

ปัจจัยในการผลิตเชื้อรา *Paecilomyces lilacinus*
ที่ใช้ในการควบคุมไส้เดือนฝอยในอาหารเหลว
**Production Factors of *Paecilomyces lilacinus*
a Nematode Parasite Fungus in Culture Broth**

สืบศักดิ์ สนธิรัตน์¹

Suebsak sontirat

ABSTRACT

Mycelial growth and rate of sporulation of *Paecilomyces lilacinus* were investigated with different culture media , medium concentrations, pH , temperatures and shaking speeds, compared with *Penicillium* sp. Suitable conditions for cultivation of *Paecilomyces lilacinus* were 5 days on Soybean Broth (SB) and Potato Dextrose Broth (PDB) at 50 % concentration, pH 6.5 (6.0-7.0) , temperature 31°C and 220-270 rpm on shaker.

Key words: *Paecilomyces lilacinus*

บทคัดย่อ

การทดสอบหาจำนวนวัน สตรีอาหารและสภาพที่เหมาะสมในการเลี้ยงเชื้อรา *Paecilomyces lilacinus* ในอาหารเหลว พบว่าจำนวนวันที่เหมาะสมในการเลี้ยงคือ 5 วัน สตรีอาหาร Soybean Broth (SB) และ Potato Dextrose Broth (PDB) ความเข้มข้น 50 เปอร์เซ็นต์ ที่ pH 6.5 (6.0-7.0) อุณหภูมิ 31 องศาเซลเซียส ความเร็วในการเขย่า 220-270 รอบต่อนาที

คำนำ

ปัจจุบันนี้โลกมีประชากรมากกว่า 6,000 ล้านคน ในอนาคตจำเป็นที่ผลผลิตทางการเกษตรต้องเพิ่มขึ้นเพื่อให้มีอาหารเพียงพอแก่พลโลก โรคแมลงและวัชพืชมีส่วนในการทำให้ผลผลิตเสียหายเป็นอันมาก ในจำนวนนี้ไส้เดือนฝอยรากปม (*Meloidogyne incognita*) จัดเป็นศัตรูพืชที่เข้าทำลายพืชโดยตรง นอกจากทำให้คุณภาพและผลผลิตลดลง ยังทำให้รูป

¹ ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ร่างผลิตภัณฑ์และเป็นผู้เปิดผลหรือนำทางให้เชื้อจุลินทรีย์อื่นเข้าทำลายซ้ำทำให้เกิดอาการโรครุนแรงยิ่งขึ้น (disease complex) ทำให้เกิดความเสียหายกับพืชเศรษฐกิจต่างๆ การป้องกันกำจัดสามารถทำได้หลายวิธี เช่น การใช้พันธุ์ต้านทาน การปลูกพืชหมุนเวียนหรือการใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืชซึ่งเป็นวิธีการที่สะดวกและให้ประสิทธิภาพสูง ซึ่งการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชของเกษตรกรได้ก่อให้เกิดปัญหาในด้านต่างๆ ขึ้นมากมาย เช่นการเป็นพิษกับผู้บริโภคโดยตรง การทำลายระบบนิเวศน์ทางการเกษตร การทำลายสิ่งแวดล้อม การเกิดพิษตกค้างบนพืชอาหารคน และสัตว์ ดังนั้นการควบคุมไส้เดือนฝอยศัตรูพืชทางชีววิธีเป็นอีกวิธีที่น่าสนใจ โดยพบว่าเชื้อรา *Paecilomyces lilacinus* เป็นเชื้อราที่มีประสิทธิภาพในการเข้าทำลายไข่และตัวไส้เดือนฝอยสุกักและคณะ (2531) ทดลองใช้เชื้อรา *Paecilomyces lilacinus* ควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* ศัตรูพืชผักสำเร็จเป็นครั้งแรกด้วยการทดลองในกระถาง ในช่วงหลายปีที่ผ่านมาได้มีการศึกษาการควบคุมศัตรูพืชโดยชีววิธีอย่างจริงจัง ซึ่งในปี 1984 Papavizas et al. ได้ผลิตเชื้อราโดยขบวนการหมักในอาหารเหลวโดยใช้วัสดุที่มีราคาถูกได้แก่ molass และ brewer's yeast แต่ก็ยังไม่สามารถควบคุมการผลิตในระดับการค้าได้ เพราะต้องใช้วัสดุ carrier จำนวนมาก ทำให้ต้นทุนสูงผลผลิตพืชที่เพิ่มขึ้นก็ยังไม่แน่นอน และเชื้อราเองก็ยังไม่สามารถอยู่รอดในธรรมชาติได้เป็นเวลานาน การทดลองนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาสภาพที่เหมาะสมในการเลี้ยงเชื้อ *Paecilomyces lilacinus* ทั้งสูตรอาหารเหลวที่เป็นแหล่ง คาร์บอนและไนโตรเจนเพื่อให้เชื้อสร้าง สปอร์ หรือ ชิ้นส่วนของเส้นใย ตามที่เราต้องการ สภาพความเป็นกรดด่างที่อุณหภูมิ และความเร็วในการเขย่าที่เหมาะสม

อุปกรณ์และวิธีการ

เชื้อรา *Paecilomyces lilacinus* ที่ใช้ในการทดลองนี้มี 4 สายพันธุ์ (isolate) ซึ่งเป็นสายพันธุ์ซึ่งทดลองแล้วว่ามีประสิทธิภาพในการเข้าทำลายไข่ไส้เดือนฝอยรากปมได้ 100 % คือ AK 3-09, AK 6-03, NK 1-14 และ NK 1-15 และเชื้อรา *Penicillium* sp. (AK 1-05) เปรียบเทียบ ใช้แผนการทดลองแบบ Factorial in RCB แบ่งเป็น 5 ขั้นตอนคือ

1. ทดสอบหาจำนวนวันที่เหมาะสมในการเลี้ยงเชื้อราบนอาหารเหลวเบื้องต้น

เตรียม conidial suspension ของเชื้อรา *P. lilacinus* ทั้ง 4 สายพันธุ์ให้มีจำนวน 5×10^6 ใสลงในอาหารเหลว Potato Dextrose Broth (PDB ซึ่งเตรียมจากมันฝรั่ง 200 กรัม dextrose 20 กรัม เติมน้ำจนปริมาตรครบ 1 ลิตร) ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ที่บรรจุใน flask ขนาด 250 มิลลิลิตร นำไปเขย่าที่อุณหภูมิห้อง (25-30 องศาเซลเซียส) ความเร็วในการเขย่า 170 รอบต่อนาที เป็นเวลา 7 วัน โดยทำการสุ่มตัวอย่างมากรองเส้นใยและนับจำนวนสปอร์เชื้อราทุกวัน นำไปอบที่อุณหภูมิ 101 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำการวิเคราะห์เปรียบเทียบน้ำหนักแห้งของเชื้อรา หาววันที่ที่เชื้อราให้น้ำหนักแห้งสูงสุดต่อปริมาณอาหาร 1 ลิตร เพื่อใช้เป็นจำนวนวันที่เหมาะสมในการเลี้ยงเชื้อรา *P. lilacinus* ในการทดสอบขั้นต่อไป

2. ทดสอบอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสม

เตรียม conidial suspension ของเชื้อรา *P. lilacinus* ทั้ง 4 สายพันธุ์ และเชื้อรา *Penicillium* sp. ให้มีจำนวน 5×10^6 สปอร์ มาทำการทดสอบการเจริญเติบโตบนอาหารเหลว 11 สูตรคือ Potato Dextrose Broth (PDB), Corn Meal Broth (CMB), Sorghum Meal Broth (SMB), Semi-synthetic Broth (SSB), Fungal Fluid Culture Broth (FFCB), Corn Meal V₈ Broth (CMV₈B),

Sorghum Meal V₈ Broth (SMV₈B), Semi-synthetic V₈ Broth (SSV₈B), Czapek's Broth (CZB), V₈-juive Broth (V₈B) และ Soybean Broth (SB) ความเข้มข้น 100, 50 และ 25 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ที่บรรจุใน flask ขนาด 250 มิลลิลิตร นำไปแช่ที่อุณหภูมิห้อง (25-30 องศาเซลเซียส) ความเร็ว 170 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 วัน (ผลการทดลองข้อนี้นำไปใช้ในการทดสอบต่อไป)

3. การศึกษาความเป็นกรดต่างเริ่มต้นที่เหมาะสม

เตรียมอาหาร CMB, PDB, SB, และ SMB (ตามผลการทดลองข้อ 2) ความเข้มข้น 50 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 50 มิลลิลิตร ใส่ flask ขนาด 250 มิลลิลิตร แล้วปรับ pH ด้วย 1N HCl หรือ 1N NaOH ให้มี pH เริ่มต้นต่างๆคือ 4.0 5.0 6.0 6.5 และ 7.0 นึ่งฆ่าเชื้อและปล่อยให้เย็นจากนั้นดูด conidial suspension เชื้อรา *P. lilacinus* ทั้ง 4 สายพันธุ์ และเชื้อรา *Penicillium* sp. ใส่ลงไป 5×10^6 สปอร์ต่อ flask นำไปแช่ที่ความเร็ว 170 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง (25-30 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 5 วัน

4. การศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสม

เตรียมอาหาร PDB และ SB ความเข้มข้น 50 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 50 มิลลิลิตร ใส่ flask ขนาด 250 มิลลิลิตร แล้วปรับ pH เป็น 6.5 (ตามผลการทดลองข้อ 3) นึ่งฆ่าเชื้อและปล่อยให้เย็นจากนั้นดูด conidial suspension เชื้อรา *P. lilacinus* ทั้ง 4 สายพันธุ์ และเชื้อรา *Penicillium* sp. (AK 1-05) ใส่ลงไป 5×10^6 สปอร์ต่อ flask นำไปแช่ที่ความเร็ว 170 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 22, 25, 28, และ 34 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน

5. การศึกษาความเร็วในการแช่ที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อรา

เตรียมอาหาร PDB และ SB ความเข้มข้น 50

เปอร์เซ็นต์ จำนวน 50 มิลลิลิตร ใส่ flask ขนาด 250 มิลลิลิตร แล้วปรับ pH เป็น 6.5 (ตามผลการทดลองข้อ 3) นึ่งฆ่าเชื้อและปล่อยให้เย็นจากนั้นดูด conidial suspension เชื้อรา *P. lilacinus* ทั้ง 4 สายพันธุ์ และเชื้อรา *Penicillium* sp. (AK 1-05) ใส่ลงไป 5×10^6 สปอร์ต่อ flask นำไปแช่ที่ความเร็ว 170 220 และ 270 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 วัน ทำการวิเคราะห์เปรียบเทียบหาความเร็วในการแช่ที่ให้น้ำหนักแห้งและจำนวนสปอร์สูงสุด

ผล

1. การทดสอบหาจำนวนวันที่เหมาะสมในการเลี้ยงเชื้อราบนอาหารเหลวเบื้องต้น

ผลการตรวจสอบการเจริญของเชื้อรา *P. lilacinus* จำนวน 4 สายพันธุ์ คือ AK 3-09, AK 6-03, NK 1-14 และ NK 1-15 ที่เลี้ยงบนอาหาร PDB เข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์ บนเครื่องแช่ความเร็ว 170 รอบต่อนาที เป็นเวลา 7 วัน พบว่าน้ำหนักแห้งในวันที่ 5 6 และ 7 ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ส่วนจำนวนสปอร์สูงสุดได้แก่วันที่ 3 และ 5 (Table 1)

2. การทดสอบอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสม

ผลการทดสอบการเจริญของเชื้อรา *P. lilacinus* จำนวน 4 สายพันธุ์ คือ AK 3-09, AK 6-03, NK 1-14 และ NK 1-15 เปรียบเทียบกับเชื้อรา *Penicillium* sp. (AK 1-05) ที่เลี้ยงบนอาหาร 11 สูตร เข้มข้น 100, 50 และ 25 เปอร์เซ็นต์ บนเครื่องแช่ความเร็ว 170 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 วัน พบว่าสูตรอาหารและความเข้มข้น เท่านั้นที่มีผลต่อน้ำหนักแห้งของเชื้อรา โดยสูตรอาหาร SB เป็นสูตรอาหารที่ให้น้ำหนักแห้งสูงที่สุดรองลงไปได้แก่อาหาร PDB, SSV₈B, CMV₈B, SMV₈B, SMB, CMB, SSB, FFCB, CZB, และ V₈B ตามลำดับ ที่ความเข้มข้นอาหาร 100 เปอร์เซ็นต์ เชื้อ

Table 1 Average dry weights and numbers of spores of the 4 fungal isolates cultured in PDB (100 % concentration). 170 rpm. for 7 days.

	Incubation (day)						
	1	2	3	4	5	6	7
Dry weight gm/l.	1.140 a	2.740 b	4.600 c	6.640 d	7.320 e	7.530 e	7.820 e
No. of spores per ml.	1.3×10 ⁵ d	1.0×10 ⁷ c	5.0×10 ⁷ a	1.0×10 ⁷ c	3.8×10 ⁷ b	1.7×10 ⁷ c	1.7×10 ⁶ d

Means with the same letters are not statistically different at $p = 0.05$ by DMRT.

ราให้น้ำหนักแห้งสูงกว่าที่ความเข้มข้นอาหาร 50 และ 25 เปอร์เซ็นต์ (Table 2)

ผลการวิเคราะห์ความสามารถในการสร้างสปอร์ในอาหารเหลวของเชื้อราพบว่าเชื้อรา *P. lilacinus* ทั้ง 4 สายพันธุ์ มีความสามารถในการสร้างสปอร์ในอาหารเหลวได้ไม่แตกต่างกัน แต่สูงกว่าเชื้อรา AK 1-05 (*Penicillium* sp.) ในอาหาร CMB, CZB, FFCB, SMB, SSB, V8B และ PDB ไม่พบการสร้างสปอร์ในสูตรอาหารและความเข้มข้นก็มีผลต่อความสามารถในการสร้างสปอร์ กล่าวคือ อาหาร SB ให้จำนวนสปอร์เฉลี่ยสูงสุด ส่วนอาหาร V8B PDB SSV₈B SSB SMV₈B CMB SMB CMV₈B ให้จำนวนสปอร์เฉลี่ยปานกลาง อาหาร CZB และ FFCB ให้จำนวนสปอร์ต่ำสุด อาหารที่ความเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์ ให้จำนวนสปอร์สูงกว่าอาหารที่ความเข้มข้น 25 และ 50 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (Table 3)

3. การศึกษาความเป็นกรดต่างเริ่มต้นที่เหมาะสม

พบว่าน้ำหนักแห้งของเชื้อรา *P. lilacinus* ทุกสายพันธุ์ สูงกว่าเชื้อรา *Penicillium* sp. ทุกระดับความเป็นกรดต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ความเป็นกรดต่าง (pH) และสูตรอาหารมีผลต่อน้ำหนักแห้งของเชื้อราเช่นกันโดยที่ pH

6.5 เชื้อราให้น้ำหนักแห้งเฉลี่ยสูงกว่าที่ pH 4.0 5.0 6.0 และ 7.0 อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ สูตรอาหาร PDB เป็นสูตรอาหารที่ให้น้ำหนักแห้งเฉลี่ย 3.758 กรัมต่อลิตร สูงกว่าอาหาร SB CMB และ SMB (Table 4)

ผลการวิเคราะห์ความสามารถในการสร้างสปอร์ในอาหารเหลวของเชื้อราพบว่าเชื้อรา *P. lilacinus* ทั้ง 4 สายพันธุ์ มีความสามารถในการสร้างสปอร์ในอาหารเหลวได้ไม่แตกต่างกันแต่สูตรอาหารและ pH มีผลต่อการสร้างสปอร์ของเชื้อราโดยสูตรอาหาร SB ที่ pH 4.0 เชื้อราสร้างสปอร์ได้สูงสุด รองลงมาได้แก่อาหาร SB ที่ pH 6.5 (Table 5)

4. การศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสม

พบว่าอุณหภูมิและสูตรอาหารมีผลต่อน้ำหนักแห้งของเชื้อรา โดยที่อุณหภูมิ 31 28 และ 25 องศาเซลเซียส เชื้อราให้น้ำหนักแห้งสูงกว่าที่อุณหภูมิ 34 และ 22 องศาเซลเซียส สูตรอาหาร SB เชื้อราทั้งสองจะมีน้ำหนักแห้งสูงกว่าอาหาร PDB อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ผลการวิเคราะห์ความสามารถในการสร้างสปอร์ในอาหารเหลวของเชื้อราพบว่าเชื้อรา *P. lilacinus* ทั้ง 2 สายพันธุ์ มีความสามารถในการสร้างสปอร์ใน

Table 2 Average dry weights of 5 fungal isolates cultured on 11 liquid media at 3 different concentrations for 5 days.

Fungal isolates	Average dry weights (gm/l)																	
	CMB (%)			CMV ₈ B (%)			CZB (%)			FFCB (%)			SMB (%)			SSV ₈ B (%)		
	100	50	25	100	50	25	100	50	25	100	50	25	100	50	25	100	50	25
AK 3-09	3.212	5.104	0.776	8.946	2.614	0.844	2.418	2.142	2.102	3.042	4.306	0.686	3.958	7.388	0.892	7.200	2.646	1.078
	j	h	n	c	k	n	k	m	m	j	i	n	i	g	n	g	j	m
AK6-03	3.214	5.072	0.608	8.520	2.788	0.866	2.456	2.186	2.100	2.866	4.340	0.984	3.916	4.970	0.880	7.070	3.456	0.936
	j	h	n	f	j	n	k	m	m	j	i	n	j	h	n	g	j	n
NK1-14	3.518	1.042	8.620	2.590	1.410	2.806	2.268	1.902	3.602	4.644	0.760	4.092	5.410	1.088	6.544	3.178	0.808	
	j	h	m	e	k	m	j	l	m	j	i	n	i	h	m	g	j	n
NK1-15	3.694	5.938	0.648	8.582	2.984	1.260	2.494	1.926	1.586	3.858	4.380	0.684	4.616	5.888	1.012	7.346	3.266	0.906
	j	h	n	e	j	m	k	m	m	i	i	n	h	h	m	g	j	n
AK1-05	2.938	4.746	0.640	4.316	1.986	0.388	2.372	2.580	2.062	2.718	3.896	0.850	3.164	6.324	0.802	3.868	2.040	0.546
	j	i	n	i	m	n	k	k	m	j	j	n	j	g	n	j	m	n

Means with the same letters are not statistically different at p = 0.05 by DMRT.

Table 2 (Cont.)

Fungal isolates	Average dry weights (gm/l)														
	SSB (%)			SMV ₈ B (%)			V ₈ B (%)			SB (%)			PDB (%)		
	100	50	25	100	50	25	100	50	25	100	50	25	100	50	25
AK 3-09	3.290	3.308	0.836	9.742	3.178	0.722	3.738	1.944	0.744	19.790	10.020	6.030	3.822	6.248	2.776
	j	j	n	e	j	n	j	m	n	b	d	h	g	g	j
AK 6-03	3.940	4.140	0.910	8.852	4.246	1.198	3.748	1.774	0.768	19.760	9.874	4.504	5.056	6.176	2.416
	i	i	n	e	i	m	j	m	n	b	d	i	h	h	k
NK 1-14	3.324	3.774	0.862	9.010	4.412	0.992	4.274	2.626	1.068	19.800	10.880	6.220	4.046	7.022	2.936
	j	j	n	e	i	n	i	k	m	b	d	g	i	g	j
NK 1-15	3.440	4.248	1.066	9.456	3.284	1.584	3.762	1.656	0.664	17.740	9.000	6.120	3.024	6.438	2.772
	j	i	m	e	j	m	j	m	n	c	e	h	j	g	j
AK 1-05	3.382	3.924	1.136	7.460	2.736	0.880	2.178	1.474	0.690	22.260	10.800	6.660	7.174	7.232	2.516
	j	j	m	g	j	n	m	m	n	a	d	g	g	g	k

Means with the same letters are not statistically different at $p = 0.05$ by DMRT.

Table 3 Averaged numbers of spores/ml of 6 fungal isolates cultured on 11 liquid media at different concentrations for 5 day.

Fungal isolates	Average dry weights (gm/l)																	
	CMB (%)			CMV ₈ B (%)			CZB (%)			FFCB (%)			SMB (%)			SSV8B (%)		
	100	50	25	100	50	25	100	50	25	100	50	25	100	50	25	100	50	25
AK 3-09	2.4×10 ⁷	1.0×10 ⁷	7.0×10 ⁶	4.0×10 ⁷	6.8×10 ⁶	7.8×10 ⁶	3.2×10 ⁶	1.2×10 ⁵	4.8×10 ⁵	4.3×10 ⁸	4.0×10 ⁶	5.6×10 ⁵	2.0×10 ⁷	1.3×10 ⁷	1.6×10 ⁵	4.2×10 ⁷	1.2×10 ⁷	9.2×10 ⁶
	d	d	d	d	d	d	d	e	e	d	d	e	d	d	e	d	d	d
AK 6-03	3.1×10 ⁷	1.5×10 ⁷	1.3×10 ⁷	3.8×10 ⁷	9.0×10 ⁶	1.0×10 ⁷	3.5×10 ⁶	1.5×10 ⁶	5.6×10 ⁵	9.6×10 ⁶	4.3×10 ⁶	6.4×10 ⁶	2.9×10 ⁷	2.6×10 ⁷	8.3×10 ⁶	3.8×10 ⁷	8.7×10 ⁶	4.4×10 ⁵
	d	d	d	d	d	d	d	d	e	d	d	e	d	d	d	d	d	e
NK 1-14	2.5×10 ⁷	1.3×10 ⁷	4.8×10 ⁶	5.8×10 ⁷	7.5×10 ⁶	9.6×10 ⁶	3.3×10 ⁶	1.3×10 ⁶	4.8×10 ⁵	4.2×10 ⁶	3.6×10 ⁶	4.4×10 ⁵	1.9×10 ⁷	1.3×10 ⁷	1.6×10 ⁵	5.6×10 ⁷	1.6×10 ⁷	9.4×10 ⁶
	d	d	d	d	d	d	d	d	e	d	d	e	d	d	e	c	d	d
NK 1-15	4.5×10 ⁷	2.9×10 ⁷	1.2×10 ⁷	3.6×10 ⁷	4.9×10 ⁶	5.9×10 ⁶	2.5×10 ⁶	1.8×10 ⁶	2.6×10 ⁵	1.1×10 ⁷	4.1×10 ⁶	1.4×10 ⁶	2.9×10 ⁷	1.8×10 ⁷	3.4×10 ⁶	3.8×10 ⁷	3.0×10 ⁶	4.9×10 ⁶
	d	d	d	d	d	d	d	d	e	d	d	d	d	d	d	d	d	d
AK 1-05	0	0	0	2.0×10 ⁶	2.8×10 ⁵	8.0×10 ⁵	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1.3×10 ⁶	5.0×10 ⁵	1.2×10 ⁵
	f	f	f	d	e	e	f	f	f	f	f	f	f	f	f	d	e	e

Means with the same letters are not statistically different at p = 0.05 by DMRT.

Table 3 (Cont.)

Fungal isolates	Average dry weights (gm/l)														
	SSB (%)			SMV ₈ B (%)			V ₈ B (%)			SB (%)			PDB (%)		
	100	50	25	100	50	25	100	50	25	100	50	25	100	50	25
AK 3-09	6.2×10 ⁷ c	1.0×10 ⁷ d	6.7×10 ⁶ d	6.5×10 ⁷ c	2.6×10 ⁷ d	2.5×10 ⁶ d	5.0×10 ⁷ c	1.0×10 ⁷ d	8.0×10 ⁶ d	1.2×10 ⁸ b	5.6×10 ⁷ c	4.1×10 ⁷ d	4.0×10 ⁷ d	2.9×10 ⁷ d	1.0×10 ⁷ d
AK 6-03	3.8×10 ⁷ d	2.9×10 ⁷ d	1.5×10 ⁷ d	5.4×10 ⁷ c	9.8×10 ⁶ d	2.0×10 ⁶ d	4.5×10 ⁷ d	9.0×10 ⁶ d	2.8×10 ⁶ d	1.4×10 ⁸ b	5.8×10 ⁷ c	4.0×10 ⁷ d	4.1×10 ⁷ d	3.1×10 ⁷ d	9.4×10 ⁷ d
NK 1-14	5.6×10 ⁷ c	1.0×10 ⁷ d	5.3×10 ⁶ d	6.4×10 ⁷ c	2.3×10 ⁷ d	1.7×10 ⁶ d	4.9×10 ⁷ c	9.4×10 ⁶ d	7.8×10 ⁶ d	1.2×10 ⁸ b	7.1×10 ⁷ c	4.2×10 ⁷ d	4.2×10 ⁷ d	3.1×10 ⁷ d	1.1×10 ⁷ d
NK 1-15	4.3×10 ⁷ d	8.4×10 ⁶ d	6.1×10 ⁶ d	5.3×10 ⁷ c	1.8×10 ⁷ d	2.5×10 ⁶ d	4.9×10 ⁷ c	9.2×10 ⁶ d	5.5×10 ⁶ d	1.5×10 ⁸ b	5.3×10 ⁷ c	2.8×10 ⁷ d	5.3×10 ⁷ d	1.9×10 ⁷ d	2.1×10 ⁷ d
AK 1-05	0 f	0 f	0 f	1.0×10 ⁶ d	2.2×10 ⁶ e	3.1×10 ⁵ e	0 f	0 f	0 f	1.5×10 ⁷ c	3.1×10 ⁷ d	7.0×10 ⁷ d	0 f	0 f	0 f

Means with the same letters are not statistically different at $p = 0.05$ by DMRT.

Table 4 Average dry weights of 5 fungal isolates cultured on 4 liquid media (50% concentration)at different pH levels.

Fungal isolates	Average dry weights (gm/l)																			
	pH = 4.0				pH = 5.0				pH = 6.0				pH = 6.5				pH = 7.0			
	CMB	PDB	SB	SMB	CMB	PDB	SB	SMB	CMB	PDB	SB	SMB	CMB	PDB	SB	SMB	CMB	PDB	SB	SMB
AK 3-09	3.32	3.79	2.41	2.58	2.06	4.03	1.79	1.23	1.30	4.08	4.26	0.88	2.54	5.15	4.77	2.89	2.62	4.00	4.71	1.26
	c	c	d	d	d	b	e	e	e	b	b	f	d	a	b	c	d	b	b	e
AK 6-03	3.30	3.00	2.40	2.02	1.94	3.60	1.54	0.94	1.17	2.44	3.99	0.65	1.83	4.31	4.48	2.48	1.67	3.30	4.55	0.63
	c	c	d	d	d	c	e	e	e	d	b	f	c	b	b	d	e	c	b	f
AK 1-14	3.02	3.75	2.12	1.93	1.98	2.65	1.52	0.96	1.27	4.07	4.05	0.92	2.15	5.01	5.15	2.84	3.00	4.30	5.01	1.23
	c	c	d	d	d	d	e	e	e	b	b	e	d	a	a	d	c	b	a	e
NK 1-15	2.89	3.53	2.30	1.76	2.08	3.65	1.60	1.00	1.15	3.66	3.57	1.20	1.67	4.44	3.80	2.67	1.37	3.18	2.83	0.66
	c	c	d	e	d	c	e	e	e	c	c	e	e	b	c	d	e	c	d	f
AK 1-05	2.83	4.31	1.70	0.80	1.68	2.72	1.56	0.80	1.45	3.05	3.23	0.94	1.53	4.72	3.15	2.74	1.67	3.26	2.76	1.49
	d	b	e	f	e	d	e	f	e	c	c	e	c	b	c	d	e	c	d	e

Means with the same letters are not statistically different at $p = 0.05$ by DMRT.

Table 5 Average numbers of spores of 5 fungal isolates cultured on 4 liquid media (50% concentration) at different pH levels.

Fungal isolates	Average dry weights (gm/l)																			
	pH = 4.0				pH = 5.0				pH = 6.0				pH = 6.5				pH = 7.0			
	CMB	PDB	SB	SMB	CMB	PDB	SB	SMB	CMB	PDB	SB	SMB	CMB	PDB	SB	SMB	CMB	PDB	SB	SMB
AK 3-09	7.0×10 ⁶ k	1.8×10 ⁷ j	1.9×10 ⁷ i	4.8×10 ⁶ l	2.8×10 ⁶ l	1.1×10 ⁷ k	5.6×10 ⁷ l	5.2×10 ⁷ l	3.2×10 ⁷ h	2.1×10 ⁷ i	3.8×10 ⁷ j	9.8×10 ⁶ k	1.0×10 ⁷ k	2.0×10 ⁷ i	3.2×10 ⁷ h	1.3×10 ⁷ j	1.2×10 ⁶ l	2.2×10 ⁶ l	4.0×10 ⁶ l	1.0×10 ⁶ l
AK 6-03	9.6×10 ⁶ k	8.0×10 ⁶ k	2.8×10 ⁸ a	8.5×10 ⁵ l	2.9×10 ⁶ l	4.8×10 ⁶ l	3.0×10 ⁷ h	1.5×10 ⁶ l	6.2×10 ⁶ k	3.0×10 ⁷ h	2.1×10 ⁷ i	2.4×10 ⁶ l	1.5×10 ⁷ j	3.1×10 ⁷ h	6.8×10 ⁷ c	2.6×10 ⁷ h	1.0×10 ⁵ l	1.6×10 ⁷ j	3.0×10 ⁵ l	1.0×10 ⁴ l
AK 1-14	1.4×10 ⁷ j	8.0×10 ⁶ k	6.4×10 ⁷ d	1.6×10 ⁶ l	8.0×10 ⁶ k	3.2×10 ⁶ l	2.0×10 ⁷ i	5.0×10 ⁵ l	8.0×10 ⁶ k	1.4×10 ⁷ j	3.4×10 ⁷ g	3.0×10 ⁶ l	1.3×10 ⁷ j	3.1×10 ⁷ h	7.1×10 ⁷ c	1.2×10 ⁷ k	6.0×10 ⁶ k	7.8×10 ⁶ k	3.0×10 ⁶ l	1.3×10 ⁵ l
NK 1-15	1.0×10 ⁴ l	2.5×10 ⁵ l	5.0×10 ⁷ f	4.8×10 ⁶ l	4.5×10 ⁶ l	3.5×10 ⁶ l	4.8×10 ⁷ f	5.5×10 ⁵ l	8.0×10 ⁶ k	2.8×10 ⁷ h	2.5×10 ⁷ i	3.0×10 ⁶ l	0 l	2.0×10 ⁷ i	5.3×10 ⁷ e	18×10 ⁷ j	2.5×10 ⁵ l	2.8×10 ⁶ l	6.7×10 ⁴ l	1.0×10 ⁴ l
AK 1-05	4.4×10 ⁵ l	4.0×10 ⁵ l	8.4×10 ⁷ b	6.0×10 ⁴ l	1.4×10 ⁵ l	1.0×10 ⁵ l	1.4×10 ⁷ j	1.0×10 ⁵ l	3.5×10 ⁵ l	2.5×10 ⁵ l	2.0×10 ⁷ l	2.0×10 ⁵ l	4.2×10 ⁵ l	0 l	5.0×10 ⁴ l	6.0×10 ⁴ l	1.0×10 ⁴ l	0 l	7.5×10 ⁴ l	1.0×10 ⁴ l

l Means with the same letters are not statistically different at p = 0.05 by DMRT.

Table 6 Average dry weights and numbers of spores of two fungal isolates cultured on PDB and SB at different temperatures.

Fungal isolates		PDB (°c)					SB (°c)				
		22	25	28	31	34	22	25	28	31	34
Dry weight	AK 3-09	4.18 f	7.04 d	5.74 e	6.40 d	5.40 e	6.02 d	8.76 d	20.20 a	21.16 a	5.34 e
	NK 1-14	4.14 f	12.74 b	5.52 e	6.94 d	2.30 f	6.22 d	22.30 a	22.52 a	23.24 a	11.04 b
Number of spores	AK 3-09	2.0×10 ⁶ j	2.0×10 ⁶ j	1.5×10 ⁷ g	2.0×10 ⁷ h	2.0×10 ⁶ j	2.5×10 ⁷ e	8.0×10 ⁷ a	3.4×10 ⁷ d	3.2×10 ⁷ d	2.4×10 ⁷ e
	NK 1-14	3.2×10 ⁷ d	8.0×10 ⁶ h	1.2×10 ⁷ g	1.4×10 ⁷ g	1.4×10 ⁷ g	2.1×10 ⁷ f	4.4×10 ⁷ b	4.0×10 ⁷ c	3.0×10 ⁷ d	3.2×10 ⁷ d

Means with the same letters are not statistically different at p = 0.05 by DMRT.

Table 7 Average dry weights and numbers of spores of two fungal isolates cultured on PDB and SB at different shaking speeds.

Fungal isolates	170 rpm		220 rpm		270 rpm	
	PDB	SB	PDB	SB	PDB	SB
Dry weight	5.30 de	5.34 de	5.70 de	15.22 c	6.14 de	18.00 ab
	4.20 c	7.04 d	6.10 de	16.36 bc	6.00 de	19.02 a
Number of spores	5.2×10 ⁶ ef	1.0×10 ⁷ d	1.2×10 ⁷ de	3.2×10 ⁷ b	1.05×10 ⁶ f	1.2×10 ⁶ d
	4.6×10 ⁶ f	1.3×10 ⁷ d	1.2×10 ⁶ f	4.4×10 ⁷ a	1.85×10 ⁶ f	2.2×10 ⁷ c

Means with the same letters are not statistically different at $p = 0.05$ by DMRT.

อาหารเหลวได้ไม่แตกต่างกันแต่อุณหภูมิและสูตรอาหารมีผลต่อการสร้างสปอร์ของเชื้อราโดยสูตรอาหาร SB ให้จำนวนสปอร์เฉลี่ยสูงกว่าสูตรอาหาร PDB ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เชื้อราสร้างสปอร์ได้สูงที่สุด ส่วนที่อุณหภูมิ 28 31 22 และ 34 องศาเซลเซียส ให้จำนวนสปอร์รองลงมาตามลำดับ (Table 6)

5. การศึกษาความเร็วในการขยายที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อรา

พบว่าความเร็วในการหมุนเหวี่ยง 270 รอบต่อนาทีให้น้ำหนักแห้งสูงกว่าที่ความเร็ว 220 และ 170 รอบต่อนาที ตามลำดับ ขณะที่สูตรอาหาร SB ให้น้ำหนักแห้งสูงกว่าอาหาร PDB ด้วย โดยสายพันธุ์เชื้อราไม่มีผลต่อน้ำหนักแห้ง (Table 7)

ผลการวิเคราะห์ความสามารถในการสร้างสปอร์ของเชื้อรา พบว่าความเร็วในการขยายและสูตรอาหารมีผลต่อการสร้างสปอร์ โดยที่ความเร็ว 220 รอบต่อนาทีเชื้อราสร้างสปอร์ได้สูงสุดและที่ความเร็ว 270 และ 170 รอบต่อนาที ให้จำนวนสปอร์เฉลี่ยรองลงมาตามลำดับส่วนสูตรอาหารพบว่าเชื้อราสร้างสปอร์ในอาหาร SB ได้ดีกว่าในอาหาร PDB (Table 8)

วิจารณ์

การทดสอบเบื้องต้นเพื่อหาจำนวนวันที่เหมาะสมในการเลี้ยงเชื้อราในอาหารเหลว PDB โดยวัดน้ำหนักแห้งพบว่าเชื้อ *P. lilacinus* มีการเจริญสูงสุดในวันที่ 6 หลังจากนั้นน้ำหนักแห้งคงที่ (stationary phase) เมื่อคำนวณทางสถิติพบว่าน้ำหนักแห้งของวันที่ 5 6 และ 7 ไม่มีความแตกต่างที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ แสดงว่าจำนวนวันที่เหมาะสมในการเลี้ยงเชื้อรา *P. lilacinus* คือ 5 วัน

ผลการทดสอบอาหารเหลวที่เหมาะสมในการเจริญของเชื้อรา *P. lilacinus* โดยใช้เชื้อรา AK 1-05

(*Penicillium* sp.) เป็นตัวเปรียบเทียบเนื่องจากมีความสามารถในการเจริญได้รวดเร็วบน PDA และมีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับเชื้อราสกุล *Paecilomyces* ในแง่อนุกรมวิธาน (Samson, 1974) นอกจากนี้เชื้อรา AK 1-05 ยังมีความสามารถในการทำลายไข่ไส้เดือนฝอยได้ในระดับสูง คือ 96.5 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้อาหารเหลว 11 ชนิด ความเข้มข้น 3 ระดับ พบว่าน้ำหนักแห้งของเชื้อรา *P. lilacinus* ไม่แตกต่างจากน้ำหนักแห้งเชื้อรา *Penicillium* sp. ทั้งสูตรอาหารและความเข้มข้นมีผลต่อการเจริญของเชื้อรา ความเข้มข้นอาหาร 100 เปอร์เซ็นต์ เชื้อราให้น้ำหนักแห้งสูงสุด 6.24 กรัมต่อลิตร) ความเข้มข้นอาหาร 50 และ 25 เปอร์เซ็นต์ ให้น้ำหนักแห้งรองลงมา 4.440 และ 1.63 กรัมต่อลิตรตามลำดับ สูตรอาหารและความเข้มข้นที่ให้น้ำหนักแห้งสูงสุดได้แก่อาหาร SB ความเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาได้แก่ อาหาร SB ความเข้มข้น 50 เปอร์เซ็นต์ อาหาร SSV₈B และ CMV₈B ความเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์ อาหาร PDB ความเข้มข้น 50 เปอร์เซ็นต์ อาหาร CMV₈B ความเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์ อาหาร SMB และ CMB ความเข้มข้น 50 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ส่วนอาหารและความเข้มข้นที่เหลือให้น้ำหนักแห้งระหว่าง 0.380-5.224 กรัมต่อลิตร ซึ่งอยู่ในระดับต่ำ เชื้อรา *P. lilacinus* สร้างสปอร์ในอาหารเหลวสูงกว่าเชื้อรา *Penicillium* sp. สูตรอาหารและความเข้มข้นมีผลต่อความสามารถในการสร้างสปอร์ กล่าวคืออาหาร SB ให้จำนวนสปอร์เฉลี่ยสูงสุด อาหาร V₈B PDB SSV₈B SSB SMV₈B CMB SMB CMV₈B CZB และ FFCB ให้จำนวนสปอร์เฉลี่ยรองลงมาตามลำดับอาหารที่ความเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์ให้จำนวนสปอร์เฉลี่ยสูงสุดรองลงมาคืออาหารเข้มข้น 25 และ 50 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ซึ่งการทดลองนี้สอดคล้องกับงานทดลองของ Lohmann and Sikora (1989) ที่ทดสอบเชื้อรา *Dreschmeria coniospora*, *Verticillium balanoides* และ *Harposporium anguillulae* ใน

อาหารเหลว 2 ชนิดคือ corn meal (CM) และ potato dextrose (PD) พบว่าความเข้มข้นของอาหารมีผลต่อการเจริญและการสร้างเส้นใยของรา กล่าวคือ การเลี้ยงเชื้อราในอาหาร CM ซึ่งมีธาตุอาหารต่ำ เชื้อราสร้างสปอร์ได้มากกว่าเส้นใย และเมื่อเพิ่มธาตุอาหารลงไป เชื้อราสร้างทั้งสปอร์และเส้นใยเพิ่มขึ้น การเลี้ยงในอาหาร PD ซึ่งมีธาตุอาหารมากกว่า CM 12 เท่า มีการเจริญทางเส้นใยสูงแต่การผลิตสปอร์ต่ำหากลดปริมาณธาตุอาหารลงครึ่งหนึ่งของสูตรมาตรฐาน (สูตรมาตรฐานใช้ potato dextrose broth 24 กรัม) เชื้อราผลิตสปอร์และเส้นใยได้สูงขึ้น

แม้ว่าอาหาร SB ที่ความเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์ ให้น้ำหนักแห้งสูงสุด แต่น้ำหนักแห้งมิได้เป็นสองเท่าของอาหาร SB ที่ความเข้มข้น 50 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ที่ความเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเลี้ยงเชื้อรา มีผลทำให้อาหารชื้นเหนียว ใช้เวลาในการกรองเป็นเวลานาน ไม่สะดวกในการปฏิบัติ ส่วนอาหารที่มี V₈-juice มีราคาสูงจึงไม่เหมาะสมในการนำมาใช้ ดังนั้นสูตรอาหาร CMB SMB PDB และ SB ความเข้มข้น 50 เปอร์เซ็นต์จึงเป็นสูตรอาหารที่มีความเหมาะสมในการใช้เป็นอาหารทดสอบในขั้นตอนต่อไปเนื่องจากเป็นสูตรอาหารที่ประหยัดหาได้ง่าย ให้น้ำหนักแห้งและสปอร์สูง

การทดสอบหาความเป็นกรดต่าง (pH) ที่เหมาะสมในการเลี้ยงเชื้อราโดยทดสอบในอาหาร 4 ชนิด พบว่า pH และอาหารมีผลต่อการเจริญและการสร้างสปอร์ของเชื้อรา ที่ pH 6.5 เป็น pH ที่เหมาะสมในการเลี้ยงเชื้อรา *P. lilacinus* โดยให้จำนวนสปอร์และน้ำหนักแห้งสูงสุดอาหาร PDB และ SB ให้น้ำหนักแห้งเฉลี่ย 4.73 และ 4.55 กรัมต่อลิตร จำนวนสปอร์เฉลี่ย 2.5×10^7 และ 5.6×10^7 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ส่วนที่ pH 4.0 และ 5.0 ทำให้อาหาร SB เกิดการตกตะกอน ไม่สะดวกในการเตรียมและตรวจผลความเป็นกรดต่างที่เหมาะสมในการเลี้ยงเชื้อรา *P.*

lilacinus จากผลการทดลองนี้ (pH 6.5) สูงกว่า pH ที่เหมาะสมในการทำงานของเอนไซม์ chitinase (5.0-5.5) (Rodriguez-Kabana *et al.*, 1983)

ผลการทดสอบอุณหภูมิที่เหมาะสมแก่การเจริญของเชื้อรา *P. lilacinus* พบว่าอุณหภูมิและสูตรอาหารมีผลต่อการเจริญและการสร้างสปอร์ของเชื้อรา โดยอุณหภูมิที่เหมาะสมแก่การเจริญและสร้างสปอร์อยู่ในช่วง 25-31 องศาเซลเซียส กล่าวคือ ที่ อุณหภูมิ 31 องศาเซลเซียสเชื้อราให้น้ำหนักแห้งสูงสุด และอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ให้จำนวนสปอร์สูงสุด ใกล้เคียงกับรายงานของ Enrique *et al.* (1989) ว่า อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญของเชื้อรา *P. lilacinus* อยู่ในช่วง 24-30 องศาเซลเซียส สูตรอาหาร SB ให้น้ำหนักแห้งและจำนวนสปอร์สูงกว่า PDB เช่นเดียวกับผลการทดลองของปราโมทย์ (2521) ทดสอบเลี้ยงยีสต์ *Debaryomyces hansenii* ในน้ำนม ถั่วเหลืองที่ความเร็ว 500 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส pH 6.5 พบว่าเชื้อรามีการเจริญได้สูงสุด

ผลการทดสอบความเร็วในการเขย่าที่เหมาะสมแก่การเจริญของเชื้อรา *P. lilacinus* พบว่าความเร็วในการเขย่า 270 รอบต่อนาทีให้น้ำหนักแห้งสูงกว่าที่ความเร็ว 220 และ 170 รอบต่อนาที ที่ความเร็วในการเขย่า 220 รอบต่อนาทีเชื้อราให้จำนวนสปอร์สูงสุด เนื่องจากเครื่องเขย่าที่ใช้ไม่สามารถใช้ความเร็วรอบที่สูงกว่า 270 รอบต่อนาทีได้ จึงไม่อาจสรุปได้ว่าที่ความเร็วในการเขย่า 270 รอบต่อนาทีเป็นความเร็วที่เหมาะสม แต่จากผลการทดลองพอจะอธิบายได้ว่าความเร็วรอบที่สูงมีผลดีต่อการเลี้ยงเชื้อรา *P. lilacinus* ในอาหารเหลวเพราะเชื้อรานี้ต้องการออกซิเจนในการหายใจ ความเร็วรอบที่สูงสามารถเพิ่มปริมาณออกซิเจนให้อาหารเหลวได้สูตรอาหาร SB ให้น้ำหนักแห้งและจำนวนสปอร์สูงกว่าในอาหารPDB

สรุป

การทดสอบหาจำนวนวัน สูตรอาหาร และสภาพที่เหมาะสมในการเลี้ยงเชื้อรา *P. lilacinus* พบว่าจำนวนวันที่เหมาะสมในการเลี้ยงคือ 5 วัน สูตรอาหาร ความเป็นกรดต่าง (pH) ของอาหาร อุณหภูมิ และความเร็วในการเขย่ามีผลต่อการเจริญและสร้างสปอร์ของเชื้อรากล่าวคือสูตรอาหาร SB และ PDB ที่ความเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์ให้น้ำหนักแห้งสูงสุด (12.48 กรัมต่อลิตร) แต่เนื่องจากข้อจำกัดในเรื่องความสะดวกในการปฏิบัติและต้นทุนการผลิตพบว่า สูตรอาหาร SB และ PDB ความเข้มข้น 50 เปอร์เซ็นต์ มีความเหมาะสมที่สุดโดยให้น้ำหนักแห้งเฉลี่ย 0.6623-1.0114 กรัมต่อลิตรและให้จำนวนสปอร์สูงสุด 2.81×10^7 ถึง 6.6×10^7 ส่วนความเป็นกรดต่างที่เหมาะสม (pH) พบว่าอาหาร SB และ PDB ที่ pH 6.5 เชื้อราให้น้ำหนักแห้งสูงสุด 4.55 ถึง 4.73 กรัมต่อลิตร และจำนวนสปอร์เฉลี่ย 5.6×10^7 และ 2.5×10^7 สปอร์ต่อมิลลิลิตรตามลำดับ อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเลี้ยงคือ 31 องศาเซลเซียสเชื้อราให้น้ำหนักแห้งสูงสุดเฉลี่ย 6.67 กรัมต่อลิตร ความเร็วที่เหมาะสมในการเขย่า 220-270 รอบต่อนาที โดยที่ความเร็ว 220 รอบต่อนาทีเชื้อราให้จำนวนสปอร์สูงสุด 2.23×10^7 สปอร์ต่อมิลลิลิตร และที่ความเร็ว 270 รอบต่อนาทีเชื้อราให้น้ำหนักแห้งสูงสุด 12.29 กรัมต่อลิตร

คำขอบคุณ

งานวิจัยส่วนนี้เป็นส่วนหนึ่งของโครงการวิจัย ซึ่งได้รับการสนับสนุนด้านการเงินจากศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ ซึ่งผู้เขียนขอขอบพระคุณมา ณ ที่นี้ด้วย

เอกสารอ้างอิง

- ปราโมทย์ ศิริโรจน์. 2521. การคัดเลือกสายพันธุ์และการคัดเลือกยีสต์ที่มีโปรตีนสูงในน้ำทิ้งจากขบวนการแปรรูปอาหารถั่วเหลือง. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- สุภกิจ สุขใจมิตร, สืบศักดิ์ สนธิรัตน์, และสมชาย สุขะกุล. 2531. การใช้ราในดิน *Paecilomyces lilacinus* (Thome.) Samson ควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม (*Meloidogyne incognita* Chitwood, 1949) ศัตรูผักกาดหอม. วารสารโรคพืช 8: 84-90.
- Enrique, C., K. R. Barker, and L. A. Nelson. 1989. Growth of isolates of *Paecilomyces lilacinus* and their efficacy in biocontrol of *Meloidogyne incognita* in tomato. J. Nematol. 21: 164-172.
- Lohmann, U. and R. A. Sikora. 1989. Mass production of endoparasitic fungi; *Dreschmeria coniospora*, *Verticillium balanoides* and *Harposporium anguillulae* in liquid culture. Nematologica 35:97-104.
- Papavizas, G. C. , M. T. Dunn, J. A. Lewis, and J. Beagle-Ristaino. 1984. Liquid fermentation technology for experimental production of bio-control fungi. Phytopathology 74:1171-1175.
- Rodriguez-Kabana, R. , G. Godoy, G. Morgan-Jones and R. A. Shelby. 1983. The determination of soil chitinase activity. Plant and Soil 75: 95-106.
- Samson, R. A. 1974. *Paecilomyces* and some allied Hyphomycetes. Centraalbureau voor Schimmelcultures, Baarn. 119 p.