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.