

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์	การคัดเลือกเอ็นโดไฟติกฟงไจที่สร้างสารต้านเชื้อรา <i>Colletotrichum musae</i>		
ชื่อผู้เขียน	นางสาวอุดมลักษณ์ เทียนถาวร		
วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต	สาขาวิชาชีววิทยา		
คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์	รองศาสตราจารย์ วันชัย	สนธิไชย	ประธานกรรมการ
	รองศาสตราจารย์ ดร. สายสมร	ลำยอง	กรรมการ
	อาจารย์ ดร. รุปน	ชื่นบาล	กรรมการ

### บทคัดย่อ

เมื่อนำ endophytic fungi จำนวน 250 ไอโซเลท จากห้องปฏิบัติการความหลากหลายของจุลินทรีย์ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ไปทำการคัดเลือก endophytic fungi ที่คาดว่าจะสร้างสารต้านเชื้อราเพื่อยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum musae* ซึ่งเป็นสาเหตุของโรค anthracnose ในกล้วย โดยการคัดเลือก endophytic fungi ในขั้นต้นด้วยวิธีการเป็นปฏิปักษ์กันของเชื้อ พบว่า endophytic fungi 19 ไอโซเลท ยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C. musae* วัดการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C. musae* ได้จากการเกิด zone of inhibition (ZI) เมื่อนำค่าเฉลี่ย ZI ของทุกเชื้อที่ให้ผลเป็นบวกไปทดสอบทางสถิติเพื่อหาความมีนัยสำคัญทางสถิติ พบว่าไอโซเลท mycelia sterilia G155 มีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ดังนั้นในการศึกษาในขั้นต่อไปจึงได้ใช้ไอโซเลท mycelia sterilia G155 และนอกจากนี้ยังได้นำเชื้อรา *Cladosporium* sp. มาทำการศึกษาควบคู่ด้วย เนื่องจากเชื้อรา *Cladosporium* sp. ให้ค่าเฉลี่ย ZI เป็นลำดับสองรองจากไอโซเลท mycelia sterilia G155

ในการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตสารต้านเชื้อราจากเชื้อทั้งสองชนิดพบว่า ไอโซเลท mycelia sterilia G155 สร้างสารต้านเชื้อราได้ดีที่สุดใน cultivation medium ที่ประกอบด้วย  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  0.5% (w/v),  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.9% (w/v) มีแหล่งคาร์บอนคือ corn starch 13.3% (w/v), แหล่งไนโตรเจนคือ beef extract 1% (w/v) และมี pH ของอาหารเริ่มต้นอยู่ในช่วง pH 4.0-5.0 ส่วนเชื้อรา *Cladosporium* sp. จะสร้างสารต้านเชื้อราได้ดีใน cultivation medium ที่ประกอบด้วย mannitol 10% (w/v), yeast extract 1% (w/v), corn meal 3.3% (w/v),  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  0.5% (w/v),  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.9% (w/v) ในอาหารที่ไม่ได้มีการปรับ pH ตอนเริ่มต้น ส่วนอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงเพื่อผลิตสารต้านเชื้อราจากเชื้อทั้งสองชนิดคือ 20-25°C บนเครื่องเขย่าที่ 124 รอบ/นาที และผลิตสารต้านเชื้อราได้มากที่สุดในช่วง 10-11 วันของการเลี้ยง ในการเพิ่มผลผลิตของสารต้านเชื้อราจากเชื้อทั้งสองชนิดทำได้โดยการนำเชื้อไปเลี้ยงในอาหารตั้งต้น 2% Malt extract agar เป็นเวลา 4 วัน จากนั้นจึงนำไปเลี้ยงต่อใน cultivation medium ที่ได้ศึกษาแล้วว่าเหมาะสมต่อการผลิตสารต้านเชื้อราสามารถจะเพิ่มผลผลิตของสารต้านเชื้อราได้ การทดสอบฤทธิ์ของสารต้านเชื้อราที่ได้จากเชื้อทั้งสองชนิดในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ทดสอบพบว่าสารต้านเชื้อราที่ได้สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา *C. musae*, ยับยั้งการเจริญของ *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Saccharomyces cerevisiae* เมื่อวิเคราะห์สารต้านเชื้อราด้วยวิธี TLC พบว่าสารต้านเชื้อราที่สกัดได้จากไอโซเลท mycelia sterilia G155 มี Rf 3 ค่า ที่ให้แถบใสยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา *C. musae* ชัดเจน คือ Rf 0.09, Rf 0.37, Rf 0.54 ส่วนสารต้านเชื้อราที่ได้จากเชื้อรา *Cladosporium* sp. ที่ให้แถบใสชัดเจนในการยับยั้งการงอกของสปอร์จะมีที่ Rf 0.87 เพียงค่าเดียว

**Thesis Title** Selection of Endophytic Fungi Producing Antifungal Substances  
Against *Colletotrichum musae*

**Author** Miss Udomluck Theintarworn

**M.S.** Biology

**Examining Committee**

Associate Professor Wanchai	Sonthichai	Chairperson
Associate Professor Dr. Saisamorn	Lumyong	Member
Lecturer Dr. Tapan	Cheunbarn	Member

**Abstract**

Two hundred and fifty isolates of endophytic fungi obtained from the Microbial Diversity Research Unit, Faculty of Science, Chiang Mai University were studied in production of antifungal against *Colletotrichum musae*, casual agent of anthracnose in banana. In primary screening, nineteen from two hundred and fifty isolates of endophytic fungi showed antagonistic effect against *C. musae*. Zone of inhibition (ZI) from positive antagonis was analysed by one-way anlysis of varience and found that the ZI produced by mycelia sterilia G155 was significantly ( $P=0.05$ ) from the other isolates. The mycelia sterilia G155 and *Cladosporium* sp. were selected to examination for optimum cultivation. The suitable medium for mycelia sterilia G155 contained  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  0.5% (w/v),  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.9% (w/v) corn meal 13.3% (w/v) as carbon source and beef extract 1% (w/v) as nitrogen source, pH 4.0-5.0 incubated with shaking (124 rpm) at 20-25°C. The optimum medium for *Cladosporium* sp. contained mannitol 10.0% (w/v), corn meal 3.3% (w/v), yeast extract 1.0 % (w/v),  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  0.5% (w/v),  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.9% (w/v) without adjusted pH, incubated with shaking (124 rpm) at 20-25°C. The antifungal substance of both isolates was harvasted after 10-11 days incubation.

Induction of antifungal production was done by inoculated 4 days old cultured in 2% malt extract broth. The crude antifungal substances from mycelia sterilia G155 and *Cladosporium* sp. could inhibit *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Saccharomyces cerevisiae*. The antifungal substances analysis by TLC showed the inhibition area against *C. musae* at Rf 0.09, Rf 0.37 and Rf 0.54 from mycelia sterilia G155 and at Rf 0.87 from *Cladosporium* sp.

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
Chiang Mai University