

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ ผลยับยั้งของน้ำกรองเลี้ยงเชื้อราที่ผลิตไคตินเอสต่อ *Cladosporium* sp.,
Fusarium sp. และ *Lasiodiplodia* sp.

ชื่อผู้เขียน นางสาวศิริลักษณ์ เจริญรัตน์

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยา

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

ผู้ช่วยศาสตราจารย์อภิญญา	ผลิโกมล	ประธานกรรมการ
รองศาสตราจารย์วันชัย	สนธิไชย	กรรมการ
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วิชา	สอาดสุด	กรรมการ

บทคัดย่อ

การศึกษาผลยับยั้งการเจริญของเชื้อราโรคพืช *Cladosporium* sp., *Fusarium* sp. และ *Lasiodiplodia* sp. โดยน้ำกรองเลี้ยงเชื้อรา จำนวน 165 ไอโซเลท นำเชื้อราแต่ละไอโซเลทเลี้ยงในอาหารเหลว enzyme production medium ซึ่งมี colloidal chitin เป็นแหล่งคาร์บอน เขย่าด้วยความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7 วัน เก็บน้ำเลี้ยงโดยกรองเส้นใยออก จากนั้นนำน้ำเลี้ยงของแต่ละไอโซเลทมาทดสอบการยับยั้งการเจริญของราทั้ง 3 ชนิด โดย cylinder plate method จากการทดลอง พบว่า *Trichoderma* sp. CK₂₀, *Trichoderma* sp. SC-23, *Basipetospora* sp. CK₃₀, *Aspergillus* sp. BB₄, *Fusarium* sp. D₄, *Trichoderma* sp. CT₂₆, *Fusarium* sp. CH₁₂, *Trichoderma* sp. SC-21 และ *Paecilomyces* sp. S1-11 ให้ผลยับยั้ง *Cladosporium* sp. โดยมีขนาดของวงใสเป็น 26.3, 16.7, 12.7, 12.3, 12.0, 10.3, 10.3, 9.3 และ 9.3 มม. ตามลำดับ *Alternaria* sp. P₂₁ ให้ผลยับยั้ง *Fusarium* sp. โดยมีขนาดของวงใสเป็น 16.7 มม. *Trichoderma* sp. CT₂₆, *Trichoderma* sp. CK₂₀, และ *Trichoderma* sp. SC-21 ให้ผลยับยั้ง *Lasiodiplodia* sp. โดยมีขนาดของวงใสเป็น 26.0, 20.7 และ 11.0 มม. ตามลำดับ การศึกษาการเป็นเชื้อปฏิปักษ์ระหว่างเชื้อรา จำนวน 165 ไอโซเลท ต่อ *Cladosporium* sp., *Fusarium* sp.

และ *Lasiodiplodia* sp. พบว่า เชื้อราจำนวน 39 ไอโซเลท เป็นเชื้อปฏิปักษ์ต่อ *Cladosporium* sp. เชื้อราจำนวน 10 ไอโซเลท เป็นเชื้อปฏิปักษ์ต่อ *Fusarium* sp. และเชื้อรา จำนวน 45 ไอโซเลท เป็นเชื้อปฏิปักษ์ต่อ *Lasiodiplodia* sp. ส่วนการศึกษาผลยับยั้งการเจริญของเชื้อราโรคพืช ทั้ง 3 ชนิด โดยนำน้ำกรองเลี้ยงเชื้อรา จำนวน 10 ไอโซเลทที่ให้ผลยับยั้งโดย cylinder plate method มาทดสอบโดย Poisonous food technique พบว่า *Trichoderma* sp. SC-23, *Paecilomyces* sp. S1-11, *Trichoderma* sp. CK₂₀, *Aspergillus* sp. BB₄, *Trichoderma* sp. CT₂₆ และ *Fusarium* sp. D₄ ให้ผลยับยั้งการเจริญของ *Cladosporium* sp. เป็น 36.36%, 30.3%, 18.18%, 15.15%, 15.15% และ 12.12% ตามลำดับ *Alternaria* P₂₁, *Trichoderma* sp. CT₂₆, *Trichoderma* sp. SC-21, *Aspergillus* sp. BB₄, *Trichoderma* sp. CK₂₀, *Trichoderma* sp. SC-23, *Basipetospora* sp. CK₃₀ และ *Paecilomyces* sp. S1-11 ให้ผลยับยั้งการเจริญของ *Fusarium* sp. เป็น 25%, 22%, 19%, 16%, 16%, 13%, 10% และ 10% ตามลำดับ *Trichoderma* sp. SC-21 และ *Trichoderma* sp. SC-23 ให้ผลยับยั้งการเจริญของ *Lasiodiplodia* sp. เป็น 26.67% และ 13.3% ตามลำดับ

เมื่อนำน้ำกรองเลี้ยงเชื้อราทั้ง 10 ไอโซเลท มาวัดค่าการทำงานของเอนไซม์ไคตินเนส พบว่า enzyme activity ของ *Alternaria* sp. P₂₁, *Basipetospora* sp. CK₃₀, *Fusarium* sp. D₄, *Fusarium* sp. CH₁₂, *Aspergillus* sp. BB₄, *Trichoderma* sp. SC-21, *Trichoderma* sp. CT₂₆, *Trichoderma* sp. SC-23, *Paecilomyces* sp. S1-11 และ *Trichoderma* sp. CK₂₀ เท่ากับ 36.22, 31.50, 24.99, 24.74, 22.95, 22.09, 21.80, 21.38, 21.12 และ 20.40 milliunit/ml (mU/ml) ตามลำดับ และค่า specific activity เท่ากับ 134.14, 53.38, 89.25, 77.30, 25.78, 19.49, 33.03, 19.26, 23.73 และ 28.33 milliunit/mg protein (mU/mg protein) ตามลำดับ

Thesis Title Inhibitory Effect of Culture Filtrate of Chitinase Producing Mold on *Cladosporium* sp., *Fusarium* sp. and *Lasiodiplodia* sp.

Author Ms. Sirilak Charoenrat

M.S. Biology

Examining Committee

Assistant Professor Abhinya Plikomol	Chairman
Associate Professor Wanchai Sonthichai	Member
Assistant Professor Dr. Vicha Sardud	Member

Abstract

The inhibitory effect of culture filtrate from 165 isolates of chitinase producing molds on *Cladosporium* sp., *Fusarium* sp. and *Lasiodiplodia* sp. were investigated. Each isolate was cultivated in enzyme production medium containing colloidal chitin as carbon source and shook at room temperature for 7 days. The culture filtrate was collected as the cell free supernatant. Culture filtrate of each isolate was tested for inhibitory effect by cylinder plate method. It was found that the culture filtrates of *Trichoderma* sp. CK₂₀, *Trichoderma* sp. SC-23, *Basipetospora* sp. CK₃₀, *Aspergillus* sp. BB₄, *Fusarium* sp. D₄, *Trichoderma* sp. CT₂₆, *Fusarium* sp. CH₁₂, *Trichoderma* sp. SC-21 and *Paecilomyces* sp. S1-11 inhibited the growth of *Cladosporium* sp. giving clear zone of diameters 26.3, 16.7, 12.7, 12.3, 12.0, 10.3, 10.3, 9.3 and 9.3 mm, respectively. *Alternaria* sp. P₂₁ inhibited the growth of *Fusarium* sp. giving a clear zone of diameter 16.7 mm. *Trichoderma* sp. CT₂₆, *Trichoderma* sp. CK₂₀, and *Trichoderma* sp. SC-21 inhibited *Lasiodiplodia* sp. giving clear zone of diameters 26.0, 20.7 and 11.0 mm, respectively. The antagonistic effect between 165 isolates of chitinase producing molds on *Cladosporium* sp., *Fusarium* sp. and *Lasiodiplodia* sp. were investigated. It was found that 39 isolates of chitinase producing molds were the antagonist to *Cladosporium* sp..

Ten isolates antagonized to *Fusarium* sp. and 45 isolates antagonized to *Lasiodiplodia* sp.. The inhibitory effect of the culture filtrate of 10 isolates of chitinase producing molds which inhibited the test organisms by using cylinder plate method were tested by poisonous food technique. It was found that *Cladosporium* sp. was inhibited by using *Aspergillus* sp. BB₄, *Trichoderma* sp. CK₂₀, *Trichoderma* sp. CT₂₆, *Fusarium* sp. D₄, *Paecilomyces* sp. S1-11, and *Trichoderma* sp. SC-23 for 36.36%, 30.3%, 18.18%, 15.15%, 15.15% and 12.12%, respectively. *Fusarium* sp. was inhibited by *Alternaria* P₂₁, *Trichoderma* sp. CT₂₆, *Trichoderma* sp. SC-21, *Aspergillus* sp. BB₄, *Trichoderma* sp. CK₂₀, *Trichoderma* sp. SC-23, *Basipetospora* sp. CK₃₀ and *Paecilomyces* sp. S1-11 for 25%, 22%, 19%, 16%, 16%, 13%, 10% and 10%, respectively. *Lasiodiplodia* sp. was inhibited by *Trichoderma* sp. SC-21 and *Trichoderma* sp. SC-23 26.67% and 13.3%, respectively.

The culture filtrate of 10 isolates were assayed for chitinase activities. The enzyme activities of *Alternaria* sp. P₂₁, *Basipetospora* sp. CK₃₀, *Fusarium* sp. D₄, *Fusarium* sp. CH₁₂, *Aspergillus* sp. BB₄, *Trichoderma* sp. SC-21, *Trichoderma* sp. CT₂₆, *Trichoderma* sp. SC-23, *Paecilomyces* sp. S1-11 and *Trichoderma* sp. CK₂₀ were 36.22, 31.50, 24.99, 24.74, 22.95, 22.09, 21.80, 21.38, 21.12 and 20.40 milliunit/ml (mU/ml), respectively. The specific activities were 134.14, 53.38, 89.25, 77.30, 25.78, 19.49, 33.03, 19.26, 23.73 and 28.33 milliunit/mg protein (mU/mg protein), respectively.