ศึกษาการคัดแยกและจำแนกชนิดเชื้อราบนไม้ไผ่แปรรูป

STUDY OF SEPARATION AND CLASSIFICATION OF FUNGAL ON PROCESSED BAMBOO

สุทัตตา บุญนำ[1] วิทยา เขาหนองบัว[2] ปิยนุช ใจแก้ว[1] และ ศุภชัย สินถาวร[1*]

[1]สาขาวิชาวิศวกรรมโยธาและสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ จ.นครนายก
[2] ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี กรุงเทพมหานคร
*Corresponding author; E-mail address: piyanuchj@g.swu.ac.th

บทคัดย่อ

ไม้ไผ่เป็นทรัพยากรธรรมชาติที่มีคุณสมบัติหลากหลาย นิยมใช้ในงานก่อสร้างและแปรรูป แต่มีปัญหาด้านความทนทานเนื่องจากมีแป้งสูงถึง 50% ซึ่งเอื้อต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา ทำให้อายุการใช้งานสั้นลงและเสี่ยงต่อความเสียหายของโครงสร้าง โดยเฉพาะไม้ที่อาจสูญเสียความแข็งแรงถึง 50-80% หากไม่จัดการอย่างเหมาะสม ส่วนโครงสร้างเหล็กหรือคอนกรีตจะได้รับผลกระทบจากความชื้นที่เชื้อราก่อขึ้น การศึกษานี้จำแนกชนิดของเชื้อราที่ทำลายไม้ไผ่พันธุ์ซางหม่น ผ่านการเก็บตัวอย่างด้วยวิธี Swab Test และเพาะเลี้ยงบนอาหาร PDA ก่อนศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ผลพบเชื้อรา 2 ชนิด คือเชื้อราที่มีความคล้ายคลึงกับเชื้อรา *Chaetomium spp.* และ *Trichoderma sp.* ความเข้าใจนี้มีความสำคัญต่อการพัฒนาวิธีป้องกันหรือกำจัดเชื้อราในอุตสาหกรรมไม้ไผ่แปรรูป

คำสำคัญ: *Chaetomium spp.*, *Trichoderma sp.*, เชื้อราที่ทำลายไม้ไผ่, ลักษณะสัณฐานวิทยา

Abstract

Bamboo is a natural resource with diverse properties, commonly used in construction and processing industries. However, it faces durability issues due to its high starch content, up to 50%, which promotes fungal growth. This shortens the lifespan of bamboo products and poses a risk to structural integrity, especially for wood that can lose 50–80% of its strength if not properly managed. Metal or concrete structures are also affected by moisture induced by fungal growth, although to a lesser extent. This study aimed to identify fungal species causing deterioration of Dendrocalamus sericeus (Sang Mon bamboo) by collecting samples using the swab test method and culturing them on PDA (Potato Dextrose Agar) medium, followed by morphological examination under a microscope. The results revealed the presence of fungi resembling Chaetomium spp. and Trichoderma sp. Understanding these fungi is crucial for developing methods to prevent or control fungal damage in the bamboo processing industry.

Keywords: Chaetomium spp., Trichoderma sp., bamboo-degrading fungi, morphological characteristics

1. ที่มาและความสำคัญ

การใช้ไม้ไผ่ซางหม่นในงานก่อสร้างและงานแปรรูปไผ่ซางหม่นเป็นไผ่สายพันธุ์พื้นเมืองที่พบมากในพื้นที่ภาคเหนือ ด้วยลักษณะพิเศษที่เจริญเติบโตได้เร็วลำต้นมีขนาดใหญ่สม่ำเสมอตรงตามธรรมชาติ แข็งแรง เนื้อไม้หนา กิ่งแขนงน้อย สูงประมาณ 25-30 เมตร สามารถใช้ประโยชน์ได้ตลอดทั้งลำในการแปรรูป ทำให้ไผ่ซางหม่นกลายเป็นที่ต้องการของตลาดขายได้ราคาดี ไม้ไผ่คุณภาพดี จนเป็นที่ขนานนามว่า “เพชรแห่งล้านนา” [1] ไม้ไผ่ซางหม่นมีจุดด้อยสำคัญคือความไวต่อการถูกโจมตีของเชื้อรา เนื่องจากมีปริมาณแป้งสูงในเนื้อไม้ ซึ่งเป็นแหล่งอาหารสำคัญสำหรับเชื้อรา ผลการศึกษาพบว่าเชื้อราที่ทำลายไม้ไผ่ไม่เพียงแต่ทำให้คุณภาพของวัสดุเสื่อมสภาพลง แต่ยังส่งผลต่อความปลอดภัยของงานก่อสร้างด้วย ในแง่ของอุตสาหกรรมชีวภาพ การศึกษาศักยภาพของเชื้อราในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสมีความสำคัญเนื่องจากเอนไซม์เซลลูเลสมีความสามารถในการย่อยสลายเซลลูโลสในไม้ไผ่ได้ ซึ่งสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในกระบวนการผลิตพลังงานชีวภาพ หมักชีวภาพ และการผลิตปุ๋ยชีวภาพจากของเสียทางการเกษตรได้ [2] วัตถุประสงค์ในการวิจัยในครั้งนี้คือ การสำรวจและจำแนกเชื้อราที่เป็นสาเหตุหลักของการลดทอนคุณภาพไม้ไผ่ ซึ่งเป็นการช่วยให้สามารถพัฒนาวิธีการป้องกันหรือรักษาความทนทานของวัสดุก่อสร้างได้และการพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ โดยการศึกษาศักยภาพของเชื้อราในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลส ซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญในการแปรรูปของเสียทางการเกษตรให้เกิดมูลค่าเพิ่มและลดปัญหาสิ่งแวดล้อม การวิจัยนี้สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมที่เกี่ยวข้อง เพื่อเพิ่มมูลค่าทางเศรษฐกิจและความยั่งยืนในการพัฒนาในอนาคต

2. ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง

การเสื่อมคุณภาพของไม้ไผ่เนื่องจากการเกิดเชื้อราเป็นปัญหาสำคัญที่ส่งผลต่อความทนทานและอายุการใช้งานของไม้ไผ่ สาเหตุหลักมาจากปัจจัย เช่นความชื้นสูงเนื่องจากเชื้อราเจริญเติบโตได้ดีในสภาพแวดล้อมที่มีความชื้นสูง หากไม้ไผ่อยู่ในพื้นที่ที่มีความชื้นมากหรือมีการระบายอากาศไม่เพียงพอ จะเพิ่มความเสี่ยงต่อการเกิดเชื้อรา [3] อุณหภูมิที่เหมาะสมเช่น อุณหภูมิที่อบอุ่นร่วมกับความชื้นสูงเป็นสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตของเชื้อรา การระบายอากาศไม่เพียงพอหากพื้นที่ที่มีการระบายอากาศไม่ดีจะทำให้ความชื้นสะสม ส่งเสริมการเจริญเติบโตของเชื้อราสร้างความเสียหายทางกายภาพ เช่น รอยแตกหรือบาดแผลบนพื้นผิวของไม้ไผ่เป็นช่องทางให้เชื้อราเข้าสู่เนื้อไม้ได้ง่ายขึ้น

ไม้ไผ่แปรรูปเป็นวัสดุชีวภาพที่สามารถเกิดการเสื่อมสภาพจากเชื้อราได้ง่าย โดยเชื้อราสามารถลดความแข็งแรงของไม้ไผ่ได้ผ่านกลไกดังต่อไปนี้ การย่อยสลายโครงสร้างเซลลูโลสและลิกนิน เชื้อราในกลุ่ม Basidiomycetes และ Ascomycetes เช่น Trametes versicolor และ Aspergillus sp. สามารถผลิตเอนไซม์ที่ย่อยสลายเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน ซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักของผนังเซลล์ไม้ไผ่ ทำให้วัสดุมีความแข็งแรงลดลงและเกิดการผุพัง การสร้างสารพิษและกรดอินทรีย์ เชื้อราเช่น Fusarium sp. และ Penicillium sp. สามารถสร้างสารพิษ (mycotoxins) และกรดอินทรีย์ที่ทำให้โครงสร้างไม้ไผ่เสียหาย โดยเฉพาะในสภาพแวดล้อมที่มีความชื้นสูง สารเหล่านี้สามารถเร่งการสลายตัวของไม้ไผ่ ทำให้เกิดรอยแตกร้าวและลดความแข็งแรงเชิงกล และการดูดซับความชื้นและทำให้ไม้ไผ่เปราะ เชื้อราในกลุ่ม Mold fungi เช่น *Aspergillus* niger และ *Cladosporium* sp. สามารถดูดซับความชื้นเข้าสู่เนื้อไม้ ทำให้ไม้ไผ่เกิดอาการบวมและเปราะง่ายเมื่อแห้งตัว ส่งผลให้วัสดุสูญเสียความสามารถในการรับแรงดัดงอและแรงกด [4]

จะเห็นได้ว่าเชื้อราส่งผลกระทบอย่างมากต่อความเสียหายหลังจากพบการเข้าทำลายไม้ไผ่จากเชื้อรา เนื่องจากเชื้อราบางชนิดสามารถผลิตเอมไซน์เซลลูเลส เพื่อเข้าย่อยสลายเซลลูโลสในเนื้อไม้ได้เนื่องจากไม้ไผ่มีเซลลูโลสเป็นองค์ประกอบถึง 50% เชื้อราสามารถทำลายโครงสร้างของไม้ไผ่ ทำให้ความแข็งแรงลดลง มีงานวิจัยที่ศึกษาผลกระทบของเชื้อราต่อความแข็งแรงของไม้ไผ่และวิธีการป้องกัน เช่น ศึกษาวิธีการเพิ่มความคงทนของไม้ไผ่สำหรับงานโครงสร้างโดยใช้สารเคมี เช่น การแช่น้ำยาบอริกบอแรกซ์และน้ำยาซีซีบี ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ เพื่อป้องกันการทำลายจากเชื้อรา ผลการวิจัยพบว่าการใช้สารเคมีดังกล่าวสามารถเพิ่มความทนทานของไม้ไผ่ต่อเชื้อราและแมลงได้อย่างมีประสิทธิภาพ [5] และ ศัตรูที่เข้าทำลายไม้มีหลายจำพวก แยกออกเป็นจำพวกใหญ่ ๆ ได้ดังนี้ เชื้อรา แมลง และเพรียงโดยเชื้อราจัดเป็นยูคาริโอตที่ไม่มีคลอโรฟิลล์ สร้างอาหารเองไม่ได้ ส่วนใหญ่ดำรงชีวิตโดยการย่อยสลายสารอินทรีย์ที่เน่าเปื่อยให้เป็นโมเลกุลที่เล็กลงแล้วดูดซึมเข้าสู่ร่างกาย ราส่วนใหญ่เป็นตัวต้องการอากาศ (aerobe microorganism) อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตคือ 20-30 °C ส่วนพวกที่ก่อให้เกิดโรคสามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิ 30-37 °C

2.2 การจำแนกชนิดและเก็บรักษาสายพันธุ์บริสุทธิ์

2.2.1 การจำแนกเชื้อรา

สามารถทำได้โดยการนำเชื้อราที่แยกได้มาเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PAD (potato dextrose agar) บ่มที่อุณหภูมิ 28°C เป็นระยะเวลา 7-14 หรือ 1-2 สัปดาห์บันทึกลักษณะโคโลนี เช่น สี และอัตราการเจริญเติบโตบนอาหารเลี้ยงเชื้อ ถ่ายภาพโคโลนีเมื่ออายุครบ 7 วัน รวบรวมข้อมูลลักษณะทางสัณฐานวิทยาเพื่อนำมาประกอบการจัดจำแนกโดยเปรียบเทียบกับข้อมูลที่มีผู้ศึกษามาก่อนหน้านี้ [6] โดยใช้ลักษณะการสร้างสปอร์เป็นเกณฑ์ในการจัดจำแนกเชื้อราแบ่งออกเป็น 4 ไฟลัม ดังนี้

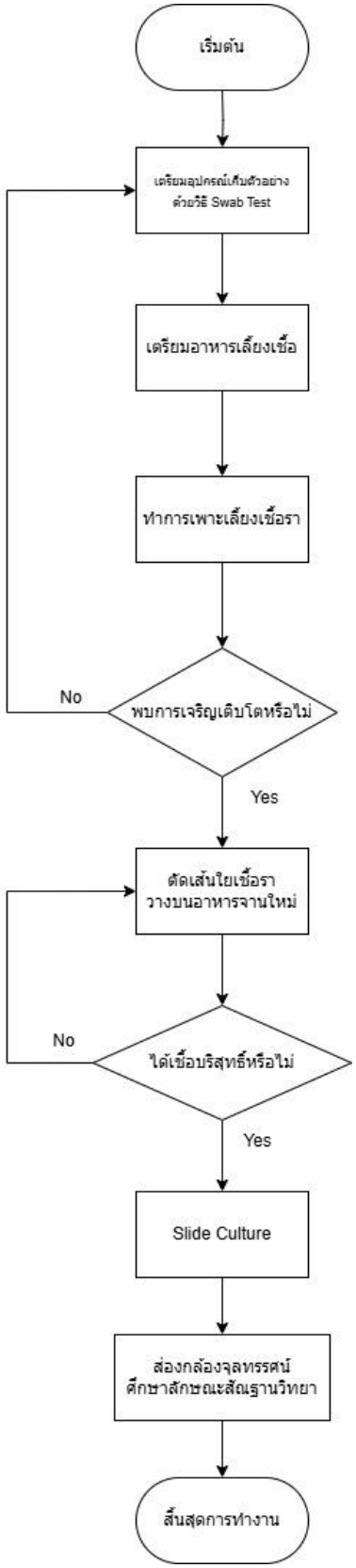
1) Chytridiomycota หรือไคทริด ส่วนใหญ่อาศัยอยู่ในน้ำจึงเรียกว่าราน้ำ มักอยู่ร่วมกันกับสาหร่าย จัดเป็นราที่โบราณที่สุด พบตามพืชน้ำที่ตายแล้ว หรือตามเศษหินเศษทรายในน้ำ เป็นปรสิตในพืชน้ำและสัตว์ เช่น *Batrachochytrium* เป็นปรสิตในกบ มักสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ และไม่อาศัยเพศ โดยการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ และสร้างสปอร์ที่มีระยางค์ (flagella)

2) Zygomycota เป็นไฟลัมหนึ่งของเชื้อรา เป็นราที่มีวิวัฒนาการต่ำที่สุด อาศัยอยู่บนดิน เช่น ราดำบางชนิดก่อให้เกิดโรคราสนิม บางชนิดใช้ผลิตกรดฟูมาลิก *(Rhizopus nigricans)* มีการสร้างไซโกสปอร์จากเซลล์ใหม่ที่เกิดจากการปฏิสนธิ ตัวอย่างเช่น ราขนมปัง เมื่อสายของราที่ต่างกันมาพบกัน จะเกิดการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ มีการรวมของนิวเคลียสได้เป็นไซโกสปอร์ (2n) ส่วนที่เป็นไซโกสปอร์นี้จะเป็นระยะฝักของรา มีผนังหนาเป็นสีดำ เมื่อสภาวะเหมาะสมไซโกสปอร์จะงอก และสร้างส่วนที่เรียกว่าสปอแรงเกีย (sporangia) ซึ่งจะเกิดการแบ่งตัวแบบไมโอซิส สร้างสปอร์ที่เป็น n เมื่อสปอร์นี้งอกจะได้เส้นใยที่มีนิวเคลียสเป็นแฮพลอยด์ เส้นใยไม่มีผนังกั้น

3) Ascomycota หรือราถุงเป็นเชื้อราที่พบมากที่สุด เซลล์เดียวได้แก่ ยีสต์ นอกนั้นเป็นพวกมีเส้นใยมีผนังกั้น โดยส่วนใหญ่พวกหลายเซลล์ในกลุ่มนี้ เป็นเห็ดที่มีลักษณะเป็นรูปถ้วย ดำรงชีวิตอยู่บนบก เป็นฟังไจที่มีจำนวนมากที่สุด การสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ สร้างสปอร์ที่เรียกว่า Conidia ที่ปลายไฮฟา ส่วนยีสต์จะแตกหน่อ แบบอาศัยเพศ สร้างสปอร์ที่มีชื่อว่า Ascospore อยู่ในถุงเรียกว่า Ascus

4) Basidiomycota หรือเชื้อรากลุ่มสร้างสปอร์ที่ก้านฐาน สร้างเซลล์สืบพันธุ์ บนอวัยวะที่คล้ายกระบอง(basidium) ภายในมี Basidiospore เป็นราที่ผลิตเบสิดิโอสปอร์ (basidiospore) ซึ่งจะงอกเป็นสายที่เป็นแฮพลอยด์ เรียก primary mycelium จากนั้นผนังของไมซีเลียมจะมารวมกันได้เป็นเซลล์ที่มีนิวเคลียสสองอัน แต่ละอันเป็น n เรียกว่าไดคาริโอต (dikaryote) เส้นใยที่เป็นไดคาริโอตนี้จะรวมกันเป็นโครงสร้างที่สร้างเซลล์สืบพันธุ์หรือ tertiary mycelium ซึ่งเป็นส่วนที่เรียกว่าดอกเห็ด เมื่อจะมีการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ แกนกลางของเซลล์ทั้งสองอันรวมเข้าเป็น 2n จากนั้นจึงแบ่งเซลล์แบบไมโอซิสเพื่อสร้างสปอร์อีก ส่วนใหญ่เป็นเห็ดทั้งที่กินได้และเป็นพิษสามารถกินได้ เช่น เห็ดหอม เห็ดนางฟ้า เป็นต้น

3. วิธีการดำเนินงาน



รูปที่ 1 แผนผังขั้นตอนการดำเนินงาน

3.1 ขั้นตอนการดำเนินการ

การศึกษานี้เป็นการศึกษาเชื้อราที่เข้าทำลายไม้ไผ่แปรรูปจากไม้ไผ่ซางหม่นโดยเก็บตัวอย่างจากสาขาวิศวกรรมโยธาและสิ่งแวดล้อม

3.2 การกำหนดพื้นที่ศึกษา

ในการกำหนดพื้นที่ในการศึกษาครั้งนี้จะกำหนดพื้นที่ที่ทำการเก็บตัวอย่างเป็นไม้ไผ่แปรรูปที่วางอยู่บริเวณสาขาวิศวกรรมโยธาและสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ เนื่องจากมีไม้ไผ่แปรรูปที่ถูกเข้าทำลายโดยเชื้อราวางอยู่ที่บริเวณห้องปฏิบัติการคอนกรีต ผู้จัดทำจึงมีความสนใจอยากทราบชนิดของเชื้อราที่เข้าทำลายไม้ไผ่แปรรูป

3.3 กลุ่มเป้าหมายและพารามิเตอร์ในการตรวจวัด

พารามิเตอร์ของการศึกษาในครั้งนี้ คือ

3.3.1 ลักษณะทางกายภาพและสัณฐานวิทยา (morphological characteristics) สีของโคโลนี รูปร่าง พื้นผิวของโคโลนี ขนาดและลักษณะของสปอร์

3.4 วิธีการศึกษา

3.4.1 วิธีการคัดแยกและจำแนกชนิดเชื้อรา

เป็นวิธีการป้องกันไม่ให้เชื้อภายนอกเข้ามาปนเปื้อน (contaminate) ในระหว่างการปฏิบัติงานต่างๆ เช่นการเขี่ยเชื้อ การบรรจุอาหารลงในจานเพาะเชื้อ การแยกเชื้อให้บริสุทธิ์อาศัยวิธี Aseptic technique มีวิธีการดังต่อไปนี้

1) เข็มเขี่ยเชื้อและแท่งแก้วสามเหลี่ยม (needle and spreader) ก่อนและหลังเขี่ยเชื้อต้องลนไฟจนลวดร้อนแดง ก่อนทำการ Spread plate ต้องชุบ Ethanol 95% แล้วนำไปลนไฟก่อนเริ่มการทำงาน เมื่อลนไฟแล้วควรทิ้งไว้ให้เย็นก่อนนำไปปฏิบัติงานมิฉะนั้นเชื้ออาจตายได้เนื่องจากโดนความร้อน

2) หลอดและขวดที่ใช้เลี้ยงเชื้อ เมื่อจะทำการถ่ายเชื้อหรือเขี่ยเชื้อให้ลนไฟปากหลอดหรือขวดก่อนทุกครั้ง เพื่อลดการ Contaminate

3) ปิเปต กรณีใช้ปิเปตแก้วจะใส่ในกระบอกปิเปต โดยนำปลายที่ดูดไว้ด้านปากกระบอกใส่ปิเปต แล้วนำไปอบฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 180°C เป็นเวลาอย่างน้อย 2 ชั่วโมง เมื่อต้องการใช้ควรลนไฟที่ฝากระบอกก่อนเปิดใช้งาน เมื่อเปิดฝาออกมาแล้วให้วางนอนบนโต๊ะให้ขอบยื่นพ้นขอบโต๊ะ เมื่อเลิกใช้แล้วก่อนปิดฝากล่องลนไฟปลายปิเปตที่เหลือและปากกระบอก

3.4.2.วิธีการแยกเชื้อให้บริสุทธิ์

ทำการเจือจางโดยใช้ตัวทำเจือจางลำดับส่วน (diluent) โดยมีการใช้น้ำเกลือ (normal saline solution, NSS) ใช้ปริมาตร 90 ml ผสมกับตัวอย่างเชื้อ 10 g จะได้ระดับความเจือจางที่ 10^{-1} จากนั้นดูดสารละลายจากหลอดขั้นต้น 1 ml ใส่หลอดถัดไปซึ่งมีตัวเจือจางอยู่ 9 ml จะได้ระดับความเจือจางที่ 10^{-2} ทำเช่นนี้ไปเรื่อย ๆ จนได้ระดับความเจือจางที่ต้องการ เรียกว่าการเจือจาง 10 เท่า (tenfold dilution) นำระดับความเจือจางที่ต้องการมาทำให้เชื้อกระจาย (spread plate) โดยดูดเชื้อปริมาณ 0.5 ml

ใส่ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดแข็ง ที่มีการเติม Chloramphenicol ระดับความเข้มข้น 10,000 ไมโครกรัม จำนวน 10 ml ในอาหาร 1 ลิตร เพื่อยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย ทำการเกลี่ยเชื้อให้กระจายไปทั่วจานอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยใช้แท่งแก้วรูปสามเหลี่ยม (glass spreader) บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้อง (30°C – 3°C) เป็นระยะเวลา 3-7 วัน เมื่อพบการเจริญเติบโตของเชื้อราทำการสะกิดเส้นใยเชื้อราไปเพาะเลี้ยงบนจานอาหารใหม่ เพื่อให้ได้เชื้อบริสุทธิ์

3.4.3.เทคนิคการทำ Slide Culture

1) จัดชุดเพาะเลี้ยงเชื้อบนแผ่นสไลด์ (slide culture) ซึ่งประกอบด้วย จานอาหารเลี้ยงเชื้อ สไลด์พาดอยู่บนแท่งแก้วรูปตัววี coverslip โดยอุปกรณ์ทั้งหมดต้องผ่านกระบวนการทำให้ปราศจากเชื้อแล้ว

2) ตัดอาหาร PDA (potato dextrose agar) ให้เป็นสี่เหลี่ยมขนาด กว้าง x ยาว ประมาณ 1X1 เซนติเมตร นำไปวางลงบนกลางสไลด์

3) ใช้เข็มเขี่ยเชื้อ (needle) เขี่ยโคโลนีของเชื้อมาป้ายทั้ง 4 ด้านของอาหารเลี้ยงเชื้อ

4) นำปากคีบ (forceps) เผาไฟ ทิ้งไว้ให้เย็น จากนั้นใช้ Forceps คีบ Sterile Coverslip วางทับบนวุ้นสี่เหลี่ยมที่แตะเชื้อไว้แล้ว

5) เติมน้ำกลั่นปราศจากเชื้อลงไป ปิดฝาจานอาหารเลี้ยงเชื้อนำไปบ่มอุณหภูมิห้อง ระยะเวลา 3-7 วัน

6) เมื่อเชื้อขึ้นและเจริญเต็มที่แล้ว นำ ปากคีบ (forceps) ที่เผาไฟแล้ว คีบกระจกปิดสไลด์ (coverslip) ออกมา นำ 95% แอลกอฮอล์ราดที่ กระจกปิดสไลด์ (coverslip) เพื่อล้างเศษวุ้นออก นำไปวางเอียงบนฝาจานอาหารเลี้ยงเชื้อ ทิ้งไว้ให้แห้ง

7) นำปากคีบ (forceps) ที่เผาไฟแล้ว คีบวุ้นออกจากสไลด์ นำ 95% แอลกอฮอล์ราดบริเวณสไลด์ ทิ้งไว้ให้แห้ง (หรือหากส่องสไลด์แผ่นแรกที่ได้จาก กระจกปิดสไลด์ (coverslip) แล้ว เชื้อยังเจริญไม่เต็มที่ก็สามารถเลี้ยงเชื้อในวุ้นที่อยู่ในสไลด์ต่อได้

8) หยดสี (lactophenol cotton blue) 1 หยดบนสไลด์แผ่นใหม่ นำ Coverslip ที่มีเชื้อราวางลงไป หยดสี Lactophenol Cotton Blue และนำ Cover slip แผ่นใหม่มาวางทับลงไป

9) หยดสี (lactophenol cotton blue) ลงบนสไลด์ที่มีเชื้ออยู่ นำ Coverslip แผ่นใหม่มาวางทับ ระวังฟองอากาศ

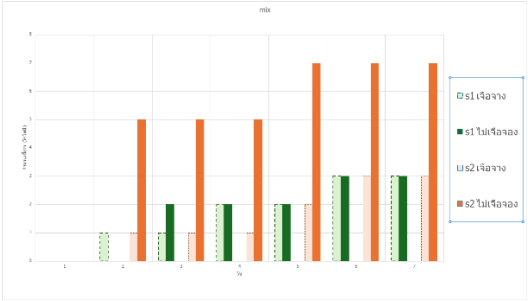
10) นำตัวอย่างไปส่องดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์

3.4.4 การจำแนกชนิดของเชื้อรา

เมื่อเชื้อรามีการเจริญเติบโตและมีลักษณะโคโลนีที่เด่นชัด ทำการบันทึกภาพ บันทึกลักษณะ และทำ slide culture เพื่อดูลักษณะทางสัณฐานวิทยาแล้วนำไปเปรียบเทียบขนาดและลักษณะทางสัณฐานวิทยากับคู่มือจำแนกชนิดของเชื้อรา Compendium of Soil Fungi Volume I [6] และ Illustrated Genera of Imperfect Fungi [7]

4. ผลการวิจัย

จากการเก็บตัวอย่างด้วยวิธีการ Swab Test แล้วนำมาเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA (potato dextrose agar) โดยในการเลี้ยงเชื้อราแบ่งเป็น 2 วิธีในการทำคือแบบที่ทำการเจือจาง และแบบที่ไม่ทำการเจือจาง ติดตามผลการเจริญเติบโตเป็นระยะเวลา 7 วันได้ผลดัง**รูปที่ 2**



รูปที่ 2 จำนวนโคโลนีเชื้อราใน 7 วัน

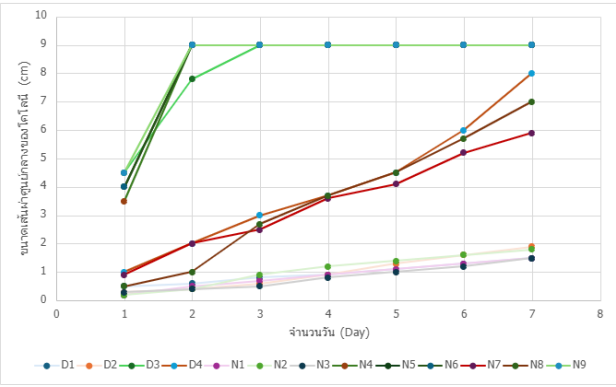
จาก**รูปที่ 2** ได้ผลว่าเชื้อรา s1 วันที่ 2: พบการเจริญของตัวอย่างที่1แบบเจือจางเท่านั้น (เขียวอ่อน) ยังไม่พบ ตัวอย่างที่1แบบไม่เจือจาง (เขียวเข้ม) เนื่องจากอาจต้องใช้เวลาฟักตัว

วันที่ 3 : มีการเจริญเติบโตของตัวอย่าง S1แบบไม่เจือจางเป็น 2 โคโลนี

วันที่ 4-5: ทั้งเจือจางและไม่เจือจางมีจำนวนโคโลนี = 2 โคโลนี แสดงว่าเริ่มมีการเจริญเติบโตและคงที่ในช่วงนี้

วันที่ 6–7: จำนวนโคโลนีเพิ่มขึ้นเป็น 3 (ทั้ง เจือจางและไม่เจือจาง) แสดงให้ทราบว่าทั้งแบบเจือจางและไม่เจือจางมีการเจริญเติบโตใกล้เคียงกัน เชื้อราบนไม้ตัวอย่าง S1 นี้สามารถเติบโตได้ดีแม้ความเข้มข้นเชื้อเริ่มต้นต่ำ และการเจือจางไม่ได้ส่งผลลบ

เชื้อรา s2: ทุกวัน (วันที่ 1–7): ตัวอย่างที่2ไม่เจือจาง (ส้ม) มีจำนวนโคโลนีสูง เริ่มตั้งแต่ 5 และเพิ่มขึ้นถึง 7 ตัวอย่างที่2แบบเจือจาง(ส้มลาย) มีโคโลนีคงที่ที่ 1 โคโลนี ตั้งแต่วันที่2จนถึงวันที่4 หลังจากนั้นเพิ่มขึ้นวันละ 1 โคโลนี จนวันที่ 7 โคโลนีคงที่ ทำให้ทราบว่าการเจือจางส่งผลกระทบชัดเจน ทำให้จำนวนโคโลนีเพิ่มขึ้นน้อย ไม้ตัวอย่างที่ S2 มีความไวต่อความเข้มข้นของเชื้อเริ่มต้น ต้องการความเข้มข้นสูงจึงจะเจริญเติบโตได้ดี และทำการวัดการเจริญเติบโตเป็นระยะเวลา 7 วันได้ผลดังนี้



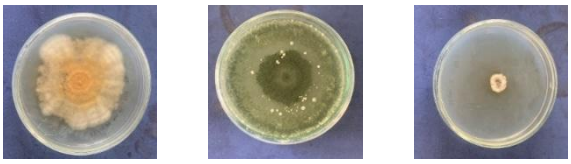
รูปที่ 3 ผลการเจริญเติบโตของเชื้อราหลังจากแยกเชื้อบริสุทธิ์

จากข้อมูลใน**รูปที่ 3** ที่แสดงอัตราการเจริญเติบโตของเชื้อราที่ 7 วัน (หน่วยเป็นเซนติเมตร) โดยรหัสไอโซเลต N มาจากเชื้อที่ไม่ทำการเจือจางลำดับส่วน (non dilution) และ D มาจากการเจือจางลำดับส่วน (dilution) จะเห็นได้ว่ามีความแตกต่างของอัตราการเจริญเติบโตอย่างชัดเจนในแต่ละไอโซเลท กลุ่มที่มีอัตราการเจริญเติบโตต่ำ (ประมาณ 0.9–2.0 cm): ได้แก่ รหัส N1, N2, D1, D2, D3, N3, D4, N4 ซึ่งมีค่าเฉลี่ยราว 1–2 cm กลุ่มที่มีอัตราการเจริญเติบโตสูงมาก (ประมาณ 9–12 cm): ได้แก่ รหัส N5, N6, N7, N8 ซึ่งมีอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยราว 10 cm ขึ้นไป กลุ่มค่ากลาง: รหัส N9 (9 cm) ที่มีอัตราการเจริญเติบโตอยู่ระหว่างสองกลุ่มข้างต้นคือรหัส N7 (5.9 cm) ความแตกต่างที่เห็นได้ชัดเจนนี้อาจมาจากหลายปัจจัย เช่น ชนิดหรือสายพันธุ์ของเชื้อรา แต่ละสายพันธุ์อาจมีศักยภาพในการขยายเส้นใย (mycelial growth) แตกต่างกัน ระยะการเจริญเติบโต บางตัวอย่างอาจอยู่ในระยะที่พร้อมขยายตัวได้เร็วกว่า ขณะที่บางตัวอย่างยังอยู่ในช่วงปรับตัวการที่เชื้อรามีอัตราการเจริญเติบโตมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับชนิดของเชื้อรา โดยทั่วไปแล้ว เชื้อราอาจใช้เวลาตั้งแต่ไม่กี่ วันจนถึงหลายสัปดาห์ในการสร้างสปอร์ ในการวัดอัตราการเจริญเติบโตของเชื้อรามีความสำคัญในหลายด้านตัวอย่างเช่น การควบคุมเชื้อราที่ก่อโรคเชื้อราบางชนิดเป็นสาเหตุของโรคในพืช สัตว์ และมนุษย์ การวัดอัตราการเจริญเติบโตช่วยประเมินการแพร่กระจายและการติดเชื้อ ทำให้สามารถวางแผนการควบคุมหรือป้องกันได้อย่างมีประสิทธิภาพและในด้าน การศึกษาด้านสิ่งแวดล้อม เชื้อรามีบทบาทสำคัญในกระบวนการย่อยสลายอินทรียวัตถุในธรรมชาติ การวัดอัตราการเจริญเติบโตช่วยให้เข้าใจการทำงานของเชื้อราในระบบนิเวศ เช่น การย่อยสลายเศษพืช หรือการช่วยฟื้นฟูดินในระบบเกษตรกรรม โดยเชื้อราที่มีอัตราการเจริญเติบโตสูง หมายถึงเชื้อราที่สามารถเพิ่มจำนวนหรือขยายตัวได้อย่างรวดเร็วเมื่ออยู่ในสภาพแวดล้อมที่เหมาะสม เช่น ในที่ที่มีความชื้น อุณหภูมิ และสารอาหารเพียงพอ โดยอัตราการเจริญเติบโตสูงบ่งบอกว่าเชื้อราสามารถสร้างเซลล์ใหม่หรือขยายโครงสร้าง เช่น ไฮฟา (hyphae) หรือไมซีเลียม (mycelium) ได้รวดเร็วภายในเวลาสั้น ๆ ผลที่เกิดจากเชื้อราที่มีอัตราการเจริญเติบโตสูง ตัวอย่างเช่น เชื้อราที่มีอัตราการเจริญเติบโตสูงสามารถแพร่กระจายไปยังพื้นที่ใหม่ ๆ ได้อย่างรวดเร็ว ซึ่งอาจก่อให้เกิดปัญหาในหลายด้าน ในพื้นที่เกษตรกรรม อาหาร หรือบ้านเรือน และเชื้อราบางชนิดที่เติบโตเร็วอาจก่อให้เกิดการติดเชื้อในมนุษย์ สัตว์ หรือพืชได้อย่างรวดเร็วและอาจทำให้โรคลุกลามหรือติดเชื้อได้ง่ายขึ้น เช่น เชื้อ *Aspergillus sp.* ซึ่งเป็นเชื้อราที่มีการเจริญเติบโตเร็วและสามารถก่อให้เกิดโรคในมนุษย์ในบางกรณี เชื้อราที่เติบโตเร็วอาจใช้เป็นประโยชน์ในอุตสาหกรรมได้ เช่น การผลิตเอนไซม์ ยาปฏิชีวนะ หรือสารเคมีอื่น ๆ การเจริญเติบโตที่รวดเร็วทำให้สามารถผลิตสารเหล่านี้ได้ในปริมาณมากและเวลาน้อยลง สุดท้ายเชื้อราที่มีการเจริญเติบโตสูงมักจะเป็นปัญหาในการควบคุม โดยเฉพาะในสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมกับการเติบโตของเชื้อ เช่น โรงงานอาหาร โรงพยาบาล หรือสถานที่ที่มีความชื้น การเติบโตเร็วทำให้จำเป็นต้องใช้มาตรการป้องกันที่เข้มงวดขึ้น สรุปข้อมูลของกลุ่มตัวอย่าง D และ N ตามตารางดังต่อไปนี้

ตารางที่ 1 สรุปข้อมูลของกลุ่มตัวอย่าง D และ N

ตัวอย่างไม้	วิธีการไอโซเลท	ผลการไอโซเลท
ตัวอย่างที่ 1	เจือจางลำดับส่วน	D4
ตัวอย่างที่ 1	ไม่เจือจางลำดับส่วน	N1, N2, N3
ตัวอย่างที่ 2	เจือจางลำดับส่วน	D1, D2, D3
ตัวอย่างที่ 2	ไม่เจือจางลำดับส่วน	N4, N5, N6, N7, N8, N9

และเมื่อแยกเชื้อบริสุทธิ์ได้แล้วทำการเพาะเลี้ยงบนแผ่นสไลด์ (slide culture) จากนั้นนำมาส่องกล้องจุลทรรศน์ ได้ผลดัง**รูปที่ 4**



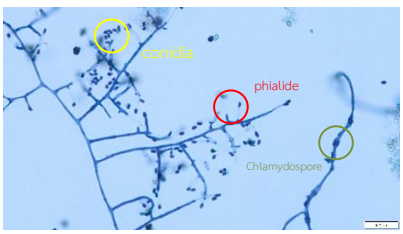
(ก) (ข) (ค)

รูปที่ 4 ตัวอย่างลักษณะโคโลนีของเชื้อราไอโซเลท (ก. D4, ข. N4 , ค. D1)

เชื้อรารหัส D4, N7 และ N8 โคโลนีมีลักษณะสีขาว พื้นผิวเป็นใยและฟูคล้ายปุยฝ้าย การกระจายตัวอย่างสม่ำเสมอ สปอร์มีลักษณะกลมรีเส้นใยมีผนังกั้นเซลล์ พบโครงสร้างของ Perithecium และ Ascomatal hair และ Ascospore ซึ่งมีลักษณะคล้ายคลึงกับเชื้อรา *Chaetomium* spp. ดังแสดงในรูปที่ **รูปที่ 5**

รูปที่ 5 เชื้อราไอโซเลท D4 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

เชื้อรารหัส N4, N5, N6 และ N9 มี ลักษณะโคโลนีสีเขียว พื้นผิวมีลักษณะเป็นผงมีการกระจายตัวอย่างสม่ำเสมอขอบของโคโลนีชัดเจน สปอร์มีลักษณะกลมรีเมื่อมองใต้กล้องจุลทรรศน์จะกระจายตัวกันเป็นกลุ่ม พบ Phialide ซึ่งมีลักษณะคล้ายคลึงกับเชื้อรา Trichoderma sp. ดังแสดงในรูปที่ **รูปที่ 6**



รูปที่ 6 เชื้อราไอโซเลท N4 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

เชื้อรารหัส N1 โคโลนีมีลักษณะสีเทาขอบขาว พื้นผิวนูนขึ้นมาจากผิวอาหารเลี้ยงเชื้อ มีการกระจายตัวกันแบบสม่ำเสมอ ขอบของโคโลนีชัดเจน สปอร์มีลักษณะเป็นทรงกลมมองภายใต้กล้องจุลทรรศน์สปอร์กระจายกันเป็นกลุ่ม เส้นใยมีผนังกั้นเซลล์

เชื้อรารหัส N2 โคโลนีมีลักษณะสีขาวเหลือง พื้นผิวนูนขึ้นมาจากผิวอาหารเลี้ยงเชื้อ มีการกระจายตัวกันแบบไม่สม่ำเสมอ ขอบของโคโลนีชัดเจน สปอร์มีลักษณะเป็นทรงรี มีการเกาะกลุ่มกันบริเวณเส้นใย

เชื้อรารหัส D1 และ D2 โคโลนีมีลักษณะสีขาว พื้นผิวนูนขึ้นมาจากผิวอาหารเลี้ยงเชื้อ มีการกระจายตัวกันแบบไม่สม่ำเสมอขอบของโคโลนีชัดเจน สปอร์มีลักษณะเป็นทรงกลม และพบ Chlamydospore

เชื้อรารหัส D3 โคโลนีมีลักษณะสีน้ำตาล พื้นผิวเป็นเส้นใยฟูเต็มจานเพาะเชื้อ มีการกระจายตัวกันแบบสม่ำเสมอ ขอบของโคโลนีชัดเจน ลักษณะของสปอร์มีผนังหนา

เชื้อรารหัส N3 โคโลนีมีลักษณะสีเขียวเทา พื้นผิวนูนขึ้นมาจากผิวอาหารเลี้ยงเชื้อ มีการกระจายตัวกันแบบสม่ำเสมอ ขอบของโคโลนีชัดเจน สปอร์มีลักษณะเป็นทรงกลมมองภายใต้กล้องจุลทรรศน์สปอร์กระจายกันเป็นกลุ่ม พบ Phialide

นอกจากนี้การเข้าทำลายของเชื้อราอาจทำให้เกิดการสูญเสียน้ำหนักของไม้ไผ่โดยมีการศึกษาเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักของลำไม้ไผ่ที่มีอายุต่างกันภายใต้การทำลายของเชื้อราผุกร่อน และการจัดระดับความต้านทานการผุกร่อน โดยเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักแตกต่างกันไปตามอายุของลำไม้ไผ่และชนิดของเชื้อราโดยทั่วไป ไม้ไผ่ G. scortechinii มีความไวต่อเชื้อราสีน้ำตาล (brown rot fungi) มากกว่าเชื้อราสีขาว (White rot fungi) โดยเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักอยู่ในช่วง 8.90–9.95% สำหรับเชื้อราสีน้ำตาล และ 5.30–9.90% สำหรับเชื้อราสีขาวเพื่อเปรียบเทียบ พบว่าเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักของไม้ไผ่สายพันธุ์อื่นที่ถูกทำลายโดยเชื้อราสีน้ำตาล (coniophora puteana 167) หลังจากสัมผัสเป็นเวลาหนึ่งปี ได้แก่ Bambusa maculata อยู่ในช่วง 2.8–4.2% , G. atroviolacea อยู่ในช่วง 5.2–5.9%, Phyllostachys pubescens อยู่ในช่วง 4.6–4.8% นอกจากนี้ เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักของไม้ไผ่สายพันธุ์อื่นที่ถูกทำลายโดยเชื้อราสีขาว (coriolus versicolor FRI Japan-1030) หลังจากสัมผัสเป็นเวลา 12 สัปดาห์ ได้แก่ B. vulgaris 7.2% , Dendrocalamus asper 15.2% ,G. apus 4.8% ,G. atroviolacea 7.7% , G. pseudoarundinacea 20.7% ข้อมูลเหล่านี้แสดงให้ทราบว่า ความแตกต่างของความต้านทานการผุกร่อนขึ้นอยู่กับชนิดของไม้ไผ่และแหล่งที่มาของเชื้อราและมีการศึกษาการลดลงของความแข็งแรงในการรับแรงอัดของไม้ไผ่ลามิเนต (glubam) ที่ถูกเชื้อรา Aspergillus niger ทำลายโดยทดสอบตัวอย่าง glubam ทั้งแบบแถบหนาและแถบบาง ภายใต้การสัมผัสเชื้อราเป็นเวลา 14 ถึง 56 วัน โดย glubam แถบหนา ที่ผ่านกระบวนการคาร์บอไนเซชันระดับลึก แสดงความต้านทานต่อเชื้อราได้ดีกว่าตัวอย่างที่ผ่านกระบวนการคาร์บอไนเซชันระดับปานกลางและตัวอย่างที่ไม่ผ่านการคาร์บอไนเซชัน glubam แถบบาง ในแนวขนานกับเสี้ยนไม้ไผ่หลัก ยังคงรักษาค่าความแข็งแรงในการรับแรงอัดได้ดี ในขณะที่ตัวอย่างในแนวตั้งฉากกับเสี้ยนไม้ไผ่หลัก มีค่าความแข็งแรงในการรับแรงอัดที่คงที่ตลอดการทดสอบเชื้อรา พบการแยกชั้นของแถบไม้ไผ่ (delamination) ในตัวอย่างทั้งหมด ซึ่งนำไปสู่การแตกเป็นชั้นๆ ของชั้นแถบไม้ไผ่ การสัมผัสเชื้อราทำให้เกิดการรับแรงอัดแบบเยื้องศูนย์ (eccentric compression) เนื่องจากพื้นผิวสัมผัสเชื้อราของชิ้นตัวอย่างมีลักษณะไม่สมมาตร การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่ากระบวนการคาร์บอไนเซชันระดับลึกสามารถปรับปรุงความต้านทานต่อเชื้อราใน glubam แถบหนาได้ ในขณะที่ glubam แถบบางในแนวขนานกับเสี้ยนไม้ไผ่หลัก ยังคงรักษาค่าความแข็งแรงในการรับแรงอัดได้ดี แม้จะถูกเชื้อราทำลาย [11] จากการศึกษาเพิ่มเติมทำให้ทราบว่าเชื้อราบางสายพันธุ์เช่น *Trichoderma spp.* จากข้อมูลที่ทำการสืบค้น การแยกเชื้อรา *Trichoderma* จากดินขุยไผ่ งานวิจัยมีผลว่าเชื้อรา *Trichoderma sp.* ถูกแยกได้จากดินขุยไผ่ บริเวณอุทยานแห่งชาติน้ำตกโยง จังหวัดนครศรีธรรมราช โดยมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อรา *Phytophthora palmivora* (สาเหตุโรครากเน่าของทุเรียน) แต่ไม่พบข้อมูลว่าเชื้อราเหล่านี้ส่งผลต่อโครงสร้างไม้ไผ่ นอกจากนี้เชื้อราชนิดนี้ยังมีการกัดกินเชื้อราอื่น เชื้อรา Trichoderma เป็นเชื้อราที่กินเชื้อราอื่นเป็นอาหาร [11] สอดคล้องกับผลการทดลองเนื่องจากเชื้อราที่มีลักษณะคล้ายคลึงเชื้อรา *Trichoderma* sp. เป็นเชื้อราที่มีการเจริญเติบโตที่รวดเร็ว ซึ่งเป็นไปได้ว่าจะส่งผลให้เกิดการกัดกินเชื้อราชนิดอื่นที่มีการเจริญเติบโตช้าเชื้อราบางชนิดสามารถทำลายโครงสร้างวัสดุก่อสร้าง โดยเฉพาะไม้ หรือวัสดุที่มีความชื้นสูง เช่น คอนกรีตหรือเหล็กที่มีการกร่อนจากความชื้นและสารเคมีจากเชื้อรา ทำให้ความแข็งแรงของโครงสร้างลดลงอย่างมาก การลดความแข็งแรงของโครงสร้างจะขึ้นอยู่กับประเภทของเชื้อรา, ระยะเวลา, และความรุนแรงของการติดเชื้อ รวมถึงวัสดุที่ได้รับผลกระทบ จากการศึกษา พบว่าเชื้อราบางชนิดสามารถทำให้โครงสร้างของไม้สูญเสียความแข็งแรงถึง 50-80% หากไม่ถูกจัดการในระยะเวลาที่เหมาะสม [12] หากเป็นโครงสร้างที่ทำจากเหล็กหรือคอนกรีต เชื้อราอาจทำให้การกัดกร่อนและการเสื่อมสภาพเกิดขึ้น ซึ่งอาจลดความแข็งแรงของโครงสร้างได้แต่ไม่มากเท่ากับกรณีของไม้ เนื่องจากวัสดุเหล่านี้ไม่ได้มีการเปลี่ยนแปลงโดยตรงจากการเจริญเติบโตของเชื้อรา แต่เชื้อราสามารถเร่งการกัดกร่อนจากความชื้นที่สูงได้โดยรวมแล้ว การดูแลรักษาความสะอาดและการควบคุมความชื้นในโครงสร้างวัสดุก่อสร้างจึงเป็นปัจจัยที่สำคัญในการป้องกันผลกระทบจากเชื้อรา.

5. สรุปผลและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผล

จากการเก็บตัวอย่างจากไม้ไผ่แปรรูปด้วยวิธีการ Swab Test พบการเจริญเติบโตของเชื้อรา จากนั้นได้ทำการคัดแยกเชื้อบริสุทธิ์ได้ 13 ชนิด และทำการเพาะเลี้ยงบนแผ่นสไลด์ (slide culture) เพื่อทำการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ผลการทดลองส่องกล้องเชื้อราทั้ง 13 ไอโซเลทสามารถจัดประเภทของเชื้อราได้ทั้งหมด 2 ชนิด จำนวน 7 ไอโซเลท โดยพบเชื้อราที่มีลักษณะคล้ายคลึงกับเชื้อรา

Chaetomium spp. และ *Trichoderma sp* โดยเชื้อรารหัส D4, N7 และ N8 พบโครงสร้างของPerithecium, Ascomatal hair และ Ascospore มีลักษณะคล้ายคลึงกับเชื้อรา *Chaetomium spp.* เป็นเชื้อราในกลุ่ม Ascomycetes ที่มีบทบาทสำคัญในระบบนิเวศและการเกษตร โดยเฉพาะอย่างยิ่งในฐานะเชื้อราปฏิปักษ์ที่สามารถควบคุมเชื้อราก่อโรคพืชได้ การควบคุมเชื้อราก่อโรคพืช มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Phytophthora palmivora* ซึ่งเป็นสาเหตุของโรครากเน่าโคนเน่าในทุเรียน และมีความสามารถในการในการผลิตเอนไซม์ย่อยสลายเซลลูโลสในเนื้อไม้ไผ่ได้ *Chaetomium* spp. เป็นเชื้อราที่สามารถพบในอาคารที่มีความชื้นสูง และสามารถทำลายไม้ สามารถปล่อยเอนไซม์ที่ช่วยย่อยสลายโครงสร้างของวัสดุ การเจริญของ *Chaetomium* spp. ในอาคารมักเกี่ยวข้องกับ กลิ่นอับและปัญหาด้านสุขภาพ เช่น ภูมิแพ้และปัญหาทางเดินหายใจ เชื้อราไอโซเลท N4, N5, N6 และ N9 ลักษณะเด่นคือมีโคโลนีสีเขียวและมีสปอร์ทรงกลมสีเขียวและพบ Phialide ซึ่งมีลักษณะคล้ายคลึงกับ *Trichoderma sp.* โดยจุดเด่นของเชื้อราชนิดนี้จะมีลักษณะโคโลนีสีเขียวและสร้างสปอร์บน Phialide และ *Trichoderma* spp. เป็นเชื้อราที่มีบทบาทสำคัญในด้านการเกษตรและสิ่งแวดล้อม เนื่องจากมีความสามารถหลากหลาย การควบคุมเชื้อราก่อโรคพืช (biocontrol) *Trichoderma* spp. สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราก่อโรคพืช เช่น Colletotrichum truncatum สาเหตุของโรคแอนแทรคโนสในถั่วเหลือง โดยมีประสิทธิภาพในการยับยั้งสูงเมื่อทดสอบด้วยวิธี dual culture การผลิตเอนไซม์ย่อยสลายสารอินทรีย์ *Trichoderma* spp. ผลิตเอนไซม์ที่ช่วยย่อยสลายสารอินทรีย์ เช่นเซลลูเลส แต่ไม่พบข้อมูลว่าเชื้อราเหล่านี้ส่งผลต่อโครงสร้างไม้ไผ่ [10]

เชื้อรารหัส N1, N2, D1, D2, D3 และ N3 ลักษณะที่พบจากการส่องกล้องจุลทรรศน์ที่มีลักษณะเหมือนกันคือ สปอร์มีลักษณะเป็นทรงกลม หรือทรงกลมรี แต่ไม่สามารถจัดจำแนกประเภทเชื้อราได้ เนื่องจากลักษณะสัณฐานวิทยาอาจยังไม่เพียงพอต่อการจำแนกประเภท

5.2 ปัญหาและข้อเสนอแนะ

หากต้องการจำแนกเชื้อราให้แม่นยำ สามารถใช้การผสมผสานระหว่างลักษณะสัณฐานวิทยากับเทคนิคทางโมเลกุลและชีวเคมี เช่น การตรวจสอบลักษณะทางกายภาพเพิ่มเติมการทดสอบสีย้อมต่าง ๆ เพื่อดูโครงสร้างเฉพาะของเชื้อรา หรือ การทดสอบทางชีวเคมี การทดสอบเอนไซม์ และการวิเคราะห์ทางโมเลกุล (molecular identification) การสกัดและวิเคราะห์ดีเอ็นเอ เพื่อให้ได้ข้อมูลที่ครบถ้วนและลดความผิดพลาดในการระบุชนิดเชื้อรา

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยครั้งนี้ ขอขอบคุณภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี ที่กรุณาเครื่องมือและอุปกรณ์ในการทำแลป อาจารย์ทุกท่านที่ให้คำแนะนำที่เป็นประโยชน์ต่องานวิจัย ซึ่งทำให้งานวิจัยนี้ลุล่วงไปด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

1. ศูนย์วนพัฒนวิจัยภาคเหนือ. (2555). *ไผ่ซางหม่น: เพชรแห่งล้านนา [26]*
2. สุธีรา สุนทรารักษ์. (2562, ตุลาคม 2560 - กันยายน 2561). คัดแยกเชื้อราที่มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสเพื่อการใช้ประโยชน์เชิงเกษตรชีวภาพ. *วารสารสิ่งแวดล้อมไทย*, 2(4): 1-9. [18]
3. Bidlack, James E. and Jansky, Shelley H. (2011). *STERN'S INTRODUCTORY PLANT BIOLOGY*. 12th ed. New York: McGraw-Hill. [1]
4. กฤษณา พงษ์พานิช. (2528). *โรคของเมล็ดพันธุ์ไม้ไผ่ที่สำคัญบางชนิดของไทย*. สำนักวิจัยการอนุรักษ์ป่าไม้และพันธุ์พืช, กรมป่าไม้. เข้าถึงจาก portal.dnp.go.th [27]
5. Reece, Jane B., Urry, Lisa A., Cain, Michael L., Wasserman, Steven A., & Minorsky, Peter V. (2017). *Campbell Biology*. 11th ed. New York: Pearson Education.[3]
6. สุชาดา มังษา. (2565, มีนาคม 25). การคัดแยกเชื้อราเอนโดไฟต์จากพืชสมุนไพรและประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราโรคเห็ด *Trichoderma simmonsii*. ใน *การประชุมวิชาการเสนอผลงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษาระดับชาติ ครั้งที่ 23*. [15]
7. Hjeljord, L., Tronsmo, A., Harman, G. E., & Kubicek, C. P. (1998). Trichoderma and gliocladium. Biological control: an overview. In: *Trichoderma and Gliocladium: Enzymes, biological control and commercial applications*. Harman GE, Kubice CP. (Eds), 2, 131-151. [7]
8. Chen, C. Q., Zhang, S. J., Kong, Y. B. H., Ji, T., Huang, W. W., Hu, Y. T., Zhang, D. W., & Xiao, Y. (2023). *Compressive strength degradation of engineered bamboo subjected to fungal attack.* npj Materials Degradation, 7, 92. [13]
9. วัชรี เสาร์เทพ. (2559, ธันวาคม). การจำแนกชนิดของเชื้อรา *Aspergillus spp.* และ *Penicillium spp.* ที่ปนเปื้อนในอาหาร ผลิตผลทางการเกษตร และดินเพาะปลูก และการสร้างสารพิษอะฟลาท็อกซินบี1. *วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร*, 48(3): 127-138. [19]
10. Singh, J. (1999), 'Dry Rot and Other Wood Destroying Fungi: Their Occurrence, Biology, Pathology and Control', *Review in Indoor Built Environment*, Vol. 8, pp. 3–20, [14]
11. Hamid, N. H., Sulaiman, O., Mohammad, A., & Ludin, N. A. (2012). *The decay resistance and hyphae penetration of bamboo Gigantochloa scortechinii*

decayed by white and brown rot fungi. International Journal of Forestry Research, 2012, 1–6. [11]

12. Hurdeal, V. G., Gentekaki, E., Hyde, K. D., Nguyen, T. T., & Lee, H. B. (2021). Novel Mucor species (Mucoromycetes, Mucoraceae) from northern Thailand. *MycoKeys*, 84, 57. [9]
13. Lee, S. C., M. Li, W. Li, C. Shertz and J. Heitman. (2010). The Evolution of Sex: A Perspective from the Fungal Kingdom. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*.
14. Alexopoulos, C.J., Mims, C.W., & Blackwell, M. (1996). *Introductory Mycology*. John Wiley & Sons.
15. Webster, J., & Weber, R.W.S. (2007). *Introduction to Fungi*. Cambridge University Press.
16. Kirk, P.M., Cannon, P.F., Minter, D.W., & Stalpers, J.A. (2008). *Dictionary of the Fungi*. CABI.
17. Moore, D., Robson, G. D., & Trinci, A. P. (2020). *21st century guidebook to fungi*. Cambridge University Press.
18. World Health Organization. (2021). *WHO global air quality guidelines: particulate matter (PM2.5 and PM10), ozone, nitrogen dioxide, sulfur dioxide and carbon monoxide*. World Health Organization
19. Hamid, N. H., Sulaiman, O., Mohammad, A., & Ludin, N. A. (2012). *The decay resistance and hyphae penetration of bamboo Gigantochloa scortechinii decayed by white and brown rot fungi.* International Journal of Forestry Research, 2012, 1–6.
20. ชุลีภรณ์ จันทร์น้อย. (2560, สิงหาคม). การทดสอบกิจกรรมเชิงคุณภาพเบื้องต้นของเอนไซม์เซลลูเลสและไคติเนสที่ผลิตจากเชื้อรา *Rhizopus spp. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร*, 48(3): 376-388.
21. สุมาลี เลี่ยมทอง. (2560, ธันวาคม 29). การคัดแยกและจำแนกชนิดเชื้อราดินป่าชายเลนในจังหวัดนครศรีธรรมราช. *วารสารวิชชา มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช*.
22. อัฐภิญรักษ์ อนุศาสตร์, ชัยณรงค์ รัตนกรีฑากลุ, & รัตยา พงศ์พิสุทธา. (2566). การดื้อต่อสาร Iprodione ของเชื้อรา *Trichoderma spp.* ที่แยกจากพื้นที่ชุ่มพร และผลต่อการสร้างเอนไซม์และการยับยั้งเชื้อรา *Pythium sp.* และ *Phytophthora sp.* ใน *การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 59 สาขาพืช* (หน้า 25-32). มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
23. ปรีชา สุวรรณพินิจ และนงลักษณ์ สุวรรณพินิจ. (2556). *High School Biology ชีววิทยา ม.4-6 เล่ม 5* (รายวิชาเพิ่มเติม). กรุงเทพฯ: ไฮเอ็ดพับลิชชิ่ง.
24. พจน์ แสงมณี. (2552). *Compact ชีววิทยา ม.6 เล่ม 5*. กรุงเทพฯ: แม็ค.
25. สถาบันส่งเสริมการสอนวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี กระทรวงศึกษาธิการ. (2554). *หนังสือเรียนรายวิชาเพิ่มเติม ชีววิทยา เล่ม 5 ชั้นมัธยมศึกษาปีที่ 4-6*. กรุงเทพฯ: สกสค. ลาดพร้าว.
26. อังคณา, (2013). การแยกและการคัดเลือกเชื้อราไตรโคเดอร์มาจากดินปาไผ่ในอุทยานแห่งชาติน้ำตกโยง จังหวัดนครศรีธรรมราชที่มีศักยภาพในการยับยั้งเชื้อรา Phytophthora palmivora (Butler) Butler. RMUTT Journal, 3(2), 1-13.