฒนาชุมชนจังหวัดชายแดนภาคใต้ เอกสารตีพิมพ์ลำดับที่ 18.

Altschul, S.F , Gish, W., Miller, W., Myers, E.W and Lipman, D.J 1990 Basic local alignment search tool. Journal of Molecular Biology. 215:403-410

Andersen, R., Francez, A.J., and Rochefort, L. 2006. The physiochemical and microbiological status of a restore bog in Quebec Identification of relevant criteria to monitor success. Soil Biology & Biochemistry. 38 : 1375-1387.

Barnett, H.L. and Hunter, B.B. 1998 Illustration Genera of Imperfect Fungi 4th edition. American Phytopathological Society, Minnesota USA 218 pp

Campbell, C K , Johnson, E.M. and Warrock, D.W. 2013. Identification of Pathogenic Fungi. 2nd edition. Wiley_Blackwell 350 pp.

Domsch, K.H , Gam, W. and Anderson, T.W 1993. Compendium of Soil Fungi Volume I, IHW Verlag Press

Ghoral, S , Banik,S P , Verma, D., Chowdhury, S., Mukherjee, S. and Khowala, S. 2009. Fungal biotechnology in food and feed processing 42 : 577-587.

Hankin, L. and Anagnostakis, S. l. 1975 The use of solid media for detection of enzyme production by fungi. Mycologia. 67 : 597-607.

Hiol, A , Jonzo, M.D., Druet, D. and Comeau L. (1999). Production, purification and characterization at an extracellular lipase from *Mucor hiemelis f hiemalis* Enzyme and Microbial Technology 25 : 80-87

Kader, Abdul, Othman Omar, and Loo S Feng. (2008). Isolation of cellulolytic fungi the Bario Highlands, Sarawak : ASEAN Review of Biodivrsity and Environmenter Conerevation (ARBEC).

Latter, P.M , Cragg, J.B. and Heal, O W. 1967. Comparative studies on the microbiology of four moorland soils in the northern Pennines. Journal of Ecology. 55 : 445-464

Lian, B., Zang, J., Hou, W., Yuan, S. and Smith, D.L. 2008. PCR-bsed sensitive detection of the edible fungus *Boletus edulis* rDNA ITS sequences Electronic Journal of Biotechnology. 11:3.

Lingappa, Y. and Lockwood, J.L. 1962. Chitin media for selective isolation and culture of actinomycetes. Phytopathology. 52 : 317–323.

Lumyong, S., Lumyong, P., Mckenzie E.H.C. and Hyde, K.D. 2002. Enzymatic activity of endophytic fungi of six native seeding species from Doi Suthep-Pui National Park. Thailand. Canadian Journal of Microbiology. 48: 1109-1112.

Mahmood, K., Yang, W.J., Kishwar, N., Rajut, Z. I., and Arijo, A.G. 2006. Stuty of cellulytic soil fungi and two nova species and new medium. J. Zhejiang Univ Sci B. 7 : 459-466.

Maria, G.L., Sridhar, K.R., and Raviraja, N.S. 2005. Antimicrobial and enzyme activity of mangroveendophytic fungi of southwest coast of India. Journal of Agricultural Technology. 1 : 67-80.

Mishra, B.K. and Dadhich, S.k. 2010. Production of Amylase and Xylanase Enzymes from Soil Fungi of Rajasthan. J.Adv.Dev.Res. 1 : 21-23.

Mtui, G., and Masalu, R. 2008. Extracellular enzymes from brown-rot fungus Laetiporus sulphureus isolated from mangrove forests of coastal Tanzania Scientific Research and Essay. 3 : 154-161.

Pinnoi, A., Lumyong, S., Hyde, K.D., and Jones, E.B.G. 2006. Biodiversity of fungi on the palm *Eleiodoxa conferta* in Sirindhorn peat swamp forest, Narathiwat, Thailand. Fungal Diversity. 22 : 205-218.

Pinruan, U., Hyde, K.D., Lumyong, S., McKezie, E.H.C., Jones, E.B.G., Occurrence of fungi on tissues of the peat swamp palm Licuala longicalycata. Fungi Diversity. 25 : 157-173.

Ramesh Chand Kasana, Richa Salwan, Hena Dhar, Som Dutt, Arvind Gulati. (2008). A Rapid and Easy Method for the Detection of Microbial Cellulases on Agar Plates Using Gram's Iodine

Thormann, M.N. and Rice, A.V. 2007. Fungi from peatlands. Fungal diversity. 24 : 241-299.

William, R.T. and Crawford, R.L. 1983. Microbial diversity of Minnesota peatlands. Microbial Ecology. 9 : 201-214.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก
การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. การเตรียม Potato dextrose agar (PDA)

เตรียม 1000 มิลลิลิตร ประกอบด้วย

มันฝรั่ง	200	กรัม
เดกซ์โทรส	20.0	กรัม
ผงวุ้น	15.0	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

ปอกเปลือกมันฝรั่ง หั่นเนื้อมันฝรั่งเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมลูกบาศก์ขนาดประมาณ 1 เซนติเมตร ชั่งมา 200 กรัม แล้วนำมันฝรั่งไปต้มในน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร จนเดือดอย่าทำให้เนื้อมันฝรั่งเละ กรองเอาแต่น้ำโดยใช้ผ้าขาวบางแล้วนำไปผสมกับเดกซ์โทรสและวุ้นชั่งตามสูตร ต้มจนวุ้นละลายหมดปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนครบ 1 ลิตร แล้วนำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 15 นาที

2. อาหารทดสอบเอนไซม์เซลลูเลส

อาหาร 1000 มิลลิลิตร ประกอบด้วย

yeast extract	0.1	กรัม
peptone	0.5	กรัม
agar	16 0	กรัม
Na-carboxymethyl cellulose (CMC)	5.0	กรัม

เติมน้ำกลั่นจนครบ 1000 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันโดยใช้ความร้อน จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

3. อาหารทดสอบเอนไซม์อะไมเลส

อาหาร 1000 มิลลิลิตรประกอบด้วย

peptone	0.5	กรัม
glucose	1.0	กรัม
yeast extract	0.1	กรัม
agar	16.0	กรัม
statrch solution	20.0	กรัม

เติมน้ำกลั่นจนครบ 1000 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันโดยใช้ความร้อน จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

4. อาหารทดสอบเอนไซม์ไคติเนส

อาหาร 1000 มิลลิลิตร ประกอบด้วย

colloidal chitin	2.0	กรัม
agaragar	16.0	กรัม

เติมน้ำกลั่นจนครบ 1000 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันโดยใช้ความร้อน จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

5. อาหารทดสอบเอนไซม์แลคเตส

อาหาร 1000 มิลลิลิตร ประกอบด้วย

peptone	0.5	กรัม
glucose	1.0	กรัม
yeast extract	0.1	กรัม
agar	16.0	กรัม
1-naphthol	0.5	กรัม

เติมน้ำกลั่นจนครบ 1000 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันโดยใช้ความร้อน(pH 6) จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

6. อาหารทดสอบเอนไซม์ไลเปส

อาหาร 1000 มิลลิลิตรประกอบด้วย

peptone	10.0	กรัม
NaCl	5.0	กรัม
$CaCl_2$ $2H_2O$	0.1	กรัม
agar	16.0	กรัม
tween 20	5.0	มิลลิลิตร

เติมน้ำกลั่นจนครบ 1,000 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันโดยใช้ความร้อน จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

7. อาหารทดสอบเอนไซม์โปรดิเอส

อาหาร 1,000 มิลลิลิตร ประกอบด้วย

peptone	0.5	กรัม
glucose	1.0	กรัม
yeast extract	0.1	กรัม
agar	16.0	กรัม

เติมน้ำกลั่นจนครบ 900 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันโดยใช้ความร้อน จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

เตรียม gelatin 4.0 กรัมละลายในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อ

8. อาหารทดสอบเอนไซม์ไซม์ไทโรซิเนส

อาหาร 1,000 มิลลิลิตร ประกอบด้วย

peptone	0.5	กรัม
glucose	1.0	กรัม
yeast extract	0.1	กรัม
agar	16.0	กรัม

เติมน้ำกลั่นจนครบ 1,000 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันโดยใช้ความร้อน จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

ภาคผนวก ข
การเตรียมสารเคมี

การเตรียมสารเคมี

1. 0.2% Congo Red

เตรียม 250 มิลลิลิตร

เตรียมโดยชั่ง congo red มา 0.5 กรัม แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 250 มิลลิลิตร ในขวดวัดปริมาตรแล้วเก็บไว้ในขวดสีชา

2. 1M NaCl

คำนวณน้ำหนักโมเลกุลของ NaClก่อน โดยนำน้ำหนักของ Na (sodium) รวมกับน้ำหนักของคลอรีน (Cl) จะได้ 23 + 35.5 = 58.5 g/mol

เตรียม 500 มิลลิลิตร

เตรียมโดยชั่ง NaCl มา 29.25 กรัม ละลายในน้ำกลั่นและปรับปริมาตรให้เป็น 500 มิลลิลิตร ในขวดวัดปริมาตร

3. 1%Iodineใน 2% potassium iodide

เตรียม 1% iodine 500 มิลลิลิตร

เตรียมโดยชั่ง iodine มา 5 กรัม ละลายในน้ำกลั่นและปรับปริมาตรให้เป็น 500 มิลลิลิตร ในขวดวัดปริมาตร

เตรียม 2% potassium iodide 500 มิลลิลิตร

เตรียมโดยชั่ง potassium iodideมา 10 กรัม ละลายในน้ำกลั่นและปรับปริมาตรให้เป็น 500 มิลลิลิตร ในขวดวัดปริมาตร

4. Ammoniumsulphate

เตรียม 250 มิลลิลิตร

เตรียมโดยเติมสาร ammonium sulphate ในน้ำกลั่น 250 มิลลิลิตร ทีละช้อนจนกว่าสารไม่ละลาย (เกิดการอิ่มตัว)

5. 0.11% *P*-cresol

เตรียม 100 มิลลิลิตร

ละลาย *p*-cresol 0.11 กรัม ในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร

6. 0.05% Glycine

เตรียม 100 มิลลิลิตร

ละลายglycine 0.05 กรัม ในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร

ภาคผนวก ค
เชื้อราป่าพรุที่ใช้ในการศึกษา

เชื้อราที่ป่าพรุที่ใช้ในการศึกษา

ตารางที่ ค.1 เชื้อราเอนโดไฟท์ที่แยกจากพืชในป่าพรุควนเคร็ง ที่มีขนาดโคโลนีมากกว่าหรือเท่ากับ 5 cm เมื่อเลี้ยงบนอาหาร PDA เป็นเวลา 7 วัน

ลำดับ	รหัสเชื้อรา	ลำดับ	รหัสเชื้อรา	ลำดับ	รหัสเชื้อรา	ลำดับ	รหัสเชื้อรา
1	1 ML B1.2	32	4 MM L1.5	63	4 AV M1.8	94	4 SC P1.8
2	2 ML L1.1	33	4 MM L1.6	64	3 AV L1.1	95	1 LA S1.2
3	2 ML L1.2	34	4 MMM1.2	65	3 AV L1.2	96	1 LA S1.3
4	2 ML L1.3	35	4 MMM1.3	66	3 AV L1.4	97	2 LA S1.3
5	2 ML L1.4	36	4 MMM1.4	67	3 AV L1.5	98	2 LA S1.4
6	2 ML B1.3	37	4 MMM1.5	68	3 AV B1.2	99	3 LA S1.1
7	2 ML B1.7	38	4 MMM1.7	69	4 AV B1.1	100	4 LA S1.1
8	3 ML B1.1	39	4 MMM1.8	70	4 AV B 1.3	101	4 LA S1.8
9	3 ML B1.3	40	4MMM1.12	71	4 AV L1.4	102	4 LA S1.9
10	3 ML B1.4	41	4 MM P1.8	72	4 AV L1.6	103	4 LA S1.11
11	3 ML B1.6	42	1 AV B1.1	73	4 AV L1.8	104	4 LA S1.12
12	3 ML B1.7	43	1 AV B1.2	74	4 AV L1.10	105	4 LA S1.5
13	3 ML L1.2	44	1 AV B1.3	75	4 AV P1.2	106	4 TA S1.8
14	3 ML L1.3	45	1 AV L1.1	76	4 AV P1.4	107	4 TA S1.9
15	3 ML M1.1	46	1 AV L1.2	77	4 AV M1.2	108	4 TA S1.10
16	3 ML M1.3	47	1 AV L1.4	78	4 AVM1.10	109	4 TA S1.12
17	3 ML M1.5	48	1 AV L1.5	79	1SC V1.2	110	4 TA M1.2
18	4 ML B1.3	49	1 AV L1.6	80	2 SC B1.6	111	4 TA M1.4
19	4 ML L1.2	50	1 AV L1.7	81	2 SC V1.3	112	1 RT L1.1
20	4 ML L1.3	51	1 AV B1.7	82	2 SC P1.2	113	1 RT L1.3
21	4 ML L1.6	52	1 AV M1.1	83	3 SC B1.2	114	1 RT P1.1
22	1 MM B1.2	53	1 AV M1.2	84	3 SC L1.1	115	2 RT B1.2
23	1 MM B1.3	54	1 AV P1.2	85	4 SC B1.1	116	2 RT B1.4
24	1 MM L1.1	55	1 AV P1.3	86	4 SC B1.4	117	3 RT L1.1
25	1 MM L1.2	56	2 AV L1.3	87	4 SC B1.7	118	4 RT L1.3
26	1 MMM1.1	57	2 AV M1.1	88	4 SC L1.1	119	2 MC B1.4
27	1 MMM1.3	58	2 AV M1.2	89	4 SC L1.4	120	2 MC L1.2
28	2 MM B1.2	59	2 AV M1.3	90	4 SC L1.6	121	2 MC P1.2
29	2 MM P1.2	60	2 AV M1.4	91	4 SC L1.9		
30	4 MM B1.3	61	4 AV M1.5	92	4 SC L1.11		
31	4 MM L1.3	62	4 AV M1.6	93	4 SC P1.4		

ตารางที่ ค.2 เชื้อราที่แยกจากดินในป่าพรุควนเคร็ง ที่มีขนาดโคโลนีมากกว่าหรือเท่ากับ 5 cm เมื่อเลี้ยงบนอาหาร PDA เป็นเวลา 7 วัน

ลำดับ	รหัสเชื้อรา	ลำดับ	รหัสเชื้อรา	ลำดับ	รหัสเชื้อรา	ลำดับ	รหัสเชื้อรา
1	SP 1-1	36	SP 7-35	71	DP S 2-7	106	DP S 3-5
2	SP 1-3	37	SP 7-44	72	DP S 2-8	107	DP S 3-8
3	SP 1-6	38	SP 7-47	73	DP S 2-9	108	DP S 3-16
4	SP 1-8	39	SP 7-50	74	DP S 2-12	109	DP S 5-2
5	SP 1-16	40	SP 7-51	75	DP S 2-13	110	DP S 5-6
6	SP 1-19	41	SP 7-56	76	DP S 2-14	111	DP S 5-8
7	SP 1-23	42	SP S 1-4	77	DP S 2-18	112	DP S 5-9
8	SP 1-26	43	SP S 1-5	78	DP S 2-19	113	DP S 5-11
9	SP 1-29	44	SP S 4-4	79	DP S 2-20	114	DP S 5-12
10	SP 1-33	45	SP S 4-6	80	DP S 2-22	115	DP S 5-13
11	SP 2-8	46	SP S 5-18	81	DP S 2-23	116	DP S 5-15
12	SP 2-14	47	DP S 1-1	82	DP S 2-25	117	DP S 5-16
13	SP 2-18	48	DP S 1-2	83	DP S 2-26	118	DP S 5-17
14	SP 2-19	49	DP S 1-3	84	DP S 2-27	119	DP S 5-19
15	SP 2-25	50	DP S 1-4	85	DP S 2-28	120	DP S 5-22
16	SP 2-30	51	DP S 1-5	86	DP S 2-29	121	DP S 5-27
17	SP 3-10	52	DP S 1-7	87	DP S 2-30	122	DP S 5-30
18	SP 3-13	53	DP S 1-8	88	DP S 2-31	123	DP S 5-32
19	SP 3-30	54	DP S1-11	89	DP S 2-33	124	DP S 5-33
20	SP 4-5	55	DP S 1-12	90	DP S 2-34	125	DP S 5-36
21	SP 4-10	56	DP S 1-14	91	DP S 2-35	126	DP S 5-38
22	SP 4-19	57	DP S1-15	92	DP S 2-36	127	DP S 5-39
23	SP 4-20	58	DP S 1-17	93	DP S 2-37	128	DPS 5-40
24	SP 5-2	59	DP S 1-18	94	DP S 2-38	129	DP S 5-41
25	SP 5-3	60	DP S 1-19	95	DP S 2-39	130	DP S 5-43
26	SP 5-17	61	DP S 1-20	96	DP S 2-40	131	DP S 5-46
27	SP 5-21	62	DP S 1-21	97	DP S 2-41	132	DP S 5-47
28	SP 5-23	63	DP S 1-22	98	DP S 2-42	133	DP S 6-4
29	SP 5-31	64	DP S 1-23	99	DP S 2-43	134	DP S 6-6
30	SP 5-44	65	DP S 1-24	100	DP S 2-44	135	DP S 6-9
31	SP 5-49	66	DP S 1-25	101	DP S 2-45	136	DP S 6-11
32	SP 6-3	67	DP S 2-1	102	DP S 2-46	137	DP S 6-14
33	SP 6-19	68	DP S 2-2	103	DP S 3-1	138	DP S 6-15
34	SP 7-9	69	DP S 2-3	104	DP S 3-2	139	DP S 6-16
35	SP 7-26	70	DP S 2-6	105	DP S 3-4	140	DP S 6-20

ตารางที่ ค.2 เชื้อราที่แยกจากดินในป่าพรุควนเคร็ง ที่มีขนาดโคโลนีมากกว่าหรือเท่ากับ 5 cm เมื่อเลี้ยงบนอาหาร PDA เป็นเวลา 7 วัน (ต่อ)

ลำดับ	รหัสเชื้อรา	ลำดับ	รหัสเชื้อรา	ลำดับ	รหัสเชื้อรา	ลำดับ	รหัสเชื้อรา
141	DP S 6-23	158	DP S 7-33	175	S4 27	192	SS 23
142	DP S 6-25	159	S1 19	176	S5 40	193	SS 25
143	DP S 6-27	160	S1 22	177	S5 42	194	SS 27
144	DP S 6-32	161	S1 23	178	S5 46	195	SS 30
145	DP S 6-33	162	S2 32	179	S5 47	196	SS 35
146	DP S 6-34	163	S2 33	180	S5 50	197	SS 36
147	DP S 6-36	164	S2 37	181	S5 53	198	SS 38
148	DP S 6-37	165	S2 43	182	S5 54	199	SS 39
149	DP S 6-39	166	S2 49	183	S5 56	200	SS 43
150	DP S 6-40	167	S2 64	184	S5 58	201	SS 44
151	DP S 6-41	168	S2 68	185	S5 59	202	SS 45
152	DP S 6-44	169	S2 72	186	SS 1	203	SS 51
153	DP S 7-2	170	S2 74	187	SS 3	204	SS 56
154	DP S 7-3	171	S3 66	188	SS 6	205	SS 61
155	DP S 7-6	172	S3 67	189	SS 7	206	SS 64
156	DP S 7-8	173	S3 70	190	SS 14	207	SS 70
157	DP S 7-11	174	S4 25	191	SS 17		

ตารางที่ ค.3 เชื้อราที่แยกจากน้ำในป่าพรุควนเคร็ง ที่มีขนาดโคโลนีมากกว่าหรือเท่ากับ 5 cm เมื่อเลี้ยงบนอาหาร PDA เป็นเวลา 7 วัน

ลำดับ	รหัสเชื้อรา	ลำดับ	รหัสเชื้อรา	ลำดับ	รหัสเชื้อรา	ลำดับ	รหัสเชื้อรา
1	W 19	25	W 89	49	W 154	73	P 17
2	W 56	26	W 90	50	W 158	74	P 18
3	W 57	27	W 93	51	W 163	75	P 20
4	W 59	28	W 94	52	W 170	76	P 21
5	W 58	29	W 96	53	W 188	77	P 32
6	W 60	30	W 97	54	W 189	78	P 33
7	W 63	31	W 98	55	W 192	79	P 38
8	W 64	32	W 99	56	W 199	80	P 39
9	W 66	33	W 100	57	W 200	81	P 40
10	W 69	34	W 101	58	W 204	82	P 41
11	W 70	35	W 102	59	W 245	83	P 42
12	W 71	36	W 103	60	W 248	84	P 44
13	W 72	37	W 104	61	W 250	85	P 49
14	W 74	38	W 105	62	W 252	86	P 50
15	W 76	39	W 110	63	W 254	87	PW 8
16	W 77	40	W 120	64	W 256	88	PW 9
17	W 78	41	W 122	65	W 259	89	PW 10
18	W 80	42	W 123	66	W261		
19	W 81	43	W 137	67	W 262		
20	W 82	44	W 138	68	W 264		
21	W 83	45	W 139	69	P 4		
22	W 85	46	W 141	70	P 5		
23	W 86	47	W 147	71	P 19		
24	W 88	48	W 149	72	P 15		

ตารางที่ ค.4 **เชื้อราเอนโดไฟท์ที่แ**ยกจากพืชในป่าพรุควนเคร็ง ที่มีขนาดโคโลนีน้อยกว่า 5 cm **เมื่อเลี้ยงบนอาหาร** PDA เป็นเวลา 7 วัน

ลำดับ	รหัสเชื้อรา	ลำดับ	รหัสเชื้อรา	ลำดับ	รหัสเชื้อรา	ลำดับ	รหัสเชื้อรา
1	1 AV B1.4	37	2 AV L1.2	73	3 LA S1.3	109	4 MM M1.10
2	1 AV B1.5	38	2 AV L1.4	74	3 MC B1.4	110	4 MM M1.11
3	1 AV B1.6	39	2 AV P1.1	75	3 RT B1.4	111	4 MM M1.13
4	1 AV L1.3	40	2 AV V1.2	76	3 RT B1.3	112	4 MM P1.1
5	1 AV M1.3	41	2 LA S1.1	77	3 RT V1.1	113	4 MM P1.2
6	1 AV M1.5	42	2 LA S1.2	78	4 RT V1.3	114	4 MM P1.4
7	1 AV P1.1	43	2 MM B1.1	79	4 AV B1.2	115	4 MM P1.5
8	1 MM B1.1	44	2 MM B1.3	80	4 AV L1.1	116	4 MM P1.6
9	1 MM B1.4	45	2 MM M1.1	81	4 AV L1.2	117	4 MM P1.7
10	1 MM B1.5	46	2 MM M1.3	82	4 AV L1.3	118	4 ML B1.1
11	1 MM M1.2	47	2 MM M1.4	83	4 AV L1.5	119	4 ML B1.2
12	1 MM M1.4	48	2 MM L1.1	84	4 AV L1.7	120	4 ML B1.5
13	1 MM L1.3	49	2 MM L2.1	85	4 AV L1.9	121	4 ML L1.1
14	1 MC L1.2	50	2 MM L2.2	86	4 AV L1.11	122	4 ML L1.4
15	1 LA S1.1	51	2 MM P1.1	87	4 AV L1.12	123	4 ML L1.5
16	1 LA S1.4	52	2 MM V1.2	88	4 AV M1.1	124	4 ML L1.7
17	1 LA R1.2	53	2 MC B1.1	89	4 AV M1.3	125	4 ML L1.8
18	1 LA R1.3	54	2 MC B1.3	90	4 AV M1.4	126	4 ML L1.9
19	1 SC L1.1	55	2 MC L1.1	91	4 AV M1.7	127	4 ML M1.1
20	1 SC L1.2	56	2 MC P1.1	92	4 AV M1.9	128	4 ML M1.2
21	1 SC P1.1	57	2 MC V1.2	93	4 AV P1.1	129	4 ML M1.3
22	1 TA S1.1	58	2 ML P1.1	94	4 AV P1.5	130	4 ML M1.4
23	1 TA S1.3	59	3 SC P1.2	95	4 AV P1.6	131	4 ML P1.1
24	1 TA S1.4	60	3 SC V1.3	96	4 AV P1.7	132	4 ML P1.2
25	2 SC B1.1	61	3 ML B1.2	97	4 AV P1.8	133	4 ML P1.3
26	2 SC L1.2	62	3 ML B1.3	98	4 AV P1.9	134	4 ML P1.5
27	2 SC V1.2	63	3 ML B1.5	99	4 AV P1.10	135	4 ML P1.6
28	2 SC P1.3	64	3 ML L1.1	100	4 AV P1.11	136	4 LA S1.2
29	2 RT L1.1	65	3 ML L1.4	101	4 MM B1.1	137	4 LA S1.3
30	2 RT L1.2	66	3 ML L1.5	102	4 MM B1.2	138	4 LA S1.4
31	2 RT P1.2	67	3 ML L1.6	103	4 MM L1.1	139	4 LA S1.5
32	2 RT P1.4	68	3 ML P1.1	104	4 MM L1.4	140	4 LA S1.6
33	2 RT P1.5	69	3 ML P1.3	105	4 MM L1.7	141	4 LA S1.7
34	2 AV B1.2	70	3 ML V1.3	106	4 MM M1.1	142	4 LA S1.10
35	2 AV B1.3	71	3 AV B1.1	107	4 MM M1.6	143	4 LA S1.13
36	2 AV L1.1	72	3 LA S 1.2	108	4 MM M1.9	144	4 LA S1.14

ตารางที่ ค.4 เชื้อราเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากพืชในป่าพรุควนเคร็ง ที่มีขนาดโคโลนีน้อยกว่า 5 cm เมื่อเลี้ยงบนอาหาร PDA เป็นเวลา 7 วัน (ต่อ)

ลำดับ	รหัสเชื้อรา	ลำดับ	รหัสเชื้อรา	ลำดับ	รหัสเชื้อรา	ลำดับ	รหัสเชื้อรา
145	4 SC B1.2	155	4 SC L1.10	165	4 SC P1.2	175	4 TA S1.11
146	4 SC B1.3	156	4 SC L1.12	166	4 SC P1.3	176	4 TA S1.13
147	4 SC B1 5	157	4 SC L1.13	167	4 SC P1.9	177	4 TA S1.14
148	4 SC B1.6	158	4 SC L1.14	168	4 TA S1.1	178	4 TA M1.1
149	4 SC B1.8	159	4 SC M1 1	169	4 TA S1.2	179	4 TA M1.3
150	4 SC L1.2	160	4 SC M1.2	170	4 TA S1.3	180	4 TA M1 5
151	4 SC L1 3	161	4 SC M1.3	171	4 TA S1.4	181	4 TA M1.6
152	4 SC L1 5	162	4 SC M1.4	172	4 TA S1.5	182	4 TA M1.7
153	4 SC L1.7	163	4 SC M1 5	173	4 TA S1.6		
154	4 SC L1 8	164	4 SC P1.1	174	4 TA S1 7		

ตารางที่ ค.5 เชื้อราที่แยกจากดินในป่าพรุควนเคร็ง ที่มีขนาดโคโลนีน้อยกว่า 5 cm เมื่อเลี้ยงบนอาหาร PDA เป็นเวลา 7 วัน

ลำดับ	รหัสเชื้อรา	ลำดับ	รหัสเชื้อรา	ลำดับ	รหัสเชื้อรา	ลำดับ	รหัสเชื้อรา
1	SP 1-9	36	SP 3-7	71	SP 5-15	106	DP S 2-2
2	SP 1-10	37	SP 3-8	72	SP 5-20	107	DP S 2-4
3	SP 1-11	38	SP 3-9	73	SP 5-29	108	DP S 2-5
4	SP 1-14	39	SP 3-11	74	SP 5-50	109	DP S 2-6
5	SP 1-18	40	SP 3-12	75	SP 6-4	110	DP S 2-10
6	SP 1-20	41	SP 3-14	76	SP 6-5	111	DP S 2-11
7	SP 1-25	42	SP 3-15	77	SP 6-6	112	DP S 2-15
8	SP 1-29	43	SP3-16	78	SP 6-13	113	DP S 2-16
9	SP 1-30	44	SP 3-17	79	SP 6-24	114	DP S 2-17
10	SP 1-35	45	SP 3-18	80	SP 7-3	115	DP S 2-21
11	SP 1-36	46	SP 3-20	81	SP 7-6	116	DP S 2-23
12	SP 2-1	47	SP 3-22	82	SP 7-10	117	DP S 2-24
13	SP 2-5	48	SP 3-25	83	SP 7-11	118	DP S 2-29
14	SP 2-9	49	SP 3-26	84	SP 7-14	119	DP S 2-32
15	SP 2-10	50	SP 3-32	85	SP 7-17	120	DP S 2-39
16	SP 2-11	51	SP 3-33	86	SP 7-24	121	DP S 3-5
17	SP 2-12	52	SP 3-34	87	SP 7-27	122	DP S 3-15
18	SP 2-16	53	SP 3-36	88	SP 7-29	123	DP S 5-1
19	SP 2-17	54	SP 3-37	89	SP 7-32	124	DP S 5-3
20	SP 2-21	55	SP 3-40	90	SP 7-36	125	DP S 5-4
21	SP 2-23	56	SP 3-41	91	SP 7-41	126	DP S 5-5
22	SP 2-24	57	SP 3-43	92	SP 7-42	127	DP S 5-16
23	SP 2-26	58	SP 3-46	93	SP 7-43	128	DP S 5-23
24	SP 2-27	59	SP 3-47	94	SP 7-49	129	DP S 5-28
25	SP 2-28	60	SP 4-3	95	SP 7-52	130	DP S 5-29
26	SP 2-31	61	SP 4-8	96	SP 7-54	131	DP S 5-37
27	SP 2-33	62	SP 4-11	97	SP 7-55	132	DP S 5-48
28	SP 2-32	63	SP 4-12	98	SP S1-31	133	DP S 6-13
29	SP 2-35	64	SP 4-15	99	DP S 1-2	134	DP S 6-15
30	SP 2-36	65	SP 4-21	100	DP S 1-6	135	DP S 6-18
31	SP 2-37	66	SP 4-22	101	DP S 1-9	136	DP S 6-38
32	SP 2-39	67	SP 5-1	102	DP S 1-10	137	DP S 7-10
33	SP 3-1	68	SP 5-5	103	DP S 1-12	138	S1 18
34	SP 3-2	69	SP 5-12	104	DP S1-13	139	S1 21
35	SP 3-5	70	SP 5-13	105	DP S 1-28	140	S1 24

ตารางที่ ค.5 เชื้อราที่แยกจากดินในป่าพรุควนเคร็ง ที่มีขนาดโคโลนีน้อยกว่า 5 cm เมื่อเลี้ยงบนอาหาร PDA เป็นเวลา 7 วัน (ต่อ)

ลำดับ	รหัสเชื้อรา	ลำดับ	รหัสเชื้อรา	ลำดับ	รหัสเชื้อรา	ลำดับ	รหัสเชื้อรา
141	S1 30	162	S5 39	183	SS 24	200	SS 57
142	S2 34	163	S5 44	184	SS 26	201	SS 58
143	S2 35	164	S5 51	185	SS 28	202	SS 59
144	S2 38	165	S5 52	186	SS 29	203	SS 60
145	S2 45	166	S5 57	187	SS 31	204	SS 62
146	S2 48	167	SS 2	188	SS 32	205	SS 63
147	S2 55	168	SS 4	185	SS 33	206	SS 65
148	S2 60	169	SS 5	186	SS 34	207	SS 66
149	S2 61	170	SS 8	187	SS 37	208	SS 67
150	S2 63	171	SS 9	188	SS 40	209	SS 68
151	S2 65	172	SS 10	189	SS 41	210	SS 69
152	S3 62	173	SS 11	190	SS 42	211	SS 58
153	S3 69	174	SS 12	191	SS 46	212	SS 59
154	S3 71	175	SS 13	192	SS 47		
155	S3 72	176	SS 15	193	SS 48		
156	S4 26	177	SS 16	194	SS 49		
157	S4 28	178	SS 18	195	SS 50		
158	S4 29	179	SS 19	196	SS 52		
159	S4 31	180	SS 20	197	SS 53		
160	S5 36	181	SS 21	198	SS 54		
161	S5 41	182	SS 22	199	SS 55		

ตารางที่ ค.5 เชื้อราที่แยกจากน้ำในป่าพรุควนเคร็ง ที่มีขนาดโคโลนีน้อยกว่า 5 cm เมื่อเลี้ยงบนอาหาร PDA เป็นเวลา 7 วัน

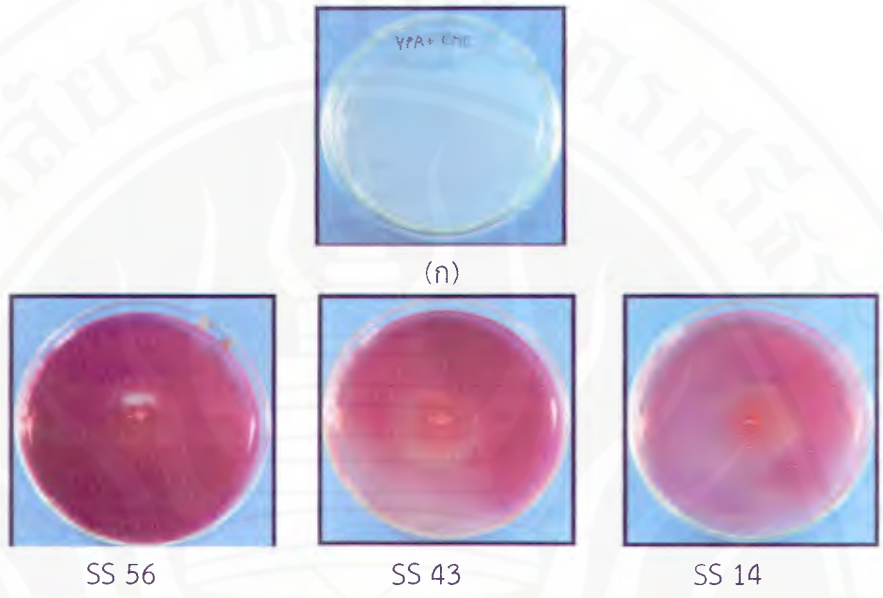
ลำดับ	รหัสเชื้อรา	ลำดับ	รหัสเชื้อรา	ลำดับ	รหัสเชื้อรา	ลำดับ	รหัสเชื้อรา
1	P 1	37	PW 23	73	W 111	109	W 157
2	P 2	38	PW 24	74	W 112	110	W 159
3	P 3	39	PW 26	75	W 113	111	W 160
4	P 6	40	PW 27	76	W 114	112	W 161
5	P 7	41	PW 28	77	W 115	113	W 162
6	P 8	42	PW 29	78	W 116	114	W 164
7	P 9	43	PW 30	79	W 117	115	W 165
8	P 10	44	PW 31	80	W 118	116	W 166
9	P 11	45	PW 32	81	W 119	117	W 167
10	P 12	46	PW 33	82	W 121	118	W 168
11	P 13	47	PW 34	83	W 124	119	W 169
12	P 14	48	PW 35	84	W 125	120	W 171
13	P 16	49	PW 36	85	W 126	121	W172
14	P 22	50	PW 37	86	W 127	122	W 173
15	P 24	51	PW 38	87	W 128	123	W 174
16	P 25	52	PW 39	88	W 129	124	W 175
17	P 26	53	PW 40	89	W 130	125	W 176
18	P 27	54	PW 41	90	W 131	126	W 177
19	P 28	55	PW 42	91	W 132	127	W 178
20	P 29	56	PW 43	92	W 133	128	W 179
21	P 34	57	PW 45	93	W 134	129	W 180
22	P 35	58	PW 46	94	W 135	130	W 181
23	P 36	59	PW 47	95	W136	131	W 182
24	P 37	60	PW 48	96	W 140	132	W 183
25	P 43	61	PW 49	97	W 142	133	W 184
26	P 45	62	PW 50	98	W 143	134	W 185
27	P 46	63	W 7	99	W 144	135	W 186
28	P 48	64	W 48	100	W 145	136	W 187
29	PW 1	65	W 61	101	W 146	137	W 190
30	PW 2	66	W 67	102	W 148	138	W 191
31	PW 3	67	W 68	103	W 150	139	W 193
32	PW 6	68	W 73	104	W 151	140	W 194
33	PW 7	69	W 75	105	W 152	141	W 195
34	PW 12	70	W 87	106	W 153	142	W 196
35	PW 21	71	W 91	107	W 155	143	W 197
36	PW 22	72	W 95	108	W 156	144	W 198

ตารางที่ **ค.6** **เชื้อราที่แยกจากน้ำในป่าพรุควนเคร็ง** ที่มีขนาดโคโลนีน้อยกว่า 5 cm เมื่อเลี้ยงบนอาหาร PDA เป็นเวลา 7 วัน

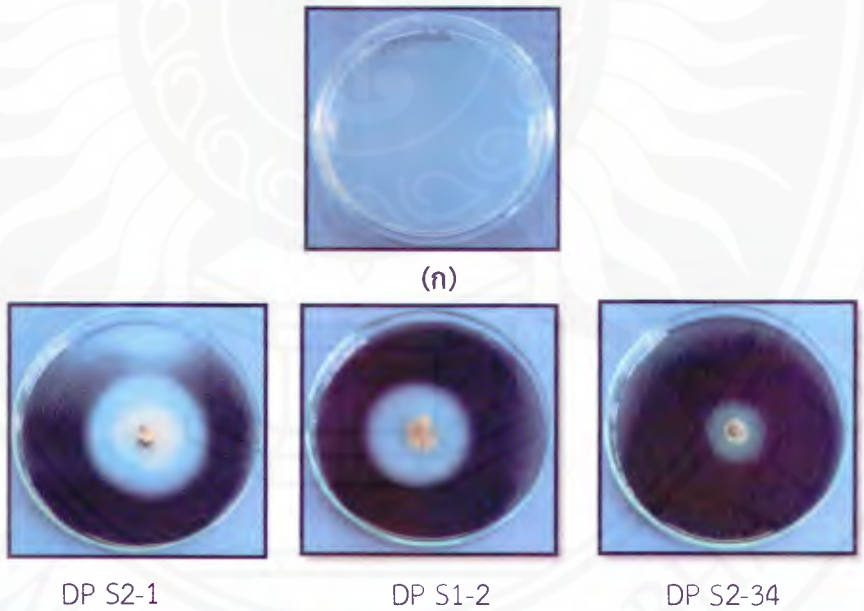
ลำดับ	รหัสเชื้อรา	ลำดับ	รหัสเชื้อรา	ลำดับ	รหัสเชื้อรา	ลำดับ	รหัสเชื้อรา
145	W 201	159	W 216	173	W 230	187	W 244
146	W202	160	W 217	174	W 231	188	W 246
147	W 203	161	W 218	175	W 232	189	W 247
148	W 205	162	W 219	176	W 233	190	W 249
149	W 206	163	W 220	177	W 234	191	W 251
150	W 207	164	W 221	178	W 235	192	W 253
151	W 208	165	W 222	179	W 236	193	W 255
152	W 208	166	W 223	180	W 237	194	W 257
153	W 210	167	W 224	181	W 238	195	W 258
154	W 211	168	W 225	182	W 239	196	W 260
155	W 212	169	W 226	183	W 240	197	W 263
156	W 213	170	W 227	184	W 241	198	W 265
157	W 214	171	W 228	185	W 242		
158	W 215	172	W 229	186	W 243		

ภาคผนวก ง
ผลการทดสอบการสร้างเอนไซม์

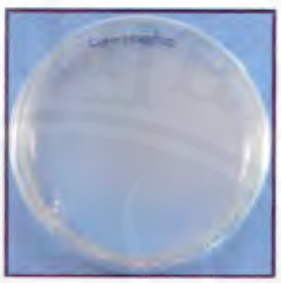
ผลการทดสอบการสร้างเอนไซม์



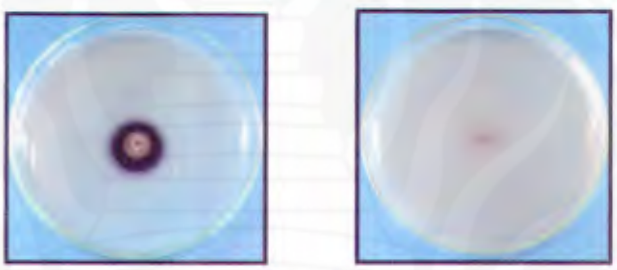
ภาพที่ 1 เชื้อราที่สร้างเอนไซม์เซลลูเลสได้
(ก) อาหารที่ใช้ในการเลี้ยงเชื้อรา
(ข) ผลการทดสอบการสร้างเอนไซม์



ภาพที่ 2 เชื้อราที่สร้างเอนไซม์อะไมเลสได้
(ก) อาหารที่ใช้ในการเลี้ยงเชื้อรา
(ข) ผลการทดสอบการสร้างเอนไซม์



(ก)



SS 23 DP S2-46

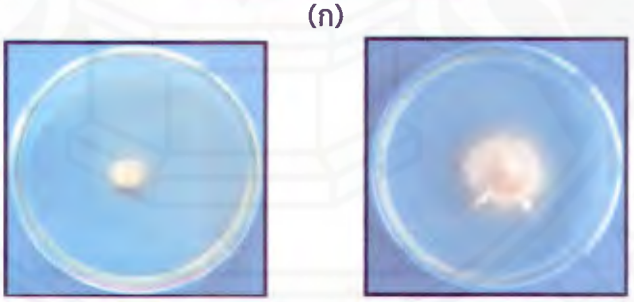
(ข)

ภาพที่ 3 เชื้อราที่สร้างเอนไซม์แลคเคสได้

(ก) อาหารที่ใช้ในการเลี้ยงเชื้อรา

(ข) ผลการทดสอบการสร้างเอนไซม์

(ก)



DP S 1-4 DP S1-11

(ข)

ภาพที่ 4 เชื้อราที่สร้างเอนไซม์ไลเปสได้

(ก) อาหารที่ใช้ในการเลี้ยงเชื้อรา

(ข) ผลการทดสอบการสร้างเอนไซม์

(ก)

ภาพที่ 7 อาหารทดสอบเอนไซม์ไคติเนส
(ก) อาหารที่ใช้ในการเลี้ยงเชื้อรา

ภาคผนวก จ
ผลการทดสอบการสร้างเอนไซม์ของเชื้อราที่แยกได้จากป่าพรุควนเคร็ง

ตารางที่ จ.1 ผลการทดสอบการสร้างเอนไซม์ 7 ชนิด ของเชื้อราที่แยกจากดินในพื้นที่ป่าพรุควนเคร็ง

ที่	รหัสเชื้อ	ขนาดโคโลนีอายุ 5 วัน บนอาหาร PDA	ผลการทดสอบการสร้างเอนไซม์																		
			Amylase			Cellulase			Chitinase			Protease			Lipase			Laccase			Tyrosinase		
			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm))			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)		
			colony	Clear zone	EPR	colony	Clear zone	EPR	colony	Clear zone	EPR	colony	Clear zone	EPR	colony	Clear zone	EPR	colony	Color zone	EPR	colony	Color zone	EPR
1	SP 1-1	8.5	7.6			7.3			4.8			8.0			7.2			0.3			8.1		
2	SP 1-3	4.5	3.6			1.0			0.5			3.9			0.3			0.3			3.1		
3	SP 1-6	3.1	2.0			1.9	3.0	1.57	1.9			2.8			0.8			0.3			2.3		
4	SP 1-8	4.3	3.5			8.4			2.0			3.8			1.3			0.3			2.7		
5	SP 1-16	4.8	6.0			7.2			6.4			7.0			7.2			0.3			6.8		
6	SP 1-19	2.9	2.1			2.1			2.4			2.1			2.4			0.3			2.8		
7	SP 1-23	3.5	1.7			1.5			2.2			1.8			1.6			0.3			1.7		
8	SP 1-26	3.1	3.1			2.0			1.9			3.5			1.5			0.3			2.9		
9	SP 1-29	4.8	8.1			8.1			8.0			8.3			1.2			0.3			1.5		
10	SP 1-33	4.0	0.7			2.3	2.8	1.21	0.9			1.3			1.5			0.3			2.5		
11	SP 2-8	5.0	1.5			0.3			1.7			1.7			1.2			0.3			1.2		
12	SP 2-14	3.1	2.9			2.8	3.0	1.07	1.7			3.6			2.8			0.3			2.4		
13	SP 2-18	4.4	1.5			1.0			1.3			2.9			2.3			0.3			1.9	2.5	1.32
14	SP 2-19	2.5	2.9			2.6			1.3			2.7			1.5			0.3			3.0		
15	SP 2-25	4.8	3.0			2.7			3.0			2.2			1.5			0.3			2.2		

ตารางที่ จ.1 ผลการทดสอบการสร้างเอนไซม์ 7 ชนิด ของเชื้อราที่แยกจากดินในพื้นที่ป่าพรุควนเคร็ง (ต่อ)

ที่	รหัสเชื้อ	ขนาดโคโลนีอายุ 5 วัน บนอาหาร PDA	ผลการทดสอบการสร้างเอนไซม์																		
			Amylase			Cellulase			Chitinase			Protease			Lipase			Laccase			Tyrosinase		
			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm))			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)		
			colony	Clear zone	EPR	colony	Clear zone	EPR	colony	Clear zone	EPR	colony	Clear zone	EPR	colony	Clear zone	EPR	colony	Color zone	EPR	colony	Color zone	EPR
16	SP 2-30	4.1	3.1			2.5			2.3			3.8			3.0			0.3			3.0		
17	SP 3-10	4.6	8.5			7.7			5.5			8.4			5.8			0.3			8.5		
18	SP 3-13	2.4	2.0			1.6	2.5	1.56	2.0			1.5	2.4	1.60	0.8			0.3			1.4		
19	SP 3-30	3.5	2.4			2.1			1.2			2.5			1.8			0.3			2.8		
20	SP 4-5	4.8	8.1			8.3			8.0			8.3			5.9			0.3			8.1		
21	SP 4-10	3.0	1.6			2.2	3.7	1.68	2.9			2.0	3.1	1.55	2.6			0.3			2.4		
22	SP 4-19	4.4	3.6			3.1			2.7			3.2			1.5			0.3			2.2		
23	SP 4-20	4.3	4.4			4.0	4.8	1.20	3.3			4.0			3.5			0.3			4.1		
24	SP 5-2	3.0	2.3			1.6	2.3	1.43	2.0			2.3			1.8			0.3			1.6		
25	SP 5-3	4.9	8.4			8.1			7.2			8.1			5.6			0.3			8.3		
26	SP 5-17	3.4	4.2			3.2			3.6			4.1			1.8			0.3			3.5		
27	SP 5-21	4.3	2.0			5.4			4.6			4.0			4.7			0.3			3.9		
28	SP 5-23	4.4	4.3			3.7			4.3			3.8			2.0			0.3			3.5		
29	SP 5-31	3.9	3.9			3.2			2.2			3.5			2.0			0.3			3.4		
30	SP 5-44	3.5	2.3			3.8	4.3	1.13	2.7			3.4			3.5			0.3			3.4		

ตาร-างที่ จ.1 ผลการทดสอบการสร้างเอนไซม์ 7 ชนิด ของเชื้อราที่แยกจากดินในพื้นที่ป่าพรุควนเคร็ง (ต่อ)

ที่	รหัสเชื้อ	ขนาดโคโลนีอายุ 5 วันบนอาหาร PDA	ผลการทดสอบการสร้างเอนไซม์																				
			Amylase			Cellulase			Chitinase			Protease			Lipase			Laccase			Tyrosinase		
			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm))			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)		
			colony	Clear zone	EPR	colony	Clear zone	EPR	colony	Clear zone	EPR	colony	Clear zone	EPR	colony	Clear zone	EPR	colony	Color zone	EPR	colony	Color zone	EPR
31	SP 5-49	2.5	3.7			3.0	3.5	1.16	3.2			3.4			1.0			0.3			3.3		
32	SP 6-3	4.8	8.3			8.0			8.1			8.0			2.3			0.3			8.3		
33	SP 6-19	2.5	1.9			2.0	2.4	1.20	1.7			2.5			1.3			0.3			1.6		
34	SP 7-9	4.2	4.6			4.6			4.1			4.2			4.5			0.3			4.7		
35	SP 7-26	3.0	2.5	3.0	1.20	2.0	3.4	1.70	2.6			2.7			1.8	2.9	1.61	0.3			2.1		
36	SP 7-35	4.2	2.2			2.2			1.3			2.2			1.1	2.5	2.27	0.3			2.0		
37	SP 7-44	2.3	1.6			0.3			0.3			0.3			0.3			0.3			1.3		
38	SP 7-47	3.8	3.1			3.6			3.5			3.1			1.1			0.3			3.5		
39	SP 7-50	2.6	4.4			3.9			4.2			4.5			2.0			0.3			1.2		
40	SP 7-51	5.6	3.6			3.8			3.0			3.9			2.1			0.3			3.2		
41	SP 7-56	4.4	4.1			4.7	6.1	1.29	4.2			3.5			2.4			0.3			2.9		
42	SPS 1-4	4.5	8.3			8.2			6.1			8.3			6.4	6.8	1.06	0.3			8.4		
43	SPS 1-5	4.3	3.7			3.9			2.1			4.4			3.0			0.3			4.0		
44	SPS 4-4	4.7	8.4			4.0	4.7	1.17	7.3			8.3			8.0			0.3			8.4		
45	SPS 4-6	2.4	2.6			3.3	3.8	1.15	2.2			2.6			3.6			0.3			1.9		

ตารางที่ จ.1 ผลการทดสอบการสร้างเอนไซม์ 7 ชนิด ของเชื้อราที่แยกจากดินในพื้นที่ป่าพรุควนเคร็ง (ต่อ)

ที่	รหัสเชื้อ	ขนาดโคโลนีอายุ 5 วัน บนอาหาร PDA	ผลการทดสอบการสร้างเอนไซม์																		
			Amylase			Cellulase			Chitinase			Protease			Lipase			Laccase			Tyrosinase		
			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm))			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)		
			colony	Clear zone	EPR	colony	Clear zone	EPR	colony	Clear zone	EPR	colony	Clear zone	EPR	colony	Clear zone	EPR	colony	Color zone	EPR	colony	Color zone	EPR
46	SPS 5-18	4.2	5.0			5.6			3.9			4.2			3.9			0.3			4.8		
47	DPS 1-1	2.7	0.8	1.8	2.25	0.6	0.8	1.33	0.8			0.7			0.8			0.3			0.5		
48	DPS 1-2	2.1	0.9	2.1	2.33	0.9			0.4			0.5			1.0	2.4	2.40	0.3			1.0		
49	DPS 1-3	3.2	3.6			2.8			1.5			3.8			0.8	1.5	1.87	0.3			3.4		
50	DPS 1-4	3.8	5.2			5.0	5.2	1.04	4.4			5.0			1.5	3.0	2.00	0.3			5.2		
51	DPS 1-5	2.4	1.9	3.3	1.73	2.5			1.2			1.0			2.0			0.3			2.2		
52	DPS 1-7	2.0	2.0			1.8			0.5			0.6			0.9			0.3			0.6		
53	DPS 1-8	2.0	1.2			1.1			1.1			2.0			2.1			0.3			1.3		
54	DPS1-11	3.7	1.2	3.3	2.75	4.7	5.2	1.10	3.9			3.2			2.8	4.5	1.60	0.3			1.2		
55	DPS 1-12	2.2	2.3									1.5			0.5			0.3			1.3		
56	DPS 1-14	2.7	0.5	1.8	3.60	0.7			0.7			1.2			0.7	2.4	3.42	0.3			1.0		
57	DP S1-15	3.8	1.9			1.4	1.6	1.14	0.4			2.2			0.6			0.3			2.0		
58	DPS 1-17	4.7	4.5			3.7			2.0			4.4			0.8			0.3			4.0		
59	DPS 1-18	3.2	1.1			1.0			2.9			2.1			2.5			0.3			1.0		
60	DPS 1-19	2.9	0.8	2.6	3.25	0.5			0.5			0.9			0.8			0.3			0.7		

ตารางที่ จ.1 ผลการทดสอบการสร้างเอนไซม์ 7 ชนิด ของเชื้อราที่แยกจากดินในพื้นที่ป่าพรุควนเคร็ง (ต่อ)

ที่	รหัสเชื้อ	ขนาดโคโลนีอายุ 5 วัน บนอาหาร PDA	ผลการทดสอบการสร้างเอนไซม์																				
			Amylase			Cellulase			Chitinase			Protease			Lipase			Laccase			Tyrosinase		
			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm))			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)		
			colony	Clear zone	EPR	colony	Clear zone	EPR	colony	Clear zone	EPR	colony	Clear zone	EPR	colony	Clear zone	EPR	colony	Color zone	EPR	colony	Color zone	EPR
61	DPS 1-20	2.8	1.2	2.3	1.91	1.3			1.2			1.2			1.4			0.3			1.5		
62	DPS 1-21	2.6	3.4	4.5	1.32	4.2	4.4	1.04	4.7			4.9			4.3			0.3			4.0		
63	DPS 1-22	2.2	4.6			4.5	5.1	1.13	4.2			5.9			4.0			0.3			2.2		
64	DPS 1-23	4.8	3.1			1.5	2.1	1.40	1.8			3.2			0.3			0.3			3.5		
65	DPS 1-24	4.4	2.9			0.8			0.8			2.6			0.6	1.6	2.66	0.3			2.2		
66	DPS 1-25	3.5	1.3	3.4	2.61	6.9			5.4			5.0			4.0	5.4	1.35	0.3			2.3		
67	DPS 2-1	3.7	1.2	3.5	2.91	6.4	6.9	1.07	5.7			5.2			3.3	4.7	1.42	0.3			2.4		
68	DPS 2-2	2.8	0.6			0.6			0.5			0.9			0.3	2.5	8.33	0.3			0.8		
69	DPS 2-3	4.9	4.4			3.5			3.3			3.7			1.3			0.3			4.2		
70	DPS 2-6	4.0	8.3			8.0			6.8			4.0			3.5			0.3			8.0		
71	DPS 2-7	4.4	8.3			6.5			7.5			8.3			3.3	4.0	1.21	0.3			7.9		
72	DPS 2-8	4.4	0.3			0.3			0.3			0.3			0.3			0.3			0.3		
73	DPS 2-9	3.7	1.5	2.3	1.53	4.7	5.7	1.21	3.8			1.9			2.6	3.9	1.50	0.3			1.8		
74	DPS 2-12	4.0	2.0			2.6			0.8			3.8			2.4			0.3			2.6		
75	DPS 2-13	4.9	3.6			3.1			3.3			4.8			2.0			0.3			3.7		

ตารางที่ จ.1 ผลการทดสอบการสร้างเอนไซม์ 7 ชนิด ของเชื้อราที่แยกจากดินในพื้นที่ป่าพรุควนเคร็ง (ต่อ)

ที่	รหัสเชื้อ	ขนาดโคโลนีอายุ 5 วัน บนอาหาร PDA	ผลการทดสอบการสร้างเอนไซม์																		
			Amylase			Cellulase			Chitinase			Protease			Lipase			Laccase			Tyrosinase		
			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm))			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)		
			colony	Clear zone	EPR	colony	Clear zone	EPR	colony	Clear zone	EPR	colony	Clear zone	EPR	colony	Clear zone	EPR	colony	Color zone	EPR	colony	Color zone	EPR
76	DPS 2-14	2.7	4.3			4.3	4.9	1.14	3.6			5.0			4.1			0.3			4.6		
77	DPS 2-18	4.9	3.9			3.6			3.3			3.5			1.8			0.3			3.7		
78	DPS 2-19	3.5	1.6	3.0	1.87	4.5			1.2			2.8			1.1	1.5	1.36	0.3			2.1		
79	DPS 2-20	4.3	1.1			2.8			3.0			1.7			2.4			0.3			0.3		
80	DPS 2-22	3.5	2.5	3.9	1.56	3.1	4.5	1.45	2.3			2.5			2.7			0.3			2.4		
81	DPS 2-23	2.0	0.9			0.9			0.5			0.4			0.6			0.3			0.6		
82	DPS 2-25	2.5	3.1			2.3	2.7	1.17	2.5			3.2			0.9			0.3			2.6		
83	DPS 2-26	4.0	2.2			2.3	3.0	1.30	1.0			2.3			1.0			0.3			2.1		
84	DPS 2-27	2.8	2.1			3.2	4.0	1.25	1.7			3.6			1.0			0.3			0.3		
85	DPS 2-28	3.5	2.9	3.3	1.13	2.5			2.0			1.7			2.5			0.3			2.1		
86	DPS 2-29	4.3	3.8			3.5			2.6			3.6			2.6			0.3			3.5		
87	DPS 2-30	4.4	3.9			3.3			2.3			3.3			1.5			0.3			3.7		
88	DPS 2-31	4.9	2.9			3.8	6.1	1.60	3.6			4.0			2.4			0.3			3.4		
89	DPS 2-33	4.2	4.0			3.1	4.3	1.38	3.2			4.5			0.7	2.7	3.28	0.3			4.0		
90	DPS 2-34	2.9	2.3	3.9	1.69	2.3	4.9	2.13	2.1			1.8			2.2	5.0	2.27	0.3			2.3		

ตารางที่ จ.1 ผลการทดสอบการสร้างเอนไซม์ 7 ชนิด ของเชื้อราที่แยกจากดินในพื้นที่ป่าพรุควนเคร็ง (ต่อ)

ที่	รหัสเชื้อ	ขนาดโคโลนีอายุ 5 วัน บน PDA	ผลการทดสอบการสร้างเอนไซม์																		
			Amylase			Cellulase			Chitinase			Protease			Lipase			Laccase			Tyrosinase		
			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm))			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)		
			colony	Clear zone	EPR	colony	Clear zone	EPR	colony	Clear zone	EPR	colony	Clear zone	EPR	colony	Clear zone	EPR	colony	Color zone	EPR	colony	Color zone	EPR
91	DPS 2-35	4.9	8.6			7.5			8.5			8.5			5.8			0.3			8.0		
92	DPS 2-36	4.8	8.2			8.1	8.8	1.04	7.3			8.2			7.9			0.3			8.2		
93	DPS 2-37	3.5	1.8			2.4			1.6			1.2			2.4			0.3			2.6		
94	DPS 2-38	3.0	2.7	3.2	1.18	2.7			2.8			2.0			3.5	6.6	1.88	0.3			2.1		
95	DPS 2-39	2.8	1.1			1.2	3.9	3.25	1.2			1.4			1.0	1.4	1.40	0.3			1.2		
96	DPS 2-40	3.6	0.3			0.3			0.3			0.3			0.3			0.3			0.3		
97	DPS 2-41	4.3	2.7			2.8			2.8			1.7			1.5	1.9	1.26	0.3			2.2		
98	DPS 2-42	3.2	2.1	3.5	1.66	2.5	5.0	2.00	2.1			1.6	2.3	1.43	2.3			0.3			2.7		
99	DPS 2-43	4.9	8.5			2.0			3.3			8.5			0.5			0.3			2.1		
100	DPS 2-44	3.7	1.4			2.1	3.5	1.66	2.6			1.5			3.0	3.7	1.23	0.3			1.6		
101	DPS 2-45	4.9	1.5			2.4			1.6			1.1			1.6			0.3			1.5		
102	DPS 2-46	1.9	1.6	2.3	1.43	1.6			2.4			1.2			0.6	3.1	5.16	0.3	0.5	1.67	2.5		
103	DPS 3-1	2.0	3.0			3.3	3.5	1.06	2.2			2.7			1.6			0.3			3.5		
104	DPS 3-2	7.7	2.4			1.7			3.3			3.7			2.6			0.3			4.1		
105	DPS 3-4	3.5	3.2			3.4	5.2	1.52	2.9			2.3			3.3			0.3			2.7		

ตารางที่ จ.1 ผลการทดสอบการสร้างเอนไซม์ 7 ชนิด ของเชื้อราที่แยกจากดินในพื้นที่ป่าพรุควนเคร็ง (ต่อ)

ที่	รหัสเชื้อ	ขนาดโคโลนีอายุ 5 วัน PDA	ผลการทดสอบการสร้างเอนไซม์																				
			Amylase			Cellulase			Chitinase			Protease			Lipase			Laccase			Tyrosinase		
			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm))			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)		
			colony	Clear zone	EPR	colony	Clear zone	EPR	colony	Clear zone	EPR	colony	Clear zone	EPR	colony	Clear zone	EPR	colony	Color zone	EPR	colony	Color zone	EPR
106	DPS 3-5	2.0	1.5	2.8	1.20	1.5			1.7			1.9			0.9	3.2	3.55	0.3	0.5	1.67	2.4		
107	DPS 3-8	3.0	2.3			1.5	1.7	1.13	2.2			2.6			1.2			0.3			2.6		
108	DPS 3-16	4.8	8.3			8.3			5.8			8.3			6.1			0.3			8.3		
109	DPS 5-2	4.4	3.5	4.3	1.22	2.2	4.1	1.86	2.6			3.4			1.0	2.5	2.50	0.3			3.6		
110	DPS 5-6	4.6	1.3			1.5			1.9			2.6			1.9			0.3			2.0		
111	DPS 5-8	3.5	2.7			0.6			0.4			3.1			2.3			0.3			2.1		
112	DPS 5-9	4.2	4.9			4.4			3.9			2.4			2.7			0.3			3.0		
113	DPS 5-11	4.8	5.5			4.1			3.9			4.6			4.3	4.4	102.3	0.3			5.3		
114	DPS 5-12	4.0	3.6			1.8	3.1	1.72	1.8			1.6			3.9			0.3			2.6		
115	DPS 5-13	6.1	3.9			4.7			4.9			4.1			3.0			0.3			1.5		
116	DPS 5-15	3.0	2.0			3.0	3.9	1.30	2.8			1.4			2.0	3.5	1.75	0.3			1.5		
117	DP S 5-16	2.5	1.3	1.8	1.38	1.8			0.7			0.9			1.0			0.3			0.7		
118	DPS 5-17	4.8	5.0			4.5			2.7			4.3			5.2			0.3			5.0		
119	DPS 5-19	4.8	4.2			2.8			3.4			4.0			2.0	4.8	2.40	0.3			4.1		
120	DPS 5-22	3.3	4.4			4.5	5.1	1.13	3.0			4.6			1.6	4.8	3.00	0.3			3.5		

ตารางที่ จ.1 ผลการทดสอบการสร้างเอนไซม์ 7 ชนิด ของเชื้อราที่แยกจากดินในพื้นที่ป่าพรุควนเคร็ง (ต่อ)

ที่	รหัสเชื้อ	ขนาดโคโลนีอายุ 5 วัน บน PDA	ผลการทดสอบการสร้างเอนไซม์																				
			Amylase			Cellulase			Chitinase			Protease			Lipase			Laccase			Tyrosinase		
			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm))			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)		
			colony	Clear zone	EPR	colony	Clear zone	EPR	colony	Clear zone	EPR	colony	Clear zone	EPR	colony	Clear zone	EPR	colony	Color zone	EPR	colony	Color zone	EPR
121	DPS 5-27	3.9	1.8			1.7			2.8			2.6			0.6			0.3			1.8		
122	DPS 5-30	3.7	3.5			3.3			2.0			2.4			1.2			0.3			2.3		
123	DPS 5-32	4.6	4.6			4.0	5.2	1.30	3.0			3.5			2.6			0.3			4.4		
124	DPS 5-33	2.5	1.4			1.4	2.0	1.42	1.0			1.1			2.1			0.3			1.0		
125	DPS 5-36	3.4	3.1			2.5	3.3	1.32	1.9			3.0			1.3			0.3			2.8		
126	DPS 5-38	4.8	8.3			5.9			7.2			8.3			5.5	5.7	1.03	0.3			8.2		
127	DPS 5-39	3.8	3.3			2.1			2.0			3.8			0.6			0.3			3.2		
128	DPS 5-40	2.5	1.0	1.6	1.60	1.1			0.9			1.2			3.0			0.3			1.0		
129	DPS 5-41	3.5	5.6			2.4			2.0			3.0			1.0			0.3			2.8		
130	DPS 5-43	4.3	1.1			2.4			1.6			1.5			5.8			0.3			2.8		
131	DPS 5-46	4.8	5.1			4.6			1.5			5.4			4.1			0.3			5.2		
132	DPS 5-47	4.8	2.3			1.4			2.2			1.3			1.1	1.7	1.54	0.3			4.0		
133	DPS 6-4	4.5	3.8			1.4			0.9			3.1			3.4			0.3			1.8		
134	DPS 6-6	4.2	3.9			4.0			3.2			4.2			3.5			0.3			3.5		
135	DPS 6-6	4.2	3.9			4.0			3.2			4.2			3.5			0.3			8.3		

ตารางที่ จ.1 ผลการทดสอบการสร้างเอนไซม์ 7 ชนิด ของเชื้อราที่แยกจากดินในพื้นที่ป่าพรุควนเคร็ง (ต่อ)

ที่	รหัส.เชื้อ	ขนาดโคโลนีอายุ 5 วัน บนอาหาร PDA	ผลการทดสอบการสร้างเอนไซม์																				
			Amylase			Cellulase			Chitinase			Protease			Lipase			Laccase			Tyrosinase		
			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm))			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)		
			colony	Clear zone	EPR	colony	Clear zone	EPR	colony	Clear zone	EPR	colony	Clear zone	EPR	colony	Clear zone	EPR	colony	Color zone	EPR	colony	Color zone	EPR
136	DPS 6-11	7.0	3.6			3.6			3.4			3.0			1.4			0.3			4.0		
137	DPS 6-14	4.3	3.5			2.6	3.6	1.38	2.2			3.4			2.4			0.3			3.6		
138	DPS 6-15	3.5	3.0			1.7			1.4			3.2			1.0	3.1	3.10	0.3			3.0		
139	DPS 6-16	4.9	6.5			7.0			2.3			4.3			2.5	3.1	1.24	0.3			6.2		
140	DPS 6-20	4.5	2.1			3.4			4.5			3.1			3.6	4.1	1.16	0.3			2.3		
141	DPS 6-23	4.3	7.5			8.1			7.3			7.6			5.6	6.9	1.23	0.3			5.3	8.3	1.57
142	DPS 6-25	4.8	2.2			1.4			2.0			3.0			1.9			0.3			2.1		
143	DPS 6-27	4.6	2.1			1.6			2.0			8.6			4.3			0.3			2.1		
144	DPS 6-32	4.8	8.1			6.0			5.1			8.3			5.3			0.3			8.3		
145	DPS 6-33	3.3	1.8			1.7			2.0			1.5			0.7	3.7	5.28	0.3			2.0		
146	DPS 6-34	3.5	2.3			1.7			1.7			1.8			1.3			0.3			1.8		
147	DPS 6-36	4.8	6.2			3.3			4.3			4.1			4.1	4.4	1.07	0.3			5.0		
148	DPS 6-37	4.8	3.0			0.3			1.5			3.0			1.2			0.3			2.9		
149	DPS 6-39	3.9	4.0			3.3			2.0			4.5			1.3			0.3			3.6		
150	DPS 6-40	3.5	4.6			4.6			4.0			4.5			2.2	3.8	1.72	0.3			4.7		

ตารางที่ จ.1 ผลการทดสอบการสร้างเอนไซม์ 7 ชนิด ของเชื้อราที่แยกจากดินในพื้นที่ป่าพรุควนเคร็ง (ต่อ)

ที่	รหัสเชื้อ	ขนาดโคโลนีอายุ 5 วัน บนอาหาร PDA	ผลการทดสอบการสร้างเอนไซม์																		
			Amylase			Cellulase			Chitinase			Protease			Lipase			Laccase			Tyrosinase		
			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm))			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)		
			colony	Clear zone	EPR	colony	Clear zone	EPR	colony	Clear zone	EPR	colony	Clear zone	EPR	Colony	Clear zone	EPR	colony	Color zone	EPR	colony	Color zone	EPR
151	DPS 6-41	3.3	0.8			1.3			1.7			1.8			0.7			0.3			2.5		
152	DPS 6-44	2.6	2.9			1.9			1.7			3.2			2.2			0.3			3.6		
153	DPS 7-2	4.0	2.3			2.0	2.9	1.45	1.6			2.1			0.8			0.3			2.3		
154	DPS 7-3	3.6	3.5			2.8	3.0	1.07	1.6			3.3			1.0			0.3			3.2		
155	DPS 7-6	3.8	2.1			1.8			1.9			2.0			1.0			0.3			2.5		
156	DPS 7-8	4.0	2.7			3.3			4.8			3.6			1.5			0.3			2.6		
157	DPS 7-11	3.8	1.9			2.2			1.7			2.2			1.0			0.3			1.8		
158	DPS 7-33	4.4	1.3			2.3			2.1			3.1			1.3			0.3			1.3		
159	S1 19	4.2	2.3			1.6			1.5			3.0			3.6			0.3			1.7		
160	S1 22	3.9	1.5			1.6	1.7	1.06	0.9			1.2			0.7			0.3			1.0		
161	S1 23	3.8	1.0			1.1	1.4	1.27	1.1			1.3			0.5	1.3	2.60	0.3			1.3		
162	S2 32	5.0	1.7			1.0	1.2	1.20	1.0			1.6			0.9			0.3			1.5		
163	S2 33	5.0	3.5			2.4			1.5			5.5			1.8			0.3			5.0		
164	S2 37	5.0	4.0			3.2			3.1			3.2			3.2			0.3			3.8		
165	S2 43	4.1	1.2			0.5	1.0	2.00	1.5			1.5			1.0			0.3			1.2		

ตารางที่ จ.1 ผลการทดสอบการสร้างเอนไซม์ 7 ชนิด ของเชื้อราที่แยกจากดินในพื้นที่ป่าพรุควนเคร็ง (ต่อ)

ที่	รหัสเชื้อ	ขนาดโคโลนีอายุ 5 วันบนอาหาร PDA	ผลการทดสอบการสร้างเอนไซม์																				
			Amylase			Cellulase			Chitinase			Protease			Lipase			Laccase			Tyrosinase		
			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm))			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)		
			colony	Clear zone	EPR	colony	Clear zone	EPR	colony	Clear zone	EPR	colony	Clear zone	EPR	colony	Clear zone	EPR	colony	Color zone	EPR	colony	Color zone	EPR
166	S2 49	3.9	1.4			1.1	1.3	1.18	1.0			1.7			1.5			0.3			1.6		
167	S2 64	3.7	1.1			0.8			1.6			1.5			1.1			0.3			1.4		
168	S2 68	5.0	5.5			4.4			3.4			6.3			3.9			0.3			5.9		
169	S2 72	3.6	2.1			2.1	2.3	1.09	1.8			2.1	3.3	1.57	1.8			0.3			1.7		
170	S2 74	5.0	3.3			3.1			2.1			3.7			3.4			0.3			3.5		
171	S3 66	3.8	1.5			0.9			1.3			1.8	2.0	1.11	1.1			0.3			1.7	2.0	1.18
172	S3 67	5.0	3.1			2.3			1.3			3.5			2.8			0.3			3.1		
173	S3 70	5.0	2.3			1.2			1.0			2.3			1.8			0.3			1.8		
174	S4 25	4.9	1.6			1.5			1.3			2.2			1.1			0.3			0.3		
175	S4 27	5.0	1.9			2.7			1.0			2.5			1.3			0.3			1.5		
176	S5 40	5.0	2.5			2.0	2.2	1.10	1.2			3.0			1.8			0.3			2.2		
177	S5 42	3.0	2.4			2.3			1.7			1.4	2.7	1.92	1.7			0.3			2.6		
178	S5 46	5.0	1.7			1.1			2.5			1.9			1.0			0.3			2.0		
179	S5 47	2.6	1.2			1.3			1.4			1.6	1.8	1.12	1.6			0.3			1.1		
180	S5 50	5.0	2.8			3.2			2.5			2.5			1.9			0.3			1.6		

ตารางที่ จ.1 ผลการทดสอบการสร้างเอนไซม์ 7 ชนิด ของเชื้อราที่แยกจากดินในพื้นที่ป่าพรุควนเคร็ง (ต่อ)

ที่	รหัสเชื้อ	ขนาดโคโลนีอายุ 5 วันบนอาหาร PDA	ผลการทดสอบการสร้างเอนไซม์																		
			Amylase			Cellulase			Chitinase			Protease			Lipase			Laccase			Tyrosinase		
			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm))			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)		
			colony	Clear zone	EPR	colony	Clear zone	EPR	colony	Clear zone	EPR	colony	Clear zone	EPR	colony	Clear zone	EPR	colony	Color zone	EPR	colony	Color zone	EPR
181	S5 53	4.2	2.2			1.3	1.5	1.15	1.5			2.2			0.6			0.3			1.4	2.0	1.42
182	S5 54	5.0	1.1			1.4	1.7	1.21	1.0			1.4			0.8	1.4	1.75	0.3			1.4		
183	S5 56	5.0	7.4			4.5			5.0			7.7			4.7			0.3			7.4		
184	S5 58	3.7	3.3			0.3			1.0			6.7			0.6	1.4	2.33	0.3			1.4		
185	S5 59	5.0	2.6			1.5			1.9			2.9			0.7			0.3			2.6		
186	SS 1	5.0	6.5			3.5			3.7			6.8			2.8			0.3			6.1		
187	SS 3	3.2	3.3			3.0	3.2	1.33	2.6			3.4	4.7	1.38	2.2			0.3			3.3	4.5	1.36
188	SS 6	2.1	1.4			1.2			1.3			1.5			1.0			0.3			1.5		
189	SS 7	4.0	3.1			2.5	3.2	1.28	2.1			3.2	4.1	1.28	2.0			0.3			3.1	4.3	1.39
190	SS 14	3.3	1.5			2.2	3.3	1.50	1.9			1.9			1.8			0.3			1.5		
191	SS 17	1.8	0.9			1.5			1.8			0.9			1.1			0.3			0.9		
192	SS 23	2.8	2.7			3.5			2.5			3.0			2.6			1.1	1.6	1.45	2.8		
193	SS 25	2.1	3.6			3.2			4.3			3.2			1.8			0.3			3.2		
194	SS 27	4.1	2.8			2.9			2.1			2.6			2.1			0.3			2.5		
195	SS 30	5.0	6.0			3.9			2.7			4.6			3.0			0.3			1.7		

ตารางที่ จ.1 ผลการทดสอบการสร้างเอนไซม์ 7 ชนิด ของเชื้อราที่แยกจากดินในพื้นที่ป่าพรุควนเคร็ง (ต่อ)

ที่	รหัสเชื้อ	ขนาดโคโลนีอายุ 5 วันบนอาหาร PDA	ผลการทดสอบการสร้างเอนไซม์																		
			Amylase			Cellulase			Chitinase			Protease			Lipase			Laccase			Tyrosinase		
			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm))			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)		
			colony	Clear zone	EPR	colony	Clear zone	EPR	colony	Clear zone	EPR	colony	Clear zone	EPR	colony	Clear zone	EPR	colony	Color zone	EPR	colony	Color zone	EPR
196	SS 35	4.2	3.2			2.8			2.4			3.2			1.9			0.3			3.4		
197	SS 36	2.1	1.5			1.2			1.2			1.6			0.8	1.2	1.50	0.3			1.7		
198	SS 38	3.8	2.9			2.8			2.1			2.5			2.5			0.3			3.0		
199	SS 39	2.8	2.6			1.9	2.3	1.21	1.5			2.6			0.8			0.3			2.5		
200	SS 43	3.8	3.0			2.6	3.4	1.30	2.3			3.1			1.3			0.3			3.0		
201	SS 44	3.4	2.5			2.4			1.4			2.7			1.4			0.3			2.6		
202	SS 45	1.5	1.0			0.9			1.0			1.1			0.6			0.3			1.1		
203	SS 51	4.0	4.0			3.1			1.5			4.0			2.9			0.3			3.8		
204	SS 56	3.3	3.2			2.5	3.1	1.24	2.5			2.9	4.9	1.44	1.8			0.3			2.8	3.9	1.39
205	SS 61	3.5	0.8			1.9	3.0	1.57	2.0			1.6			1.4			0.3			0.9	1.4	1.56
206	SS 64	1.5	2.1			2.1	3.0	1.42	1.9			2.1			2.0			0.3			2.1		
207	SS 70	3.4	2.2			2.9	3.4	1.17	2.2			2.4			2.4			0.3			2.6		

ตารางที่ จ.2 ผลการทดสอบการสร้างเอนไซม์ 7 ชนิด ของเชื้อราที่แยกจากน้ำในพื้นที่ป่าพรุควนเคร็ง

ที่	รหัสเชื้อ	ขนาดโคโลนีอายุ 5 วันบนอาหาร PDA	ผลการทดสอบการสร้างเอนไซม์																		
			Amylase			Cellulase			Chitinase			Protease			Lipase			Laccase			Tyrosinase		
			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm))			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)		
			colony	Clear zone	EPR	colony	Clear zone	EPR	colony	Clear zone	EPR	colony	Clear zone	EPR	colony	Clear zone	EPR	colony	Color zone	EPR	colony	Color zone	EPR
1	W 19	4.5	4.8			4.4			4.1			4.4			4.7			0.3			4.4		
2	W 56	4.6	4.5			4.7			4.4			4.3			4.2			0.3			4.5		
3	W 57	4.4	3.4			3.3			2.5			3.8			2.8			0.3			3.3		
4	W 59	4.4	4.4			4.6			4.4			4.5			3.7			0.3			4.4		
5	W 58	4.1	4.4			4.5			4.4			4.4			3.6			0.3			4.6		
6	W 60	4.2	3.3			3.3			3.0			3.2			3.1			0.3			3.2		
7	W 63	3.7	4.6			4.4			4.2			4.0			3.8			0.3			4.2		
8	W 64	4.5	2.9			3.2			2.9			2.7			2.5			0.3			2.8		
9	W 66	4.3	4.4			4.5			4.5			4.2			3.3			0.3			4.3		
10	W 69	4.4	3.7			3.2			3.2			3.4			2.8			0.3			3.5		
11	W 70	3.1	4.2			4.5			3.9			3.9			3.4			0.3			4.2		
12	W 71	3.6	4.4			4.3			3.0			3.7			3.3			0.3			4.4		
13	W 72	4.3	4.6			4.9			3.9			4.7			3.8			0.3			4.8		
14	W 74	4.4	2.6			2.7			2.7			2.7			2.3			0.3			3.0		
15	W 76	4.4	4.2			4.3			3.5			4.2			3.6			0.3			4.3		

ตารางที่ จ.2 ผลการทดสอบการสร้างเอนไซม์ 7 ชนิด ของเชื้อราที่แยกจากน้ำในพื้นที่ป่าพรุควนเคร็ง (ต่อ)

ที่	รหัสเชื้อ	ขนาดโคโลนีอายุ 5 วัน บนอาหาร PDA	ผลการทดสอบการสร้างเอนไซม์																		
			Amylase			Cellulase			Chitinase			Protease			Lipase			Laccase			Tyrosinase		
			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm))			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)		
			colony	Clear zone	EPR	colony	Clear zone	EPR	colony	Clear zone	EPR	colony	Clear zone	EPR	colony	Clear zone	EPR	colony	Color zone	EPR	colony	Color zone	EPR
16	W 77	4.5	4.0			4.1			4.5			8.2			3.5			0.3			4.3		
17	W 78	4.8	3.4			3.4			2.9			3.3			3.0			0.3			3.2		
18	W 80	4.6	2.7			2.8			2.7			2.6			2.5			0.3	0.5	1.67	2.6		
19	W 81	4.5	4.2			4.2			4.3			4.0			3.4			0.3			4.5		
20	W 82	4.3	4.0			4.2			4.2			4.3			3.5			0.3			4.2		
21	W 83	4.2	4.0			4.5			4.2			4.3			3.8			0.3			4.2		
22	W 85	3.6	4.3			4.2			4.3			4.0			3.6			0.3			4.2		
23	W 86	4.5	4.1			4.8			4.3			4.0			3.2			0.3			4.1		
24	W 88	4.6	4.5			4.5			4.3			4.3			3.6			0.3			4.5		
25	W 89	4.4	4.0			4.4			4.0			4.1			3.3			0.3			4.2		
26	W 90	4.3	3.2			3.3			3.1			3.5			2.8			0.3			3.3		
27	W 93	4.4	4.6			4.7			4.8			4.4			3.8			0.3			4.5		
28	W 94	3.6	2.3			1.5	2.2	1.46	1.8			0.8			1.4			0.3			2.6		
29	W 96	3.5	2.8			3.0			1.8			0.3			2.9			0.3			3.1		
30	W 97	4.4	4.5			4.9			4.0			4.5			4.0			0.3			4.4		

ตารางที่ จ.2 ผลการทดสอบการสร้างเอนไซม์ 7 ชนิด ของเชื้อราที่แยกจากน้ำในพื้นที่ป่าพรุควนเคร็ง (ต่อ)

ที	รหัสเชื้อ	ขนาดโคโลนีอายุ 5 วันบนอาหาร PDA	ผลการทดสอบการสร้างเอนไซม์																			
			Amylase			Cellulase			Chitinase			Protease			Lipase			Laccase			Tyrosinase		
			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm))			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)		
			colony	Clear zone	EPR	colony	Clear zone	EPR	colony	Clear zone	EPR	colony	Clear zone	EPR	colony	Clear zone	EPR	colony	Color zone	EPR	colony	Color zone	EPR
31	W 98	4.6	2.7			2.7			1.9			2.4			2.3			0.3	0.5	1.67	2.6		
32	W 99	4.4	4.6			4.6			3.9			4.2			3.7			0.3			4.6		
33	W 100	4.6	6.0			4.2			4.1			4.0			3.5			0.3			4.0		
34	W 101	4.5	4.3			4.5			4.6			4.0			3.3			0.3			4.1		
35	W 102	4.6	6			4.2			4.1			4.0			3.5			0.3			4.0		
36	W 103	4.5	2.8			4.1			4.4			4.3			3.5			0.3			4.5		
37	W 104	4.3	4.6			4.7			4.4			4.4			3.7			0.3			4.4		
38	W 105	4.2	4.6			4.6			4.1			4.5			3.8			0.3			4.7		
39	W 110	5.0	3.1			1.7			1.5			3.0	3.5	1.16	2.5			0.3	0.4	1.33	2.5	3.2	1.28
40	W 120	5.0	7.8			3.9			5.5			8.5			0.6	1.0	1.66	0.3			8.5		
41	W 122	5.0	5.7			2.6			3.8			5.5			4.8			0.3			5.6		
42	W 123	5.0	1.8			2.8			2.8			2.8			1.2			0.3	0.4	1.33	1.8		
43	W 137	5.0	2.0			0.7	1.3	1.85	1.5			2.2			2.2			0.3			2.1		
44	W 138	4.3	2.0			3.2	4.4	1.37	1.2			3.5			2.6			0.3			1.5		
45	W 139	5.0	5.8			5.0			4.6			7.0			5.9			0.3			7.1		

ตารางที่ จ.2 ผลการทดสอบการสร้างเอนไซม์ 7 ชนิด ของเชื้อราที่แยกจากน้ำในพื้นที่ป่าพรุควนเคร็ง (ต่อ)

ที่	รหัสเชื้อ	ขนาดโคโลนีอายุ 5 วัน บนอาหาร PDA	ผลการทดสอบการสร้างเอนไซม์																			
			Amylase			Cellulase			Chitinase			Protease			Lipase			Laccase			Tyrosinase		
			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm))			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)		
			colony	Clear zone	EPR	colony	Clear zone	EPR	colony	Clear zone	EPR	colony	Clear zone	EPR	colony	Clear zone	EPR	colony	Color zone	EPR	colony	Color zone	EPR
46	W 141	5.0	6.3			5.5			4.7			7.7			5.5			0.3			8.1		
47	W 147	5.0	3.1			3.1			2.9			3.1			2.6			0.3	0.4	1.33	3.0		
48	W 149	5.0	1.3			1.5			1.5			2			1.8			0.3	0.5	1.67	1.6		
49	W 154	3.9	2.7			3.2	3.6	1.12	2.3			1.4			2.5			0.3			2.3		
50	W 158	5.0	1.6			0.9			2.0			1.8			2.3			0.3			1.9		
51	W 163	5.0	3.6			3.8			3.4			5.8			1.5	2.4	1.60	0.3			4.9		
52	W 170	5.0	3.0			3.0			3.2			3.1			0.7	1.5	2.14	0.3			2.4		
53	W 188	5.0	4.3			4.7			5.6			7.9			5.3			0.3			7.1		
54	W 189	5.0	7.3			5.3			4.7			8.7			7.1			0.3			0.3		
55	W 192	3.8	0.3			0.3			0.3			0.3			0.3			0.3			0.3		
56	W 199	5.0	7.4			5.3			4.6			8.6			4.4			0.3			8.2		
57	W 200	3.9	2.2			3.6	4.2	1.16	1.7			2.3			3.0			0.3			2.0		
58	W 204	5.0	3.2			3.3			2.5			3.3			2.5			0.3	0.4	1.33	3.4		
59	W 245	4.5	2.2			2.7	3.2	1.18	2.3			2.8	4.1	1.46	1.1			0.3			2.2		
60	W 248	4.2	2.4			2.7	4.4	1.63	2.7			2.8			3.6			0.3			2.0		

ตารางที่ จ.2 ผลการทดสอบการสร้างเอนไซม์ 7 ชนิด ของเชื้อราที่แยกจากน้ำในพื้นที่ป่าพรุควนเคร็ง (ต่อ)

ที่	รหัสเชื้อ	ขนาดโคโลนีอายุ 5 วัน บนอาหาร PDA	ผลการทดสอบการสร้างเอนไซม์																				
			Amylase			Cellulase			Chitinase			Protease			Lipase			Laccase			Tyrosinase		
			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm))			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)		
			colony	Clear zone	EPR	colony	Clear zone	EPR	colony	Clear zone	EPR	colony	Clear zone	EPR	colony	Clear zone	EPR	colony	Color zone	EPR	colony	Color zone	EPR
61	W 250	5.0	8.1			4.8			4.8			8.6			2.7	2.7	1.11	0.3			8.6		
62	W 252	5.0	3.4			3.1			1.4			3.7			2.5			0.3			3.8		
63	W 254	5.0	8.2			6.1			6.5			8.6			5.6			0.3			8.6		
64	W 256	3.9	2.6			1.7			1.4			2.4			1.5			0.3			2.4		
65	W 259	5.0	6.7			5.3			4.5			7.8			3.3			0.3			7.4		
66	W261	5.0	7.3			6.0			6.2			7.9			1.8	2.3	1.27	0.3			8.1		
67	W 262	5.0	3			3.0			2.0			3.6			2.8			0.3			3.2		
68	W 264	5.0	8.6			6.5			6.6			8.6			5.5			0.3			8.6		
69	P 4	3.6	2.7			2.5	3.8	1.52	2.1			2.8			3.0			0.3			2.5		
70	P 5	3.8	2.7			2.4			2.4			2.6			2.7			0.3			2.4		
71	P 19	3.0	1.4			1.4			1.3			1.5			1.6			0.3			1.8		
72	P 15	4.5	5.2			5.2			3.2			5.5			4.2			0.3			5.3		
73	P 17	2.7	1.9			1.5			1.7			2.4			1.4			0.3			2.0		
74	P 18	2.5	2.8			2.7	3.2	1.18	1.9			3.2			3.2			0.3			2.9		
75	P 20	3.4	2.3			2.1			1.3			1.9			1.7			0.3			2.0		

ตารางที่ จ.2 ผลการทดสอบการสร้างเอนไซม์ 7 ชนิด ของเชื้อราที่แยกจากน้ำในพื้นที่ป่าพรุควนเคร็ง (ต่อ)

ที่	รหัสเชื้อ	ขนาดโคโลนีอายุ 5 วัน บนอาหาร PDA	ผลการทดสอบการสร้างเอนไซม์																				
			Amylase			Cellulase			Chitinase			Protease			Lipase			Laccase			Tyrosinase		
			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm))			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)		
			colony	Clear zone	EPR	colony	Clear zone	EPR	colony	Clear zone	EPR	colony	Clear zone	EPR	colony	Clear zone	EPR	colony	Color zone	EPR	colony	Color zone	EPR
76	P 21	2.7	3.1			3.2	3.8	1.18	2.7			3.0			2.1			0.3			3.2		
77	P 32	3.0	2.6			1.4	1.6	1.14	1.6			3.0			0.9			0.3			2.1		
78	P 33	4.7	2.3			2.2			2.3			2.2			1.4			0.3			2.5		
79	P 38	4.2	3.4			3.3			2.1			4.0			4.2			0.3			3.7		
80	P 39	3.6	2.0			2.3			2.1			2.8	4.5	1.60	1.7			0.3			2.7		
81	P 40	2.8	2.0			1.6			0.6			0.3			0.3			0.3			0.3		
82	P 41	2.7	1.9			1.6			1.8			2.3	2.7	1.17	0.8			0.3			2.1		
83	P 42	2.4	1.3			1.0	1.9	1.90	1.0			0.3			1.0			0.3			0.3		
84	P 44	2.3	1.6			1.8			1.0			1.5			1.4			0.3			1.9		
85	P 49	2.8	2.5			2.5			2.0			2.4			1.2	1.8	1.50	0.3			2.1		
86	P 50	4.8	8.3			7.8			6.7			8.3			4.3			0.3			8.3		
87	PW 8	2.2	1.3			1.4	3.0	2.14	0.8			1.6			1.2			0.3			1.3		
88	PW 9	4.3	4.1			3.0			3.8			4.0			2.6			0.3			2.4		
89	PW 10	4.6	3.5			2.4	2.9	1.20	1.5			3.2			3.3			0.3			3.5		

ตารางที่ จ.3 ผลการทดสอบการสร้างเอนไซม์ 7 ชนิด ของเชื้อราเอนโดไฟท์ที่แยกจากพืชในพื้นที่ป่าพรุควนเคร็ง

ที่	รหัสเชื้อ	ขนาดโคโลนีอายุ 5 วัน บนอาหาร PDA	ผลการทดสอบการสร้างเอนไซม์																				
			Amylase			Cellulase			Chitinase			Protease			Lipase			Laccase			Tyrosinase		
			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm))			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)		
			colony	Clear zone	EPR	colony	Clear zone	EPR	colony	Clear zone	EPR	colony	Clear zone	EPR	colony	Clear zone	EPR	colony	Color zone	EPR	colony	Color zone	EPR
1	1 ML B1.2	4.6	3.6			4.3			3.2			4.6			3.1			0.3			4.6		
2	2 ML L1.1	3.9	2.7			3.4	3.8	1.11	3.6						2.0			0.3			2.8		
3	2 ML L1.2	4.8	4.1			3.8	5.7	1.50	2.8			4.0			3.2			0.3			3.5		
4	2 ML L1.3	8.5	5.4			4.3			5.1			5.8			4.6			0.3			8.6		
5	2 ML L1.4	4.3	2.5			3.7			2.4			4.1			3.7			0.3			1.2		
6	2 ML B1.3	8.2	5.6			0.9	2.7	3.00	1.8			5.0			0.8	1.3	1.62	0.3			4.7		
7	2 ML B1.7	4.4	1.5			3.4	3.7	1.08	3.1			2.8			1.9			0.3			3.1		
8	3 ML B1.1	1.3	3.2			3.9	4.0	1.02	3.6			4.1			2.1			0.3			4.2		
9	3 ML B1.3	3.3	1.8			2.9	5.4	1.86	1.8			2.9			2.4			0.3			3.1		
10	3 ML B1.4	4.6	2.0			2.5	3.1	1.24	1.9			1.5			2.0	3.0	1.50	0.3			1.8		
11	3 ML B1.6	4.0	4.0			3.9			4.4			3.6			1.8			0.3			4.3		
12	3 ML B1.7	7.2	3.8			4.7			4.3			2.6			5.5			0.3			3.4		
13	3 ML L1.2	4.1	2.2			2.3	2.9	1.26	2.2			2.3			1.9	2.7	1.42	0.3			2.3		
14	3 ML L1.3	4.3	1.1			1.7	2.2	1.29	2.5			2			1.7	2.9	1.70	0.3			1.4		
15	3 ML M1.1	6.6	2.4			2.1	3.8	1.81	1.7			2.1			2.9			0.3			3.3		

ตารางที่ จ.3 ผลการทดสอบการสร้างเอนไซม์ 7 ชนิด ของเชื้อราเอนโดไฟท์ที่แยกจากพืชในพื้นที่ป่าพรุควนเคร็ง (ต่อ)

ที่	รหัสเชื้อ	ขนาดโคโลนีอายุ 5 วัน บนอาหาร PDA	ผลการทดสอบการสร้างเอนไซม์																				
			Amylase			Cellulase			Chitinase			Protease			Lipase			Laccase			Tyrosinase		
			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm))			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)		
			colony	Clear zone	EPR	colony	Clear zone	EPR	colony	Clear zone	EPR	colony	Clear zone	EPR	colony	Clear zone	EPR	colony	Color zone	EPR	colony	Color zone	EPR
16	3 ML M1.3	4.4	2.3			3.4			1.9			4.6			3.1			0.3			2.7		
17	3 ML M1.5	3.3	1.2			1.8			1.1			1.1			1.6			0.3			1.0		
18	4 ML B1.3	8.2	8.0			6.4			6.8			7.9			1.9	2.9	1.68	0.3			7.8		
19	4 ML L1.2	5.3	1.8			2.9	4.1	1.41	1.7			2.7			2.9			0.3			3.0		
20	4 ML L1.3	5.7	2.9			2.8			3.2			3.4			3.3			0.3			1.4		
21	4 ML L1.6	3.4	1.3			2.5			1.4			2.6			2.7			0.3			2.2		
22	1 MM B1.2	8.6	8.3			7.4			6.4			8.2			7.5			0.3			8.2	8.7	1.07
23	1 MM B1.3	8.4	7.8			5.0			7.0			7.9			1.5	2.4	1.60	0.3			5.7	8.6	1.50
24	1 MM L1.1	6.5	3.5			2.4			2.5			3.7			1.8	3.5	1.94	0.3			3.2		
25	1 MM L1.2	4.9	1.4			1.5			2.7			1.5			3.3			0.3			2.5		
26	1 MMM1.1	4.0	1.6			4.3			3.8			2.7			3.9			0.3			3.2		
27	1 MMM1.3	6.1	4.8			4.5			2.1			5.3			4.9	5.1	1.04	0.3			5.0		
28	2 MM B1.2	8.6	8.4			7.6			7.1			8.3			1.9			0.3			8.4		
29	2 MM P1.2	4.9	2.6			3.1			3.4			3.5			4.5			0.3			2.8		
30	4 MM B1.3	4.3	5.3			4.5			3.6			5.2			4.2			0.3			5.6		

ตารางที่ จ.3 ผลการทดสอบการสร้างเอนไซม์ 7 ชนิด ของเชื้อราเอนโดไฟท์ที่แยกจากพืชในพื้นที่ป่าพรุควนเคร็ง (ต่อ)

ที่	รหัสเชื้อ	ขนาดโคโลนีอายุ 5 วัน บนอาหาร PDA	ผลการทดสอบการสร้างเอนไซม์																				
			Amylase			Cellulase			Chitinase			Protease			Lipase			Laccase			Tyrosinase		
			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm))			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)		
			colony	Clear zone	EPR	colony	Clear zone	EPR	colony	Clear zone	EPR	colony	Clear zone	EPR	colony	Clear zone	EPR	colony	Color zone	EPR	colony	Color zone	EPR
31	4 MM L1.3	8.2	7.6			6.1			5.5			7.5			1.3	2.6	2.00	0.3			8.8		
32	4 MM L1.5	4.8	4.4			3.9			2.9			2.4						0.3			2.8		
33	4 MM L1.6	8.6	8.3			8.3			7.1			8.0			5.4			0.3			7.9	8.5	1.08
34	4 MMM1.2	8.5	8.3			7.5			5.9			8.0			7.0			0.3			8.3	8.8	1.06
35	4 MMM1.3	5.8	2.8			2.7	6.4	2.37	2.4			3.6			4.7			0.3			2.9		
36	4 MMM1.4	4.5	6.3			7.1			6.3			7.2			2.4	2.9	1.20	0.3			6.7		
37	4 MMM1.5	8.6	8.1			6.2			6.2			8.3			6.6			0.3			8.4	8.8	1.05
38	4 MMM1.7	4.3	1.9			2.6	4.6	1.76	1.7			3.0			3.1			0.3			3.5		
39	4 MMM1.8	8.6	8.2			6.5			6.3			8.0			3.4			0.3			8.2	8.8	1.07
40	4MMM1.12	5.3	4.4			3.6			3.0			4.3			4.2			0.3			4.3		
41	4 MM P1.8	8.4	5.4			3.7			3.6			4.0			4.0			0.3			5.6	8.4	1.50
42	1 AV B1.1	6.6	2.0			2.6			2.3			2.2			2.1			0.3			3.2		
43	1 AV B1.2	5.4	1.0			3.0	5.0	1.66	2.8			2.8			2.6			0.3			3.1		
44	1 AV B1.3	8.6	8.3			8.0			6.5			8.3			4.7			0.3			8.0	8.7	1.09
45	1 AV L1.1	4.3	2.6			2.4			4.1			2.4			4.9			0.3			2.2		

ตารางที่ จ.3 ผลการทดสอบการสร้างเอนไซม์ 7 ชนิด ของเชื้อราเอนโดไฟท์ที่แยกจากพืชในพื้นที่ป่าพรุควนเคร็ง (ต่อ)

ที่	รหัสเชื้อ	ขนาดโคโลนีอายุ 5 วัน บนอาหาร PDA	ผลการทดสอบการสร้างเอนไซม์																				
			Amylase			Cellulase			Chitinase			Protease			Lipase			Laccase			Tyrosinase		
			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm))			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)		
			colony	Clear zone	EPR	colony	Clear zone	EPR	colony	Clear zone	EPR	colony	Clear zone	EPR	colony	Clear zone	EPR	colony	Color zone	EPR	colony	Color zone	EPR
46	1 AV L1.2	3.5	2.4			3.0			2.5			4.1			2.1			0.3			3.2		
47	1 AV L1.4	3.5	3.0			3.1			2.8			0.3			2.7	5.6	2.07	0.3			2.4		
48	1 AV L1.5	2.1	3.2			4.0	7.2	1.80	4.4			4.4			5.1			0.3			3.1		
49	1 AV L1.6	4.4	4.1			4.0			3.9			4.1			5.3			0.3			2.7		
50	1 AV L1.7	8.3	8.4			3.9	4.1	1.05	4.1			8.1			1.3	2.5	1.92	0.3			5.7	8.2	1.44
51	1 AV B1.7	3.9	2.1			2.4	2.7	1.12	2.8			2.4			1.8			0.3			2.4		
52	1 AV M1.1	4.4	2.6			3.5	4.9	1.40	2.9			3.3			3.2			0.3			3.6		
53	1 AV M1.2	8.7	8.0			7.2			7.8			8.2			2.0	3.0	1.50	0.3			8.3	8.7	1.05
54	1 AV P1.2	3.2	3.5			3.6			3.1			4.0			4.1			0.3			1.1		
55	1 AV P1.3	4.5	2.7			2.9	3.4	1.17	2.6			3.0	4.4	1.46	1.2	3.0	2.50	0.3			1.7		
56	2 AV L1.3	3.6	2.5			2.8			2.5			2.9			1.9			0.3			2.8		
57	2 AV M1.1	4.8	4.1			4.8	7.4	1.54	3.8			2.5			5.2			0.3			3.3		
58	2 AV M1.2	8.2	7.8			6.4			5.6			7.5			1.2	3.3	2.75	0.3			6.6		
59	2 AV M1.3	3.3	3.1			2.8			3.0			3.2			3			0.3			3.3		
60	2 AV M1.4	4.3	2.2			4.2			2.7			2.4			2.2			0.3			3.6		

ตารางที่ จ.3 ผลการทดสอบการสร้างเอนไซม์ 7 ชนิด ของเชื้อราเอนโดไฟท์ที่แยกจากพืชในพื้นที่ปาพรุควนเคร็ง (ต่อ)

ที่	รหัสเชื้อ	ขนาดโคโลนีอายุ 5 วัน บนอาหาร PDA	ผลการทดสอบการสร้างเอนไซม์																				
			Amylase			Cellulase			Chitinase			Protease			Lipase			Laccase			Tyrosinase		
			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm))			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)		
			colony	Clear zone	EPR	colony	Clear zone	EPR	colony	Clear zone	EPR	colony	Clear zone	EPR	colony	Clear zone	EPR	colony	Color zone	EPR	colony	Color zone	EPR
61	4 AV M1.5	5.5	1.7			1.6	2.0	1.25	2.1			1.9			2.6			0.3			2.9		
62	4 AV M1.6	5.3	3.2			3.8			3.2			4.3			4.1			0.3			2.9		
63	4 AV M1.8	4.7	2.1			3.0			1.7			1.6			3.1			0.3			3.7		
64	3 AV L1.1	2.7	2.7			2.3			2.7			1.0			4.4			0.3			2.6		
65	3 AV L1.2	4.3	2.3			3.3	6.4	1.93	1.5			3.8			2.8			0.3			2.5		
66	3 AV L1.4	3.4	2.2			2.0			3.3			3.8			3.2			0.3			2.6		
67	3 AV L1.5	7.8	2.0			3.3			3.4			2.7			3.7			0.3			2.3		
68	3 AV B1.2	3.0	2.6			3.5			2.8			2.2			5.2	5.7	1.09	0.3			3.3		
69	4 AV B1.1	3.6	1.3			2.1	3.0	1.42	1.5			1.6			1.5	2.5	1.66	0.3			2.0		
70	4 AV B 1.3	3.5	2.5			2.6			2.0			2.8			1.9			0.3			2.8	3.4	1.21
71	4 AV L1.4	3.4	2.9			2.9			3.1			2.4						0.3			2.5		
72	4 AV L1.6	4.0	2.2			2.1			2.1			2.1			1.2	2.5	2.08	0.3			2.1		
73	4 AV L1.8	4.6	5.2			4.2			5.8			7.3			2.7	3.4	1.25	0.3			6.6		
74	4 AV L1.10	8.2	6.9			5.5			4.5			6.7			0.8	2.2	2.75	0.3			6.6		
75	4 AV P1.2	5.3	1.6			2.6	4.2	1.61	1.8			2.3			2.8			0.3			2.3		

ตารางที่ จ.3 ผลการทดสอบการสร้างเอนไซม์ 7 ชนิด ของเชื้อราเอนโดไฟท์ที่แยกจากพืชในพื้นที่ป่าพรุควนเคร็ง

ที่	รหัสเชื้อ	ขนาดโคโลนีอายุ 5 วัน บนอาหาร PDA	ผลการทดสอบการสร้างเอนไซม์																		
			Amylase			Cellulase			Chitinase			Protease			Lipase			Laccase			Tyrosinase		
			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm))			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)		
			colony	Clear zone	EPR	colony	Clear zone	EPR	colony	Clear zone	EPR	colony	Clear zone	EPR	colony	Clear zone	EPR	colony	Color zone	EPR	colony	Color zone	EPR
76	4 AV P1.4	5.2	2.6			2.8			2.8			3.4			3.0			0.3			3.1		
77	4 AV M1.2	5.8	3.0			2.3			2.1			2.2			1.6	2.3	1.43	0.3			2.4		
78	4 AVM1.10	3.4	1.7			3.0	3.4	1.13	1.6			2.1	3.2	1.52	1.2	3.4	2.83	0.3			1.7		
79	1SC V1.2	3.5	1.6			3.7	4.8	1.29	2.9			2.1			2.8			0.3			3.3		
80	2 SC B1.6	4.4	4.3			4.7			2.9			2.6			2.1			0.3			4.6		
81	2 SC V1.3	3.1	2.2			2.7			2.3			2.6			2.6			0.3			3.1		
82	2 SC P1.2	4.2	2.8			4.0			3.3			4.2			4.5			0.3			2.8		
83	3 SC B1.2	3.2	1.4			2.8	3.1	1.10	2.7			2.7	3.6	1.33	1.2	2.7	2.25	0.3			1.2		
84	3 SC L1.1	3.8	3.0			2.8	7.0	2.50	3.5			4.1			4.8			0.3			2.6		
85	4 SC B1.1	3.9	1.5			2.4			2.6			1.6			2.9			0.3			2.1		
86	4 SC B1.4	8.6	8.2			7.0			6.0			8.0			5.8			0.3			8.3	8.6	1.04
87	4 SC B1.7	6.3	2.1			2.6	4.3	1.65	2.6			2.5			2.5			0.3			3.6		
88	4 SC L1.1	8.5	8.2			7.0			7.0			8.2			7.6			0.3			8.2		
89	4 SC L1.4	6.7	3.3			4.6	7.9	1.71	4.3			4.7			4.0			0.3			3.7	4.2	1.13
90	4 SC L1.6	8.5	5.8			4.5			4.2			4.7			3.3			0.3			8.1	8.5	1.05

ตารางที่ จ.3 ผลการทดสอบการสร้างเอนไซม์ 7 ชนิด ของเชื้อราเอนโดไฟท์ที่แยกจากพืชในพื้นที่ป่าพรุควนเคร็ง (ต่อ)

ที่	รหัสเชื้อ	ขนาดโคโลนีอายุ 5 วัน บนอาหาร PDA	ผลการทดสอบการสร้างเอนไซม์																				
			Amylase			Cellulase			Chitinase			Protease			Lipase			Laccase			Tyrosinase		
			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm))			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)		
			colony	Clear zone	EPR	colony	Clear zone	EPR	colony	Clear zone	EPR	colony	Clear zone	EPR	colony	Clear zone	EPR	colony	Color zone	EPR	colony	Color zone	EPR
91	4 SC L1.9	5.3	4.0			3.9	6.8	1.74	2.3			4.0			4.8			0.3			3.3		
92	4 SC L1.11	8.4	6.0			5.3			3.7			5.5			4.4			0.3			8.2	8.6	1.05
93	4 SC P1.4	3.7	2.8			3.3			2.2			3.5			2.9			0.3			3.2		
94	4 SC P1.8	5.1	1.7			2.9	3.9	1.34	1.8			1.6			2.7			0.3			2.4		
95	1 LA S1.2	7.7	1.9			4.2	4.6	1.09	3.9			3.4	3.9	1.14	1.4			0.3			3.2		
96	1 LA S1.3	4.8	7.9			2.3	2.8	1.21	2.5			3.1			2.4			0.3			3.1		
97	2 LA S1.3	3.4	3.4			2.7			3.2			3.4			1.7	2.9	1.70	0.3			3.2		
98	2 LA S1.4	7.9	5.1			4.2	5.2	1.23	3.1			6.9			3.6			0.3			4.4		
99	3 LA S1.1	4.5	2.4			3.4			2.9			4.4			1.8	2.5	1.38	0.3			2.9		
100	4 LA S1.1	4.2	2.3			2.5	3.0	1.20	2.8			2.8			1.7			0.3			2.8		
101	4 LA S1.8	6.9	4.8			3.3			3.6			4.2			2.0	3.4	1.70	0.3			3.7		
102	4 LA S1.9	3.3	3.8			3.1			3.0			3.0			2.4	4.7	1.95	0.3			3.5		
103	4 LA S1.11	8.5	6.0			4.8			4.2			5.1			3.6			0.3			7.9	8.5	1.08
104	4 LA S1.12	4.5	2.8			4.2	6.7	1.59	3.4			4.2			3.0			0.3			2.4		
105	4 LA S1.5	8.2	7.0			5.8			5.5			6.9			1.2	2.3	1.91	0.3			5.1		

ตารางที่ จ.3 ผลการทดสอบการสร้างเอนไซม์ 7 ชนิด ของเชื้อราเอนโดไฟท์ที่แยกจากพืชในพื้นที่ป่าพรุควนเคร็ง (ต่อ)

ที่	รหัสเชื้อ	ขนาดโคโลนีอายุ 5 วัน บนอาหาร PDA	ผลการทดสอบการสร้างเอนไซม์																				
			Amylase			Cellulase			Chitinase			Protease			Lipase			Laccase			Tyrosinase		
			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm))			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)		
			colony	Clear zone	EPR	colony	Clear zone	EPR	colony	Clear zone	EPR	colony	Clear zone	EPR	colony	Clear zone	EPR	colony	Color zone	EPR	colony	Color zone	EPR
109	4 TA S1.12	5.4	2.2			2.6			1.5			2.4			1.5	2.7	1.80	0.3			2.4		
110	4 TA M1.2	3.9	5.5			5.2			4.9			5.0			2.9	3.3	1.13	0.3			4.7		
111	4 TA M1.4	6.0	3.5			3.7	5.9	1.59	2.2			3.6			3.4			0.3			2.5		
112	1 RT L1.1	3.4	2.3			1.5			1.0			1.1			2.6			0.3			2.5		
113	1 RT L1.3	5.7	1.7			2.9			1.5			2.4			2.7			0.3			3.2		
114	1 RT P1.1	4.3	2.6			3.3	5.9	1.78	3.4			4.0			4.2			0.3			2.3		
115	2 RT B1.2	4.0	1.9			2.5	3.3	1.32	1.6			2.4			1.4	2.2	1.57	0.3			1.5		
116	2 RT B1.4	4.0	1.3			2.7	5.1	1.88	2.3			2.2			2.7			0.3			2.4		
117	3 RT L1.1	8.2	6.8			5.5			4.6			6.0			1.1	2.6	2.36	0.3			4.5		
118	4 RT L1.3	4.4	2.6			2.0	2.3	1.15	1.6			2.5			1.1	2.4	2.18	0.3			2.6		
119	2 MC B1.4	4.5	3.2			3.4	3.7	1.08	2.8			4.8			2.2			0.3			3.8		
120	2 MC L1.2	4.0	3.2			4.1			2.2			5.1			2.7			0.3			4.7		
121	2 MC P1.2	3.2	3.1			4.1			2.6			5.0			2.3			0.3			3.4		