



การระบุชนิดของรา *Trichoderma* species และการคัดกรองสายพันธุ์ที่สร้าง
เอนไซม์ไคตินเนสเบื้องต้น

Identification of *Trichoderma* Species and Primary Screening of Chitinase
Producing Strains

โชษิตา อุบลสุข

Chosita Ubolsuk

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาโรคพืชวิทยา

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the

Degree of Master of Science in Plant Pathology

Prince of Songkla University

2564

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์



การระบุชนิดของรา *Trichoderma* species และการคัดกรองสายพันธุ์ที่สร้าง
เอนไซม์ไคตินเนสเบื้องต้น

Identification of *Trichoderma* Species and Primary Screening of Chitinase
Producing Strains

โชษิตา อุบลสุข

Chosita Ubolsuk

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาโรคพืชวิทยา

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the

Degree of Master of Science in Plant Pathology

Prince of Songkla University

2564

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ชื่อวิทยานิพนธ์ การระบุชนิดของรา *Trichoderma* species และการคัดกรองสายพันธุ์ที่สร้างเอนไซม์
ไคติเนสเบื้องต้น

ผู้เขียน นางสาวโชษิตา อุดลสุข

สาขาวิชา โรคพืชวิทยา

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

คณะกรรมการสอบ

.....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ชนินันท์ พรสุริยา)

.....ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร. อนุรักษ์ สันป่าเป้า)

.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ชนินันท์ พรสุริยา)

.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ธัญชนก ไชยรินทร์)

.....กรรมการ
(อาจารย์ ดร. พุทธิรักษ์ ชมนันติ)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อนุมัติให้บัณฑิตวิทยาลัยนี้เป็นส่วน
หนึ่งของการศึกษา ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาโรคพืชวิทยา

.....
(ศาสตราจารย์ ดร. ดำรงค์ดี ฟ้ารุ่งแสง)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ขอรับรองว่า ผลงานวิจัยนี้มาจากการศึกษาวิจัยของนักศึกษาเอง และได้แสดงความขอบคุณบุคคลที่มี
ส่วนช่วยเหลือแล้ว

ลงชื่อ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ชนินันท์ พรสุริยา)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

ลงชื่อ

(นางสาวโชษิตา อุลลสุข)

นักศึกษา

ข้าพเจ้าขอรับรองว่า ผลงานวิจัยนี้ไม่เคยเป็นส่วนหนึ่งในการขออนุมัติปริญญาในระดับใดมาก่อน และไม่ได้ถูกใช้ในการยื่นขออนุมัติปริญญาในขณะนี้

ลงชื่อ

(นางสาวโชษิตา อุดลสุข)

นักศึกษา

ชื่อวิทยานิพนธ์	การระบุชนิดของรา <i>Trichoderma</i> species และการคัดกรองสายพันธุ์ที่สร้างเอนไซม์ไคติเนสเบื้องต้น
ผู้เขียน	นางสาวโชษิตา อุบลสุข
สาขาวิชา	โรคพืชวิทยา
ปีการศึกษา	2564

บทคัดย่อ

Trichoderma species เป็นราผู้ย่อยสลายที่พบได้ทั่วไปในดิน ปัจจุบันทราบชนิดของรา *Trichoderma* species แล้วมากกว่า 300 ชนิด ราวบางชนิดในสกุลนี้มีคุณสมบัติเป็นปฏิปักษ์ต่อราสาเหตุโรคพืช โดยสร้างเอนไซม์ไคติเนสย่อยผนังเซลล์ การศึกษารา *Trichoderma* species ในประเทศไทยเน้นเกี่ยวกับการประยุกต์ใช้ทางการเกษตรขณะที่การศึกษาเกี่ยวกับการระบุชนิดมีเพียงเล็กน้อย ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อระบุชนิดของรา *Trichoderma* species และคัดกรองสายพันธุ์ที่สร้างเอนไซม์ไคติเนส โดยเก็บตัวอย่างดินบริเวณใต้ต้นไม้จาก 23 ตำแหน่งในพื้นที่ภาคใต้ของประเทศไทย มาแยกและระบุชนิดรา *Trichoderma* species จากลักษณะทางสัณฐานวิทยา ร่วมกับเทคนิคทางชีวโมเลกุล ผลการทดลองแยกเชื้อได้ 148 ไอโซเลต และสามารถระบุชนิดของรา *Trichoderma* species ได้ 16 ชนิด ได้แก่ *T. afarasin* (4 ไอโซเลต), *T. amazonicum* (1 ไอโซเลต), *T. atroviride* (8 ไอโซเลต), *T. brevicompactum* (9 ไอโซเลต), *T. camerunense* (2 ไอโซเลต), *T. erinaceus* (8 ไอโซเลต), *T. hamatum* (1 ไอโซเลต), *T. koningiopsis* (9 ไอโซเลต), *T. lentiforme* (11 ไอโซเลต), *T. lentinulae* (1 ไอโซเลต), *T. longibrachiatum* (1 ไอโซเลต), *T. parareesei* (4 ไอโซเลต), *T. spirale* (7 ไอโซเลต), *T. taiwanense* (1 ไอโซเลต), *T. tomentosum* (8 ไอโซเลต) และ *T. virens* (10 ไอโซเลต) และยังไม่สามารถระบุชนิดได้จำนวน 63 ไอโซเลต ผลการทดสอบการสร้างเอนไซม์ไคติเนสเบื้องต้นบนอาหาร chitinase detection medium พบว่ารา *Trichoderma* species ที่แยกได้ทุกไอโซเลตสามารถสร้างเอนไซม์ไคติเนสได้ ดังนั้นรา *Trichoderma* species ทุกไอโซเลตที่แยกได้ในงานวิจัยนี้สามารถนำไปศึกษาคุณสมบัติการเป็นปฏิปักษ์เพื่อควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี

Thesis Title	Identification of <i>Trichoderma</i> Species and Primary Screening of Chitinase Producing Strains
Author	Miss Chosita Ubolsuk
Major Program	Plant Pathology
Academic Year	2021

ABSTRACT

Trichoderma species are ubiquitous saprophytic fungi commonly found in soil. Over 300 *Trichoderma* species are currently recognized. Some species of the *Trichoderma* have antagonistic properties against plant pathogenic fungi by producing chitinase enzyme to degrade cell walls. The studies on *Trichoderma* species in Thailand focus on their application in agriculture, while only few studies on species identification are available. Therefore, the aim of this research was to identify the species and screen chitinase-producing strains of *Trichoderma* species. Soil samples were collected under trees from 23 sites in Southern Thailand to isolate and identify species of *Trichoderma* based on combined morphological and molecular analysis. The results showed that 148 *Trichoderma* isolates were isolated and 16 species were identified as *T. afarasin* (4 isolates), *T. amazonicum* (1 isolate), *T. atroviride* (8 isolates), *T. brevicompactum* (9 isolates), *T. camerunense* (2 isolates), *T. erinaceus* (8 isolates), *T. hamatum* (1 isolate), *T. koningiopsis* (9 isolates), *T. lentiforme* (11 isolates), *T. lentinulae* (1 isolate), *T. longibrachiatum* (1 isolate), *T. parareesei* (4 isolates), *T. spirale* (7 isolates), *T. taiwanense* (1 isolate), *T. tomentosum* (8 isolates) and *T. virens* (10 isolates), while 63 isolates have not yet been identified. The primary screening of chitinase production on chitinase detection medium showed that all isolated *Trichoderma* species produced chitinase. Therefore, all isolated *Trichoderma* species in this study could be further studied for their antagonistic properties for biological control of plant pathogens.

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ชนินันท์ พรสุริยา อาจารย์ที่
ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่ให้ความกรุณาให้คำปรึกษาและชี้แนะแนวทางในการทำวิทยานิพนธ์จน
วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. อนุรักษ์ สันป่าเป้า ประธานกรรมการสอบ
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ธัญชนก ไชยรินทร์ และอาจารย์ ดร. พุทธิรักษ์ ชมนันติ คณะกรรมการ
สอบวิทยานิพนธ์ ที่ให้ความกรุณาชี้แนะแนวทางและคำปรึกษาอันเป็นประโยชน์ต่อการแก้ไข
วิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณสาขานวัตกรรมการเกษตรและการจัดการ วิชาเอกการจัดการ
ศัตรูพืช (โรคพืชวิทยา) คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่อำนวยความสะดวก
สะดวกสถานที่ทำวิจัย รวมถึงบุคลากรที่คอยให้ความช่วยเหลืองานด้านธุรการ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากสถานวิจัยความเป็นเลิศเทคโนโลยีชีวภาพ
เกษตรและทรัพยากรธรรมชาติ ระยะที่ 2 คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ และ
ทุนโครงการเรียนดี คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ไชษิตา อุลลสุข

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	(5)
Abstract	(6)
กิตติกรรมประกาศ	(7)
สารบัญ	(8)
รายการตาราง	(9)
รายการภาพ	(10)
บทที่ 1	1
บทนำต้นเรื่อง	1
ตรวจเอกสาร	3
วัตถุประสงค์	26
บทที่ 2	27
วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการ	27
บทที่ 3	35
ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง	35
บทที่ 4	134
สรุปผลและข้อเสนอแนะ	134
เอกสารอ้างอิง	135
ประวัติผู้เขียน	144

รายการตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ไพรเมอร์ที่ใช้ในการระบุชนิดของรา <i>Trichoderma</i> species	10
2	กลุ่มของ <i>Trichoderma</i> species	11
3	รายชื่ออย่างเป็นทางการของรา <i>Trichoderma</i> species	13
4	รายชื่อรา <i>Trichoderma</i> species จาก Mycobank และฐานข้อมูลใน NCBI	20
5	NCBI GenBank accessions ของรา <i>Trichoderma</i> species ที่ใช้สร้าง แผนภูมิวิวัฒนาการ	29
6	ตำแหน่งที่เก็บตัวอย่างดินและจำนวนรา <i>Trichoderma</i> species ที่แยกได้	35
7	การจำแนกรา <i>Trichoderma</i> species โดยใช้ลักษณะโคนิติโอฟอร์	37
8	รา <i>Trichoderma</i> species ที่เริ่มสร้างเอนไซม์ไคติเนสในช่วง 1–14 วัน	129
9	ลักษณะรา <i>Trichoderma</i> species และการสร้างเอนไซม์ไคติเนส	130

รายการภาพ

ภาพที่		หน้า
1	ลักษณะโคโคนี้และโครงสร้างที่ใช้บรรยายลักษณะสัณฐานวิทยาของรา <i>Trichoderma</i> species	8
2	Conidiophores type ของรา <i>Trichoderma</i> species	9
3	Maximum likelihood phylogenetic tree ของ <i>Brevicompactum</i> clade ที่ตำแหน่งยีน translation elongation factor 1 alpha (<i>tef1</i>)	40
4	Maximum likelihood phylogenetic tree ของ <i>Harzianum</i> clade ที่ตำแหน่งยีน translation elongation factor 1 alpha (<i>tef1</i>)	41
5	Maximum likelihood phylogenetic tree ของ <i>Longibrachiatum</i> clade ที่ตำแหน่งยีน translation elongation factor 1 alpha (<i>tef1</i>)	42
6	Maximum likelihood phylogenetic tree ของ <i>Strictipile</i> clade ที่ตำแหน่งยีน translation elongation factor 1 alpha (<i>tef1</i>)	43
7	Maximum likelihood phylogenetic tree ของ <i>Virens</i> clade ที่ตำแหน่งยีน translation elongation factor 1 alpha (<i>tef1</i>)	43
8	Maximum likelihood phylogenetic tree ของ <i>Viride</i> clade ที่ตำแหน่งยีน translation elongation factor 1 alpha (<i>tef1</i>)	44
9	<i>Trichoderma afarasin</i> ไอโซเลต TriKrb 2-3	46
10	<i>Trichoderma amazonicum</i> ไอโซเลต TriKrb 2-7	48
11	<i>Trichoderma atroviride</i> ไอโซเลต TriSn 1-1	50
12	<i>Trichoderma brevicompactum</i> ไอโซเลต TriYI 1-2	52
13	<i>Trichoderma camerunense</i> ไอโซเลต TriPN 5-8	54
14	<i>Trichoderma erinaceus</i> ไอโซเลต TriPtL 1-10	56
15	<i>Trichoderma hamatum</i> ไอโซเลต TriPhk 2-4	58
16	<i>Trichoderma koningiopsis</i> ไอโซเลต TriSk 3-4	60
17	<i>Trichoderma lentiforme</i> ไอโซเลต TriPtN 1-5	62
18	<i>Trichoderma lentinulae</i> ไอโซเลต TriPN 4-1	64
19	<i>Trichoderma longibrachiatum</i> ไอโซเลต TriYI 1-7	66

รายการภาพ

ภาพที่		หน้า
20	<i>Trichoderma parareesei</i> ไช้เลต TriKrb 2-2	68
21	<i>Trichoderma spirale</i> ไช้เลต TriSk 2-1	70
22	<i>Trichoderma taiwanense</i> ไช้เลต TriPN 3-2	72
23	<i>Trichoderma tomentosum</i> ไช้เลต TriSt 1-1	74
24	<i>Trichoderma virens</i> ไช้เลต TriPtn 1-7	76
25	<i>Trichoderma</i> sp. ไช้เลต TriKrb 2-1	78
26	<i>Trichoderma</i> sp. ไช้เลต TriChP 2-1	80
27	<i>Trichoderma</i> sp. ไช้เลต TriSt 3-2	82
28	<i>Trichoderma</i> sp. ไช้เลต TriPN 4-4	84
29	<i>Trichoderma</i> sp. ไช้เลต TriTrG 3-10	86
30	<i>Trichoderma</i> sp. ไช้เลต TriChP 1-1	88
31	<i>Trichoderma</i> sp. ไช้เลต TriNkr 1-1	90
32	<i>Trichoderma</i> sp. ไช้เลต TriPhk 2-2	92
33	<i>Trichoderma</i> sp. ไช้เลต TriPN 2-2	94
34	<i>Trichoderma</i> sp. ไช้เลต TriPN 4-2	96
35	<i>Trichoderma</i> sp. ไช้เลต TriPN 5-7	98
36	<i>Trichoderma</i> sp. ไช้เลต TriPtL 1-1	100
37	<i>Trichoderma</i> sp. ไช้เลต TriPtL 1-4	102
38	<i>Trichoderma</i> sp. ไช้เลต TriPtL 1-6	104
39	<i>Trichoderma</i> sp. ไช้เลต TriPtn 1-3	106
40	<i>Trichoderma</i> sp. ไช้เลต TriPtn 1-8	108
41	<i>Trichoderma</i> sp. ไช้เลต TriPtn 1-2	110
42	<i>Trichoderma</i> sp. ไช้เลต TriSt 1-11	112
43	<i>Trichoderma</i> sp. ไช้เลต TriPN 5-1	114
44	<i>Trichoderma</i> sp. ไช้เลต TriPtn 1-4	116
45	<i>Trichoderma</i> sp. ไช้เลต TriSt 3-3	118

รายการภาพ

ภาพที่		หน้า
46	<i>Trichoderma</i> sp. ไอโซเลต TriKrb 1-3	120
47	<i>Trichoderma</i> sp. ไอโซเลต TriNr 1-4	122
48	<i>Trichoderma</i> sp. ไอโซเลต TriYl 1-6	124
49	<i>Trichoderma</i> sp. ไอโซเลต TriYl 1-8	126
50	รา <i>Trichoderma</i> species ที่สร้างเอนไซม์ไคตินเนสบนอาหาร chitinase detection medium	128

บทที่ 1

บทนำ

บทนำต้นเรื่อง

รา *Trichoderma* species (วงศ์: Hypocreaceae ไฟลัม: Ascomycota, อาณาจักร: Fungi) ถูกพบครั้งแรกโดยนักราวิทยาชื่อ Christiaan Hendrik Persoon ในปี ค.ศ. 1794 ราสกุลนี้พบได้ทั่วโลกในสภาพภูมิประเทศที่แตกต่างกัน (Michal *et al.*, 2015) โดยพบในดิน ซากไม้ แหล่งน้ำตามธรรมชาติ พืช สัตว์ อากาศ ปุ๋ยหมักหรืออินทรีย์วัตถุ และเป็นปรสิตของราบางชนิด (Harman *et al.*, 2004; Berg *et al.*, 2005; Michal *et al.*, 2015) รา *Trichoderma* มีบทบาทสำคัญในการเป็นผู้ย่อยสลายซากไม้ และบางชนิดเป็นราเอนโดไฟท์ (endophyte) (Gazis and Chaverri, 2010; Chaverri *et al.*, 2011) เริ่มแรกรา *Trichoderma* species ได้รับความสนใจในบทบาทที่สร้างเอนไซม์ย่อยเซลลูโลส (cellulolytic enzyme) (Michal *et al.*, 2015) ต่อมาพบว่าราชนิดนี้สามารถสร้างสารหลายชนิดที่มีความสำคัญทางการเกษตร โดยมีคุณสมบัติในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช และเป็นราปฏิปักษ์ควบคุมราสาเหตุโรคพืช (Stewart and Hill, 2014)

จากการสืบค้นข้อมูลพบว่ามีการบรรยายชื่อที่ถูกต้องของรา *Trichoderma* species ในอดีตจนถึงปัจจุบัน (พ.ศ. 2564) ทั้งหมด 316 รายชื่อ (Bissett *et al.*, 2015; Sun *et al.*, 2016; Chen *et al.*, 2017; Zhang *et al.*, 2017; Gu *et al.*, 2020; Rodriguez *et al.*, 2021) ในประเทศไทยการศึกษาเพื่อระบุชนิดที่ถูกต้องของรา *Trichoderma* species มีเพียงไม่กี่ชนิดประมาณ 22 ชนิด คือ *T. asperellum*, *T. atroviride*, *T. aureoviride*, *T. brevicompactum*, *T. citrinoviride*, *T. crassum*, *T. erinaceus*, *T. ghanense*, *T. hamatum*, *T. harzianum*, *T. koningii*, *T. longibrachiatum*, *T. piluliferum*, *T. pleuroticola*, *T. polyalthiae*, *T. polysporum*, *T. pseudokoningii*, *T. reesei*, *T. strengosum*, *T. thailandicum*, *T. virens* และ *T. viride* (จิระเดช แจ่มสว่าง และคณะ, 2544; จิระเดช แจ่มสว่าง, 2563; Bissett *et al.*, 2015; Nuankaew *et al.*, 2018) จากรายชื่อรา *Trichoderma* ในไทยที่กล่าวมาพบว่ารา *T. asperellum*, *T. hamatum*, *T. harzianum* และ *T. viride* สามารถสร้างเอนไซม์ไคติเนส (Khatri *et al.*, 2017 และ Loc *et al.*, 2020) ซึ่งเอนไซม์ไคติเนสมีความสำคัญในการย่อยไคตินที่เป็นองค์ประกอบของผนังเซลล์ราสาเหตุโรคพืช จึงเป็นที่มาของโจทย์วิจัยที่ต้องการรวบรวมและระบุชนิดของรา *Trichoderma* ในภาคใต้ของประเทศไทย และคัดกรองสายพันธุ์ที่มีความสามารถในการสร้าง

เอนไซม์โคติเนส เพื่อเป็นแนวทางในการคัดกรองสายพันธุ์ที่สามารถนำมาใช้ควบคุมราสาเหตุโรคพืชต่อไป

ตรวจเอกสาร

รา *Trichoderma* species

รา *Trichoderma* species ถูกพบเป็นครั้งแรกเมื่อ 200 กว่าปีที่ผ่านมา โดยนักวิทยาศาสตร์ชาวดัตช์ชื่อ Christiaan Hendrik Persoon ในปี ค.ศ. 1794 ซึ่งกล่าวว่าราชนิดนี้มีลักษณะคล้ายกับราในสกุล *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Fusarium* และ *Penicillium* ซึ่งรา *Trichoderma* species จัดอยู่ในสกุล *Trichoderma* (*Hypocreales*, *Ascomycota*) เป็นราที่อาศัยอยู่ในดินและเศษซากพืช การจำแนกชนิดส่วนใหญ่ใช้ระยะเวลาการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ ราชนิดนี้เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อได้รวดเร็ว และสร้างโคนิเดีย (conidia) เป็นจำนวนมาก ลักษณะโคนิเดียบนอาหารเลี้ยงเชื้อมีสีเขียว ด้านล่างไม่มีสี สีเหลืองอ่อน สีเหลือง สีเหลืองอำพัน หรือสีเหลืองอมเขียว และส่วนใหญ่สร้างคลาไมโดสปอร์ (chlamydospore) (Gams *et al.*, 1998) ระยะเวลาสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศเรียกว่า *Hypocrea* มีลักษณะเป็นสโตรมา (stroma) เกาะตามซากไม้ ภายในบรจุเพอริทีเซียม (perithecium) ซึ่งมีแอสคัส (ascus) ที่บรรจุแอสโคสปอร์ (ascospores)

อนุกรมวิธานของรา *Trichoderma* species

ปัจจุบันการจัดอันดับอนุกรมวิธานของรา *Trichoderma* species สามารถจำแนกตามอันดับของราจากรายงานของ Tedersoo และคณะ (2018) และ Blaszczyk และคณะ (2014) ดังนี้

หมวด (Division): Opisthokonta

เขต (Superkingdom): Holomycota

อาณาจักร (Kingdom): Fungi

อาณาจักรย่อย (Subkingdom): Dikarya

ไฟลัม (Phylum): Ascomycota

ไฟลัมย่อย (Subphylum): Pezizomyconita

ชั้น (Class): Sordariomycetes

อันดับ (Order): Hypocreales

วงศ์ (Family): Hypocreaceae

สกุล (Genus): *Trichoderma*

อาหารสำหรับเลี้ยงรา *Trichoderma* species

รา *Trichoderma* species เจริญได้ดีในอาหาร potato dextrose agar (PDA), cornmeal dextrose agar (CMD), cornmeal agar (CMA) และ Spezieller Nährstoffarmer

(SNA) ซึ่งใช้สังเกตการเจริญของเส้นใย ลักษณะโคโลนี และสีโคโลนี (Jaklitsch, 2011) อาหารที่ใช้สำหรับเก็บรักษาราคินนี้ได้ดีคือ CMA (Samuels *et al.*, 2015)

อาหารที่ใช้แยก *Trichoderma* species ในดิน จากรายงานของ Samuels และคณะ (2015) คือ modified PDA (PDAm) ซึ่งใช้แยก *Trichoderma* species ได้จำนวนมาก *Trichoderma* medium E (TME) ใช้แยก *Trichoderma* species ในดินที่มีการปนเปื้อนราในอันดับ Mucorales เช่น *Rhizopus* spp. และ *Mucor* spp. เป็นต้น *Trichoderma* selective media (TSM) *Trichoderma harzianum* selective agar และ selective medium ซึ่งใช้สำหรับแยก *Trichoderma* species ในดินที่มีการปนเปื้อนสิ่งมีชีวิตคล้ายราจำพวก oomycetes

การระบุชนิดของรา *Trichoderma* species โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา

รา *Trichoderma* species สามารถระบุชนิดโดยศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา ลักษณะทางชีวโมเลกุล และวิธีการทางเคมี ซึ่งมีรายละเอียดดังต่อไปนี้

การศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยานอาหารเลี้ยงเชื้อ

การเจริญของรา *Trichoderma* species สามารถศึกษาบนอาหารเลี้ยงเชื้อ 3 ชนิด คือ PDA, CMD และ SNA (Jaklitsch, 2009; Jaklitsch, 2011) โดยสังเกตลักษณะโคโลนีดังนี้

อัตราการเจริญของโคโลนี (colony growth rate): นิยมวัดขนาดรัศมีของโคโลนีราอายุ 7 วัน ที่อุณหภูมิ 25–30°C

ลักษณะของโคโลนี: รา *Trichoderma* species มีการสร้างโคโคนี้เดียวในโครงสร้างที่แตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิด โดยโครงสร้างเหล่านี้ส่งผลต่อลักษณะและพื้นผิวของโคโลนี ซึ่งมีรูปแบบการสร้างโคโคนี้ดังนี้ (ภาพที่ 1)

- Fertile pustule: โครงสร้างที่เกิดจากเส้นใยจำนวนมากมารวมกันอย่างหนาแน่น มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1–5 มิลลิเมตร ซึ่งมีการสร้างไฟอะไลด์ (conidiophores) ขนาดเล็กจำนวนมาก (ภาพที่ 1ก)

- Effuse conidia: โครงสร้างที่เกิดจากการสร้างโคโคนี้เดี่ยวบน aerial mycelia หรือชั้นผิวของเส้นใยที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ โคนิดิโอฟอร์ไม่รวมกันเป็นกระจุก (ภาพที่ 1ข)

- Pustule and effuse conidia: รา *Trichoderma* บางชนิดมีการสร้างโคโคนี้เดี่ยวแบบ effuse ก่อนรวมกันเป็น pustules

- Granules หรือ shrubs: โครงสร้างที่เกิดจากการรวมกันของโคโคนี้เดี่ยวมีลักษณะคล้ายเม็ดทรายขนาดเล็ก (ภาพที่ 1ค)

- Conidiophores tufts: โครงสร้างที่เกิดจากการรวมตัวกันของเส้นใยอย่างหลวม ๆ และสร้างโคนิดีโอฟอร์บริเวณชั้นนอก แต่ไม่หนาแน่นเท่า pustules (ภาพที่ 1ข)

กลิ่นของโคโลนี (colony odours): รา *Trichoderma* บางชนิดในกลุ่ม Viride clade สามารถผลิตกลิ่นเฉพาะที่คล้ายกับมะพร้าว

สีของโคนิเดีย (conidium colour): รา *Trichoderma* species มักสร้างโคนิเดียสีเขียวอมเทาจนถึงสีเขียวเข้มบนอาหาร CMD และ SNA แต่บางชนิดสร้างโคนิเดียใสไม่มีสี หรือสีเหลือง บนอาหารชนิดอื่น เช่น อาหาร PDA

กลุ่มของเหลว (exudates): กลุ่มของเหลวจำนวนมากที่รา *Trichoderma* species ผลิตขึ้น โดยมีสีตั้งแต่ ใสไม่มีสี สีเขียว หรือสีเหลืองอมน้ำตาล (ภาพที่ 1ค)

การสร้างรงควัตถุบนอาหารเลี้ยงเชื้อ: รา *Trichoderma* species บางชนิดสามารถสร้างรงควัตถุ (pigment) สีน้ำตาลหรือเหลืองบนอาหาร PDA และ CMD (ภาพที่ 1ง) โดยส่วนใหญ่ไม่สร้างรงควัตถุบนอาหาร SNA

วงชั้นของโคโลนี (zonation): บริเวณที่มีการสร้างโคนิดีโอฟอร์ชั้นใหม่ของโคโลนีทำให้เห็นเป็นวงชั้น (ภาพที่ 1จ)

การศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์

การศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของรา *Trichoderma* species ส่วนใหญ่นิยมสังเกตโครงสร้างภายใต้กล้องจุลทรรศน์ด้วยวิธีการ slide culture บนอาหาร CMD หรือ SNA ที่อายุประมาณ 3 วัน (Jaklitsch, 2009) โดยศึกษาลักษณะดังนี้

คลาไมโดสปอร์ ของรา *Trichoderma* species ส่วนใหญ่มีผนังหนาอยู่บริเวณระหว่างเซลล์เส้นใย หรือส่วนปลายของแขนงเส้นใยขนาดสั้น มีรูปร่างแบบ subglobose ถึง ovoidal (ภาพที่ 1ฉ) รูปร่างแบบ pyriform หรือมีรูปร่างเข้ากับเซลล์ที่เป็นแหล่งกำเนิด โดยปกติมักอยู่แบบเดี่ยว ๆ มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 20 ไมโครเมตร หรือน้อยกว่า (Samuels et al., 2015)

โคนิดีโอฟอร์ เป็นโครงสร้างหนึ่งที่สำคัญในการอธิบายลักษณะของรา *Trichoderma* species โดยมีการแบ่งประเภทตามรายงานของ Jaklitsch (2009) และ Samuels และคณะ (2015) ดังนี้

- **Acremonium-type:** โคนิไดโอฟอรั่มีลักษณะเป็นแบบเดี่ยว โดยปกติสร้างไฟอะไลด์ จำนวนไม่กี่ไฟอะไลด์เท่านั้น ซึ่งในบางครั้งไฟอะไลด์อาจถูกสร้างโดยตรงจากแกนหลัก (ภาพที่ 2ก)

- **Gliocladium-type:** โคนิไดโอฟอรั่มีลักษณะเหมือนไม้ต่อเนื่องกัน และอาจยาวถึง 1 มิลลิเมตร โดยสร้างไฟอะไลด์เรียงกันอยู่ใน penicillus (ภาพที่ 2ข)

- **Longibrachiatum-type:** โคนิไดโอฟอรั่มีลักษณะประกอบด้วยแกนหลักยาวที่เต็มไปด้วยไฟอะไลด์แบบเดี่ยว (solitary phialides) อยู่ต่ำกว่าส่วนปลายของแกนหลักก่อนเกิด fertile branches ตั้งฉากกับแกนหลัก โดยทั่วไปแตกแขนงอยู่แบบเดี่ยว ๆ ไม่จับกันเป็นคู่ และสร้างไฟอะไลด์แบบเดี่ยว ซึ่งลักษณะเด่นของ Longibrachiatum-type เป็นการสร้างแขนงที่ประกอบด้วยเซลล์ 2 เซลล์ คือ basal cell ที่เกิดจากแกนหลักหรือ fertile branch และ terminal ไฟอะไลด์แบบเดี่ยว ซึ่งมีการสร้างไฟอะไลด์ขนาดสั้น รูปร่างแบบ spurlike ด้านข้าง basal cell ที่บริเวณผนังกันระหว่าง terminal และ basal cell ลักษณะแบบนี้เรียกว่า intercalary phialide ส่วนของไฟอะไลด์มีรูปร่างแบบ lageniform, nearly cylindrical, hooked หรือ sinuous และมีความยาวเป็น 3 เท่าของความกว้าง supporting cell (ภาพที่ 2ค)

- **Pachybasium-type:** โคนิไดโอฟอรั่มีรูปแบบการแตกแขนงของแกนหลักยึดยาวออกไปกลายเป็น fertile หรือ sterile hair ประกอบด้วย primary fertile branches มีความยาวมากกว่า 3 หรือ 4 เซลล์ และ secondary fertile branches ความยาวลดลงเหลือ 1 เซลล์ ไฟอะไลด์ขนาดประมาณ 1.5–2.0 ไมโครเมตร (ยาว/กว้าง) อัดแน่นอยู่บริเวณส่วนปลายแขนง และส่วนใหญ่มีรูปร่างแบบ ampulliform (ภาพที่ 2ง)

- **Pyramidal-type:** โคนิไดโอฟอรั่มีลักษณะการแตกแขนงแบบ pairs หรือ verticils และไม่มีการเกิด sterile hairs ในส่วนปลายของแกนหลัก ประกอบด้วย fertile branches 3–4 ก้านต่อเนื่องกัน และอยู่ติดกันหรือห่างกันมาก โดย fertile branches มีการเพิ่มระยะห่างจากส่วนปลายของแกนหลัก และ rebranch ในส่วนของ secondary branches มีการลดระยะห่างจากตำแหน่งที่แตกแขนง โดยส่วนปลายของ secondary branches และส่วนปลายของแกนหลักเป็นแหล่งกำเนิดไฟอะไลด์ที่มีรูปร่างแบบ lageniform ขนาดมากกว่า 2 ไมโครเมตร (ยาว/กว้าง) จำนวนไม่เกิน 5 ไฟอะไลด์ ต่อ 1 ก้านแขนง และโดยทั่วไปสร้างไฟอะไลด์ตั้งฉากกับเซลล์ที่เป็นแหล่งกำเนิด ซึ่งแยกออกจากกัน (divergent) หรือเป็นรูปกากบาท (cruciate) นอกจากนี้ในบางกรณีไฟอะไลด์อาจถูกสร้างแบบเดี่ยวหรือเป็นคู่ บางครั้ง terminal phialides มีรูปร่างยาวและแคบกว่าปกติ (ภาพที่ 2ง)

- **Verticillium-type:** โคนิไดโอฟอรัมมีลักษณะการแตกแขนงแบบ sparsely และสร้างไฟอะไลด์โดยตรงจากแกนหลักอยู่ในระดับเดียวกัน (ภาพที่ 2จ)

ขนาดโคนิเดีย (conidial dimensions): โคนิเดียของรา *Trichoderma* species ส่วนใหญ่มีช่วงความยาวที่ 2.0 ถึง 3.5 ไมโครเมตร และกว้าง 2.0 ถึง 3.0 ไมโครเมตร

รูปร่างของโคนิเดีย (conidial morphology): โคนิเดียของรา *Trichoderma* species ส่วนใหญ่มีรูปร่างแบบ ellipsoid ถึง oblong (ภาพที่ 1ฉ) และมีอัตราส่วนของความยาวต่อความกว้าง (ratio of length to width: L/W) อยู่ที่ 1.5 หรือมากกว่า นอกจากนี้บางชนิดมีรูปร่างแบบ subglobose ถึง globose ค่า L/W อยู่ที่ 1.0–1.2 หรือรูปร่างแบบ ovoid (ภาพที่ 1ค)

พื้นผิวของโคนิเดีย: รา *Trichoderma* species ส่วนใหญ่มีพื้นผิวของโคนิเดียเป็นแบบเรียบ และมีเพียงไม่กี่สปีชีส์ที่มีพื้นผิวแบบขรุขระ (conidial ornamentation)

ตำแหน่งของไฟอะไลด์ (phialide disposition): ไฟอะไลด์ของรา *Trichoderma* species โดยทั่วไปแล้วถูกสร้างขึ้นแบบเดี่ยว ๆ บริเวณส่วนปลายของแขนง ซึ่งมีจำนวน 3 ถึง 6 ไฟอะไลด์อยู่ติดกันเป็นกลุ่มรอบ ๆ ไฟอะไลด์หลัก โดยแยกออกจากกันเป็นมุมประมาณ 90°

รูปร่างของไฟอะไลด์ (phialide shape): ไฟอะไลด์ของรา *Trichoderma* species ส่วนใหญ่มีรูปร่างแบบ lageniform หรือ ampulliform โดยรูปร่างแบบ lageniform มีความยาวมากกว่าความกว้างของเซลล์ต้นกำเนิด (ภาพที่ 1ฎ) และรูปร่างแบบ ampulliform มีรูปร่างสั้นและกว้าง ขนาดไม่เกิน 2 เท่าของความกว้างเซลล์ต้นกำเนิด (ภาพที่ 1ฏ)

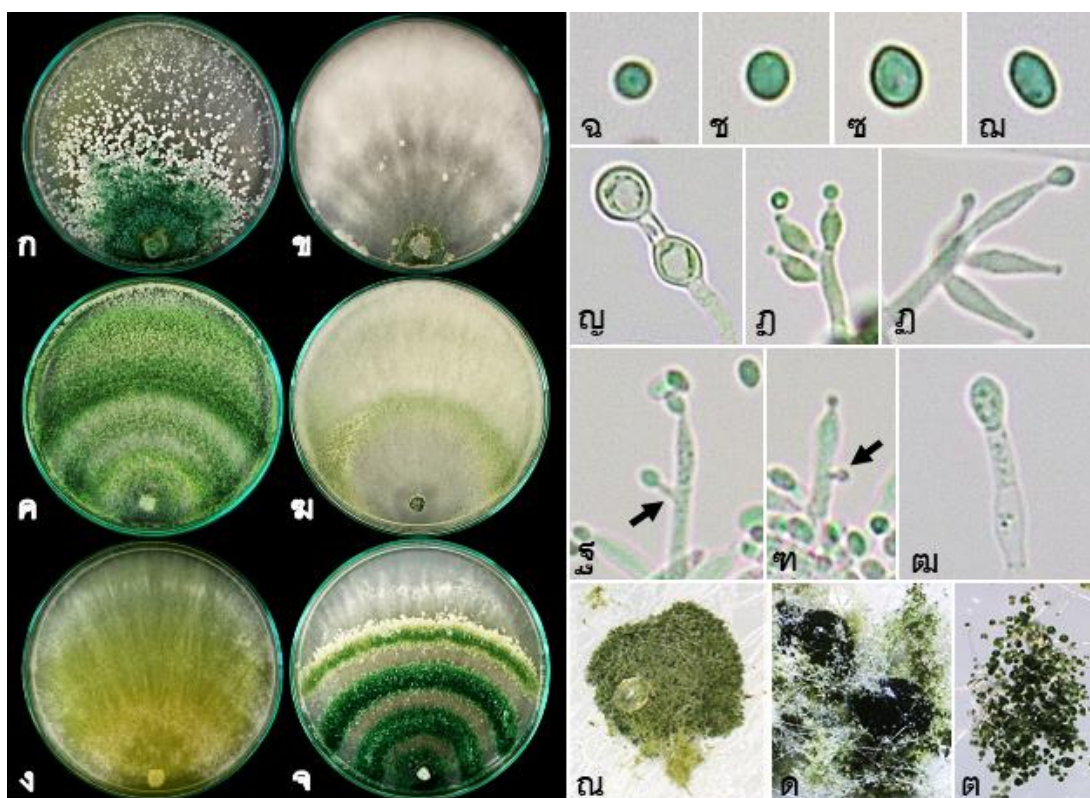
ความยาวของไฟอะไลด์ (phialide length): สามารถวัดได้จากส่วนปลายของไฟอะไลด์ถึงผนังกั้นที่แยกไฟอะไลด์จากเซลล์ต้นกำเนิด

ความกว้างของไฟอะไลด์ (phialide width): สามารถวัดได้จากตำแหน่งที่กว้างที่สุดของไฟอะไลด์

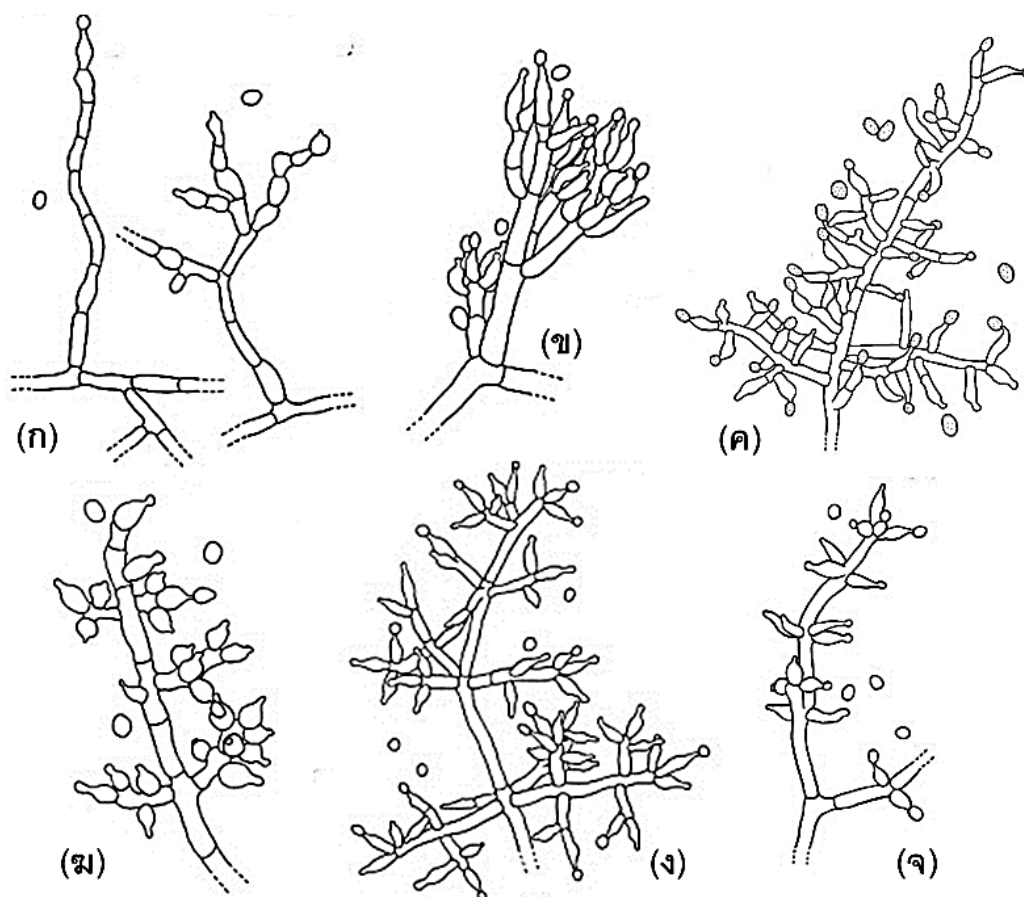
ไฟอะไลด์ขนาดสั้น (intercalary phialides): มีลักษณะสั้นคล้าย phialidic spur เกิดขึ้นบริเวณด้านข้างของผนังกั้นที่อยู่ต่ำกว่าไฟอะไลด์และด้านข้างของเซลล์ที่แยกไฟอะไลด์ออกจากเซลล์ต้นกำเนิด ซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะของกลุ่ม Longibrachiatum-type (ภาพที่ 1ฐ-ฑ)

การเพิ่มจำนวนของฟิอะไลด์ (phialide proliferation):

ฟิอะไลด์ของรา *Trichoderma* species ส่วนใหญ่เกิดขึ้นอย่างรวดเร็วภายในเวลา 2-3 วัน จากนั้นจึงหยุดสร้างฟิอะไลด์ แต่ *Trichoderma* ในกลุ่ม Viride clade บางชนิดยังสามารถสร้างฟิอะไลด์และเพิ่มจำนวนผ่านทางช่องเปิดของฟิอะไลด์ เพื่อสร้างเป็น second phialides ในกรณีนี้ ฟิอะไลด์มักมีรูปร่างยาว และแคบ



ภาพที่ 1 ลักษณะโคโคไธนีและโครงสร้างที่ใช้บรรยายลักษณะสัณฐานวิทยาของรา *Trichoderma* species (ก) pustule conidiation (ข) conidiogenous tufts (ค) granular (shrub) conidiation (ง) effuse conidiation (จ) colouration (ฉ) zonation (ช) globose conidia (ฌ) subglobose conidia (ฐ) ovoid conidia (ฑ) ellipsoid conidia (ฏ) chlamydospores (ฐ) ampulliform phialides (ฎ) lageniform phialides (ฐ-ฑ) intercalary phialides (ฒ) aphanophialides (ณ) pustule (ด) exudates และ (ต) wet conidial heads



ภาพที่ 2 Conidiophores type ของรา *Trichoderma* species (ภาพอ้างอิงจาก Plessis *et al.*, 2015)
 (ก) Acremonium-type (ข) Gliocladium-type (ค) Longibrachiatum-type (ง) Pachybasium-type
 (จ) Pyramidal-type และ (ฉ) Verticillium-type

การระบุชนิดของรา *Trichoderma* species โดยใช้ลักษณะทางชีวโมเลกุล

การระบุชนิดจากลักษณะทางชีวโมเลกุล โดยเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ตำแหน่ง internal transcribed spacer (ITS) (White *et al.*, 1990), translation elongation factor 1 alpha (*tef1*), RNA polymerase II subunit B (*rpb2*), actin (*act*), calmodulin (*cal*), ATP citrate lyase (*ac11*) และ endochitinase (*chi18-5*) (ตารางที่ 1) (Samuels และ Hebbar, 2015) กับฐานข้อมูลใน GenBank (National Center of Biotechnology Information (NCBI); www.ncbi.nlm.nih.gov) และเปรียบเทียบกับ DNA barcode ใน TrichOKEY (International Subcommittee on *Trichoderma* and *Hypocrea* Taxonomy;

www.ISTH.info) (Druzhinina *et al.*, 2005) และวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ด้วย phylogenetic เพื่อระบุชนิด

ตารางที่ 1 โพรเมอร์ที่ใช้ในการระบุชนิดของรา *Trichoderma* species จากอ้างอิงของ Samuels และ Hebbar (2015)

โพรเมอร์	ลำดับนิวคลีโอไทด์	อ้างอิง
Internal transcribed spacer (ITS)		
ITS 5	5'-GGA AGT AAA AGT CGT AAC AAG G-3'	White <i>et al.</i> , 1990
ITS 4	5'-TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC-3'	White <i>et al.</i> , 1990
Translation elongation factor 1 alpha (<i>tef1</i>)		
EF1-728f	5'-CATCGAGAAGTTCGAGAAGG-3'	Carbone and Kohn, 1999
TEF1R	5'--3'	Samuels <i>et al.</i> , 2002
RNA polymerase II subunit B (<i>rpb2</i>)		
fRPB2-5f	5'-GA(T/C)GA(T/C)(A/C)G(AT)GATCA(T/C)TT(T/C)GG-3'	Liu <i>et al.</i> , 1999
fRPB2-7cR	5'-CCCAT(A/G)GCTTG(T/C)TT(A/G)CCCAT-3'	Liu <i>et al.</i> , 1999
Actin (<i>act</i>)		
TRI-ACT1	5'-TGG CAC CAC ACC TTC TAC AAT GA-3'	Samuels <i>et al.</i> , 2012
TRI-ACT2	5'-TCT CCT TCT GCA TAC GGT CGG A-3'	Samuels <i>et al.</i> , 2012
ACT-500 F	5'-ATT CCG TGC TCC TGA-3'	Samuels <i>et al.</i> , 2012
ACT-511 R	5'-CTC AGG AGC ACG GAA T-3'	Samuels <i>et al.</i> , 2012
Calmodulin (<i>cal</i>)		
CL1	5'-GAR TWC AAG GAG GCC TTC TC-3'	Samuels <i>et al.</i> , 2012
CAL737RM	5'-CAT YTT TCK KGC CAT CAT GG-3'	Samuels <i>et al.</i> , 2012
ATP citrate lyase (<i>ac1</i>)		
ac1-230up	5'-AGC CCG ATC AGC TCA TCA AG-3'	Jaklitsch <i>et al.</i> , 2013
ac1-1120low	5'-CCT GGC AGC AAG ATC VAG GAA GT-3'	Jaklitsch <i>et al.</i> , 2013
Endochitinase (<i>chi18-5</i>)		
chi18-5-1a	5'-GCT (CT)TC CAT CGG TGG CTG GAC-3'	Kullnig-Gradinger <i>et al.</i> , 2002
chi18-5-2a	5'-GGA GTT GGG GTA GCT CAG C-3'	Kullnig-Gradinger <i>et al.</i> , 2002

จากการระบุชนิดของรา *Trichoderma* species โดยใช้ลักษณะทางชีวโมเลกุล Samuels และ Hebbar (2015) ได้จัดกลุ่มรา *Trichoderma* species แบ่งเป็น 23 กลุ่ม (clade) ดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 กลุ่มของ *Trichoderma* species (Samuels et al., 2015)

Aureoviride clade	Flavipes clade	<i>T. stramineum</i>	<i>T. gracile</i>
<i>T. aeruginum</i>	<i>T. alcalifuscescens</i>	<i>T. tawa</i>	<i>T. konilangbra</i>
<i>T. aureoviride</i>	<i>T. flavipes</i>	Helicum clade	<i>T. longibrachiatum</i>
<i>T. chlorosporum</i>	Gelatinosum clade	<i>T. helicum</i>	<i>T. novae-zelandiae</i>
<i>T. costaricense</i>	<i>T. chromospermum</i>	<i>T. silvae-virgineae</i>	<i>T. orientale</i>
<i>T. cremeum</i>	<i>T. gelatinosum</i>	Hypocreanum clade	<i>T. parareesei</i>
<i>T. danicum</i>	Harzianum clade	<i>T. americanum</i>	<i>T. parceramosum</i>
<i>T. pseudocandidum</i>	<i>T. afarasin</i>	<i>T. austriacum</i>	<i>T. pinnatum</i>
<i>T. sinuosum</i>	<i>T. afroharzianum</i>	<i>T. citrinum</i>	<i>T. pseudokoningii</i>
<i>T. spinulosum</i>	<i>T. aggressivum</i>	<i>T. decipiens</i>	<i>T. reesei</i>
<i>T. surrotundum</i>	<i>T. alni</i>	<i>T. eucorticioides</i>	<i>T. saturnisporopsis</i>
<i>T. thailandicum</i>	<i>T. amazonicum</i>	<i>T. microcitrinum</i>	<i>T. saturnisporum</i>
<i>T. thelephoricola</i>	<i>T. atrobrunneum</i>	<i>T. phellincola</i>	<i>T. solani</i>
<i>T. virescentiflavum</i>	<i>T. brunneoviride</i>	<i>T. protopulvinatum</i>	Phyllostachydis clade
Brevicompectum clade	<i>T. camerunense</i>	<i>T. pseudostramineum</i>	<i>T. phyllostachydis</i>
<i>T. arundinaceum</i>	<i>T. cinnamomeum</i>	<i>T. pulvinatum</i>	<i>T. sulawesense</i>
<i>T. auranteffusum</i>	<i>T. compactum</i>	<i>T. stercorarium</i>	Polysporum clade
<i>T. brevicompactum</i>	<i>T. dacrymycellum</i>	<i>T. sulphureum</i>	<i>T. alutaceum</i>
<i>T. margaretense</i>	<i>T. endophyticum</i>	<i>T. victoriense</i>	<i>T. atlanticum</i>
<i>T. protrudens</i>	<i>T. epimyces</i>	Leucopus clade	<i>T. bavaricum</i>
<i>T. rodmanii</i>	<i>T. guizhouense</i>	<i>T. leucopus</i>	<i>T. europaeum</i>
<i>T. turrialbense</i>	<i>T. harzianum</i>	<i>T. nybergianum</i>	<i>T. luteffusum</i>
Ceramicum clade	<i>T. inhamatum</i>	<i>T. seppoi</i>	<i>T. minutisporum</i>
<i>T. ceramicum</i>	<i>T. lentiforme</i>	Longibrachiatum clade	<i>T. pachypallidum</i>
<i>T. estonicum</i>	<i>T. lixii</i>	<i>T. aethiopicum</i>	<i>T. parapiluliferum</i>
<i>T. parestonicum</i>	<i>T. neotropicale</i>	<i>T. andinense</i>	<i>T. piluliferum</i>
Delicatulum clade	<i>T. parepimyces</i>	<i>T. bissetii</i>	<i>T. placentula</i>
<i>T. avellaneum</i>	<i>T. pleuroti</i>	<i>T. capillare</i>	<i>T. polysporum</i>
<i>T. delicatulum</i>	<i>T. pleuroticola</i>	<i>T. citrinoviride</i>	<i>T. stellatum</i>
Deliquescens clade	<i>T. pseudogelatinosum</i>	<i>T. effusum</i>	Psychrophila clade
<i>T. deliquescens</i>	<i>T. pyramidale</i>	<i>T. flagellatum</i>	<i>T. calamagrostidis</i>
<i>T. luteocrystallinum</i>	<i>T. rifaii</i>	<i>T. ghanense</i>	<i>T. crystalligenum</i>
<i>T. melonomagnum</i>	<i>T. simmonsii</i>	<i>T. gillesii</i>	<i>T. megalocitrinum</i>

ตารางที่ 2 (ต่อ)

Psychrophila clade	<i>T. tremelloides</i>	<i>T. ovalisporum</i>	<i>T. taxi</i>
<i>T. parmastoi</i>	Virens clade	<i>T. paratroviride</i>	<i>T. velutinum</i>
<i>T. psychrophilum</i>	<i>T. crassum</i>	<i>T. paraviridescens</i>	
<i>T. rhododendri</i>	<i>T. virens</i>	<i>T. paucisporum</i>	
Semiorbis clade	Viride clade	<i>T. petersenii</i>	
<i>T. fertile</i>	<i>T. aeroaquaticum</i>	<i>T. pezizoides</i>	
<i>T. fomiticola</i>	<i>T. appalachiense</i>	<i>T. pubescens</i>	
<i>T. mienum</i>	<i>T. asperelloides</i>	<i>T. rogersonii</i>	
<i>T. moravicum</i>	<i>T. asperellum</i>	<i>T. samuelsii</i>	
<i>T. oblongisporum</i>	<i>T. atroviride</i>	<i>T. scalesiae</i>	
<i>T. semiorbis</i>	<i>T. austrokoningii</i>	<i>T. stilbohypoxyli</i>	
Strictipile clade	<i>T. caeruleascens</i>	<i>T. strigosellum</i>	
<i>T. cuneisporum</i>	<i>T. composticola</i>	<i>T. strigosum</i>	
<i>T. longipile</i>	<i>T. dingleyae</i>	<i>T. subeffusum</i>	
<i>T. spirale</i>	<i>T. dorotheae</i>	<i>T. taiwanense</i>	
<i>T. strictipile</i>	<i>T. erinaceus</i>	<i>T. theobromicola</i>	
Stromaticum clade	<i>T. evansii</i>	<i>T. trixiae</i>	
<i>T. barbatum</i>	<i>T. flaviconidium</i>	<i>T. valdunense</i>	
<i>T. caesareum</i>	<i>T. gamsii</i>	<i>T. vinosum</i>	
<i>T. floccosum</i>	<i>T. hamatum</i>	<i>T. viridarium</i>	
<i>T. ivoriense</i>	<i>T. hispanicum</i>	<i>T. viride</i>	
<i>T. lanuginosum</i>	<i>T. intricatum</i>	<i>T. viridescens</i>	
<i>T. medusae</i>	<i>T. junci</i>	<i>T. viridialbum</i>	
<i>T. rossicum</i>	<i>T. koningii</i>	<i>T. virilente</i>	
<i>T. stromaticum</i>	<i>T. koningiopsis</i>	<i>T. voglmayrii</i>	
<i>T. vermipilum</i>	<i>T. lieckfeldtia</i>	<i>T. yunnanense</i>	
Tomentosum clade	<i>T. martiale</i>	Lone lineages	
<i>T. atrogelatinosum</i>	<i>T. neokoningii</i>	<i>T. albolutescens</i>	
<i>T. ceraceum</i>	<i>T. neorufoides</i>	<i>T. catoptron</i>	
<i>T. cerinum</i>	<i>T. neorufum</i>	<i>T. patella</i>	
<i>T. tomentosum</i>	<i>T. neosinense</i>	<i>T. peltatum</i>	
Tremelloides clade	<i>T. ochroleucum</i>	<i>T. pseudonigrovirens</i>	
<i>T. sambuci</i>	<i>T. olivascens</i>	<i>T. subalpinum</i>	

การระบุชนิดของรา *Trichoderma* species โดยวิธีการทางเคมี

การระบุชนิดด้วยวิธีการทางเคมีสามารถระบุโดยใช้วิธีการ

ทดสอบแบบ Biolog FF MicroPlates (Biolog, Hayward, CA, U.S.A.) (Hoyos-Carvajal *et al.*,

2009; Kubicek *et al.*, 2003) และวิธีการ MALDI-TOF mass spectrometry (MALDI-TOF ICMS) (Neuhof *et al.*, 2007; Santos *et al.*, 2010) ซึ่งวิธีการที่กล่าวมานี้ปัจจุบันไม่เป็นที่นิยมในการระบุชนิดของรา *Trichoderma* species

ชนิดของรา *Trichoderma* species

จากการศึกษาและระบุชนิดของรา *Trichoderma* sp. ในอดีตจนถึงปัจจุบันมีการระบุรายชื่อทั้งหมด 316 รายชื่อ ซึ่ง Bissett และคณะ (2015) รวบรวมรายชื่อชนิดของรา *Trichoderma* species อย่างเป็นทางการทั้งหมด 254 รายชื่อ (ตารางที่ 3) และข้อมูลจาก Mycobank (www.mycobank.org) และฐานข้อมูลใน NCBI อีก 62 รายชื่อ (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 3 รายชื่ออย่างเป็นทางการของรา *Trichoderma* species (Bissett *et al.*, 2015)

Species	Ex-type culture	อ้างอิง
<i>T. aeroaquaticum</i>	BCC 36135 = NBRC 108034.	Yamaguchi <i>et al.</i> (2012)
<i>T. aeruginum</i>	CBS 120541	Jaklitsch (2009)
<i>T. aethiopicum</i>	CBS 130628	Mullaw <i>et al.</i> (2012)
<i>T. afarasin</i>	G.J.S. 99-227 = CBS 130755 = IMI 393967	Chaverri <i>et al.</i> (2015)
<i>T. afroharzianum</i>	G.J.S. 04-186 = CBS 124620	Chaverri <i>et al.</i> (2015)
<i>T. aggressivum</i>	DAOM 222156 = IMI 393971	Samuels <i>et al.</i> (2002)
<i>T. aggressivum</i> f. <i>europaeum</i>	CBS 100526	Samuels <i>et al.</i> (2002)
<i>T. albocorneum</i>	IFO 30608 = G.J.S. 97-28	Jaklitsch <i>et al.</i> (2013)
<i>T. albofulvum</i>	G.J.S. 01-265 = CBS 114787	Jaklitsch <i>et al.</i> (2013)
<i>T. albolutescens</i>	CBS 119286	Jaklitsch (2011)
<i>T. alcalifuscenscens</i>	CBS 122303 = TFC 2000-36	Jaklitsch <i>et al.</i> (2013)
<i>T. alni</i>	CBS 120623	Jaklitsch (2008)
<i>T. alutaceum</i>	CBS 120535	Jaklitsch (2011)
<i>T. amazonicum</i>	CBS 126898	Chaverri <i>et al.</i> (2011)
<i>T. americanum</i>	ATCC 18574	Jaklitsch <i>et al.</i> (2013)
<i>T. andinense</i>	CBS 345.97 = ATCC 208857	Samuels <i>et al.</i> (2013)
<i>T. appalachense</i>	G.J.S. 97-243 = CBS 133558	Samuels <i>et al.</i> (2013)
<i>T. applanatum</i>	HMAS 245081 = CGMCC 3.17526	Zhu <i>et al.</i> (2015)
<i>T. arundinaceum</i>	CBS 119575 = ATCC 90237	Zafari <i>et al.</i> (2008)
<i>T. asperelloides</i>	CBS 125938	Samuels (2010)
<i>T. asperellum</i>	CBS 433.97	Samuels <i>et al.</i> (1999)
<i>T. atlanticum</i>	CBS 120632	Jaklitsch (2011)
<i>T. atrobrunneum</i>	G.J.S. 92-110 = CBS 548.92	Rocha <i>et al.</i> (2015)
<i>T. atrogelatinosum</i>	CBS 237.63	Jaklitsch <i>et al.</i> (2013)
<i>T. atroviride</i>	CBS 110086 = NBRC 10177 = ATCC MYA2687	Karsten <i>et al.</i> (1892)

ตารางที่ 3 (ต่อ)

Species	Ex-type culture	อ้างอิง
<i>T. auranteffusum</i>	CBS 119284	Jaklitsch (2011)
<i>T. aureoviride</i>	CBS 120536	Rifai (1969)
<i>T. austriacum</i>	CBS 122494	Jaklitsch (2011)
<i>T. austrokonigii</i>	CBS 119092	Samuels <i>et al.</i> (2006)
<i>T. avellaneum</i>	CBS 121667	Jaklitsch <i>et al.</i> (2013)
<i>T. balearicum</i>	CBS 133222	Jaklitsch (2015)
<i>T. barbatum</i>	CBS 125733	Samuels (2011)
<i>T. bavaricum</i>	CBS 120538	Jaklitsch (2011)
<i>T. bissetii</i>	CBS 137447 = UTHSC 08-2443 = FMR 12635	Denis <i>et al.</i> (2014)
<i>T. brevicompactum</i>	CBS 109720	Kraus <i>et al.</i> (2004)
<i>T. brevipes</i>	G.J.S. 92-76 = NBRC 101780 = CBS 139044	Samuels
<i>T. britannicum</i>	CBS 253.62	Jaklitsch (2014)
<i>T. britdaniae</i>	-	Jaklitsch (2014)
<i>T. brunneoviride</i>	CBS 121130	Jaklitsch (2008)
<i>T. caerulescens</i>	CBS 130011	Jaklitsch (2013)
<i>T. caesareum</i>	CBS 124369	Samuels (2011)
<i>T. calamagrostidis</i>	CBS 121313	Jaklitsch (2011)
<i>T. camerunense</i>	G.J.S 99-230 = CBS 137272	Chaverri <i>et al.</i> (2015)
<i>T. capillare</i>	CBS 130629	Samuels <i>et al.</i> (2012)
<i>T. caribbaecum</i>	G.J.S. 97-3 = CBS 119093	Samuel <i>et al.</i> (2006)
<i>T. caribbaeum</i>	DIS 320c = CBS 119055 = IMI 393638	Samuel <i>et al.</i> (2006)
<i>T. catoptron</i>	G.J.S. 02-76 = CBS 114232 = DAOM 232830	Chaverri <i>et al.</i> (2004)
<i>T. ceciliae</i>	CBS 130010	Jaklitsch <i>et al.</i> (2015)
<i>T. ceraceum</i>	CBS 114245 = DAOM 232831 = ATCC MYA3222	Chaverri <i>et al.</i> (2004)
<i>T. ceramicum</i>	G.J.S. 88-70 = CBS 114576	Chaverri <i>et al.</i> (2004)
<i>T. cerebriforme</i>	G.J.S. 85-245 = CBS 139045	Samuels
<i>T. cerinum</i>	CBS 230012	Bissett <i>et al.</i> (2003)
<i>T. chlorosporum</i>	G.J.S 88-33 = CBS 114231 = DAOM 232832 = ATCC MYA-3223	Chaverri <i>et al.</i> (2004)
<i>T. christiani</i>	CBS 132572	Jaklitsch <i>et al.</i> (2015)
<i>T. chromospermum</i>	G.J.S. 94-68 = CBS 114577	Chaverri <i>et al.</i> (2004)
<i>T. cinnamomeum</i>	G.J.S. 97-230 = CBS 114235 = ATCC MYA3224 = DAOM 232833	Chaverri <i>et al.</i> (2004)
<i>T. citrinoviride</i>	DAOM 172792 = CBS 258.85	Bissett <i>et al.</i> (1984)
<i>T. citrinum</i>	CBS 853.70	Jaklitsch <i>et al.</i> (2014)
<i>T. compactum</i>	CBS 121218	Yu <i>et al.</i> (2013)
<i>T. composticola</i>	CBS 133497	Samuels <i>et al.</i> (2013)

ตารางที่ 3 (ต่อ)

Species	Ex-type culture	อ้างอิง
<i>T. corneum</i>	-	Jaklitsch <i>et al.</i> (2013)
<i>T. cornu-damae</i>	NBRC 9005 = IFO 9005 = G.J.S. 06-03	Zhu <i>et al.</i> (2014)
<i>T. crassum</i>	JN175544	Bissett <i>et al.</i> (1992)
<i>T. cremeoides</i>	CBS 131486	Jaklitsch <i>et al.</i> (2015)
<i>T. cremeum</i>	CBS 111146 = DAOM 231312 = ATCC MYA-2862	Chaverri <i>et al.</i> (2004)
<i>T. crystalligenum</i>	CBS 118980	Jaklitsch <i>et al.</i> (2006)
<i>T. dacrymycellum</i>	-	Jaklitsch (2009)
<i>T. danicum</i>	CBS 121273	Jaklitsch <i>et al.</i> (2013)
<i>T. decipiens</i>	CBS 121307	Jaklitsch <i>et al.</i> (2013)
<i>T. delicatulum</i>	CBS 120631	Jaklitsch (2011)
<i>T. deliquescens</i>	CBS 121131	Jaklitsch (2011)
<i>T. dingleyae</i>	CBS 119056	Samuels <i>et al.</i> (2006)
<i>T. dorotheae</i>	G.J.S. 99-202 = CBS 119089 = ICMP 16288	Samuels <i>et al.</i> (2006)
<i>T. effusum</i>	DAOM 230007	Bissett <i>et al.</i> (2003)
<i>T. eijii</i>	CBS 133190	Kim <i>et al.</i> (2012)
<i>T. endophyticum</i>	DIS 217a = CBS 130729 = IMI 395208	Rocha <i>et al.</i> (2015)
<i>T. epimyces</i>	CBS 120524	Jaklitsch <i>et al.</i> (2008)
<i>T. erinaceus</i>	DAOM 230019	Bissett <i>et al.</i> (2003)
<i>T. estonicum</i>	G.J.S. 96-129 = CBS 111147 = ATCC MYA2864	Chaverri <i>et al.</i> (2004)
<i>T. eucorticioides</i>	-	Jaklitsch <i>et al.</i> (2013)
<i>T. europaeum</i>	CBS 121276	Jaklitsch <i>et al.</i> (2015)
<i>T. euskadiense</i>	CBS 130013	Jaklitsch <i>et al.</i> (2015)
<i>T. evansii</i>	CBS 123079	Samuels <i>et al.</i> (2009)
<i>T. fertile</i>	DAOM 167161	Bissett <i>et al.</i> (1992)
<i>T. flagellatum</i>	CBS 130626	Mullaw <i>et al.</i> (2012)
<i>T. flaviconidium</i>	G.J.S. 99-51	Jaklitsch <i>et al.</i> (2013)
<i>T. flavipes</i>	-	Jaklitsch <i>et al.</i> (2014)
<i>T. floccosum</i>	G.J.S. 01-238 = CBS 124372	Samuels <i>et al.</i> (2011)
<i>T. foliicola</i>	CBS 130008	Jaklitsch <i>et al.</i> (2014)
<i>T. fomiticola</i>	CBS 121136	Jaklitsch (2009)
<i>T. gamsii</i>	CBS 120075	Samuels <i>et al.</i> (2006)
<i>T. gelatinosum</i>	CBS 114246 = DAOM 232835	Chaverri <i>et al.</i> (2003)
<i>T. ghanense</i>	G.J.S. 95-137 = ATCC 208858 = IAM 13109	Doi <i>et al.</i> (1987)
<i>T. gillesii</i>	CBS 130435	Samuels <i>et al.</i> (2012)
<i>T. gliocladium</i>	CBS 130009	Jaklitsch <i>et al.</i> (2015)
<i>T. gracile</i>	CBS 130009	Samuels <i>et al.</i> (2012)
<i>T. guizhouense</i>	HGUP 0038 = CBS 131803	Li <i>et al.</i> (2012)

ตารางที่ 3 (ต่อ)

Species	Ex-type culture	อ้างอิง
<i>T. hamatum</i>	DAOM 167057	Bain <i>et al.</i> (2012)
<i>T. harzianum</i>	CBS 226.95	Rifai (1969)
<i>T. hausknechtii</i>	CBS 133493	Jaklitsch <i>et al.</i> (2015)
<i>T. helicelixii</i>	CBS 133499	Jaklitsch <i>et al.</i> (2015)
<i>T. helicum</i>	DAOM 230022	Bissett <i>et al.</i> (2003)
<i>T. hispanicum</i>	CBS 130540	Jaklitsch <i>et al.</i> (2014)
<i>T. hunua</i>	CBS 238.63	Jaklitsch <i>et al.</i> (2013)
<i>T. inhamatum</i>	CBS 273.78	Veerkamp <i>et al.</i> (1983)
<i>T. intricatum</i>	G.J.S. 97-88 = CBS 119059	Samuels <i>et al.</i> (2006)
<i>T. istriarium</i>	CBS 130639	Jaklitsch <i>et al.</i> (2015)
<i>T. italicum</i>	CBS 132567	Jaklitsch <i>et al.</i> (2015)
<i>T. ivoriense</i>	CBS 125734	Samuels <i>et al.</i> (2011)
<i>T. junci</i>	CBS 120926	Jaklitsch (2011)
<i>T. konilangbra</i>	G.J.S. 96-145 = CBS 100808 = ATCC 208860 = IMI 378807	Samuels <i>et al.</i> (1998)
<i>T. koningii</i>	CBS 457.96	Oudemans <i>et al.</i> (1902)
<i>T. koningiopsis</i>	CBS 119075	Samuels <i>et al.</i> (2006)
<i>T. kunigamense</i>	TAMA 0193 = NBRC 109640	Yabuki <i>et al.</i> (2014)
<i>T. lacuwombatense</i>	CBS 122668	Jaklitsch <i>et al.</i> (2014)
<i>T. lanuginosum</i>	CBS 125718	Samuels <i>et al.</i> (2011)
<i>T. latizonatum</i>	-	Samuels
<i>T. leguminosarum</i>	CBS 30014	Jaklitsch <i>et al.</i> (2015)
<i>T. lentiforme</i>	G.J.S. 98-6 = CBS 100542	Chaverri <i>et al.</i> (2015)
<i>T. leucopus</i>	CBS 122499	Jaklitsch (2011)
<i>T. lieckfeldtia</i>	CBS 123049	Samuels <i>et al.</i> (2009)
<i>T. lixii</i>	G.J.S. 97-96 = CBS 110080 = ATCC MYA2478)	Chaverri <i>et al.</i> (2015)
<i>T. longibrachiatum</i>	CBS 816.68 = ATCC 18648	Rifai (1969)
<i>T. longipile</i>	DAOM 177227-1a	Bissett <i>et al.</i> (1992)
<i>T. luteffusum</i>	CBS 120537	Jaklitsch (2011)
<i>T. luteocrystallinum</i>	CBS 123828	Jaklitsch <i>et al.</i> (2011)
<i>T. lycogaloides</i>	CBS 123493	Jaklitsch <i>et al.</i> (2014)
<i>T. margaretense</i>	CBS 120540	Jaklitsch (2011)
<i>T. martiale</i>	CBS 123052	Hanada <i>et al.</i> (2008)
<i>T. matsushimae</i>	IMI 266015 = HME 3704	Yamaguchi <i>et al.</i> (2012)
<i>T. mediterraneum</i>	CBS 136459	Jaklitsch <i>et al.</i> (2015)
<i>T. medusae</i>	CBS 125719	Samuels <i>et al.</i> (2011)
<i>T. megalocitrinum</i>	B.E.O. 00-09	Jaklitsch <i>et al.</i> (2013)

ตารางที่ 3 (ต่อ)

Species	Ex-type culture	อ้างอิง
<i>T. melanomagnum</i>	CBS 114236	Chaverri <i>et al.</i> (2004)
<i>T. microcitrinum</i>	G.J.S. 91-61, G.J.S. 97-248	Jaklitsch <i>et al.</i> (2013)
<i>T. mienum</i>	TUFC 61533 = CBS 132690	Kim <i>et al.</i> (2012)
<i>T. minutisporum</i>	DAOM 167069	Bissett <i>et al.</i> (1992)
<i>T. moravicum</i>	CBS 120539	Jaklitsch (2011)
<i>T. neocrassum</i>	CBS 114230	Samuels
<i>T. neokingii</i>	CBS 120070	Samuels <i>et al.</i> (2006)
<i>T. neorufoides</i>	CBS 119506	Jaklitsch (2011)
<i>T. neorufum</i>	CBS 111144	Jaklitsch <i>et al.</i> (2013)
<i>T. neosinense</i>	CBS 134884	Samuels <i>et al.</i> (2013)
<i>T. neotropicale</i>	CBS 130633	Chaverri <i>et al.</i> (2015)
<i>T. nothescens</i>	CBS 134882	Samuels <i>et al.</i> (2013)
<i>T. novae-zelandiae</i>	CBS 496.97 = CBS 639.92 = G.J.S. 81-265	Jaklitsch <i>et al.</i> (2013)
<i>T. nybergianum</i>	-	Jaklitsch <i>et al.</i> (2014)
<i>T. oblongisporum</i>	DAOM 176226	Bissett (1992)
<i>T. ochroleucum</i>	-	Jaklitsch <i>et al.</i> (2014)
<i>T. olivascens</i>	CBS 132574	Jaklitsch <i>et al.</i> (2013)
<i>T. oligosporum</i>	HMAS 245079 = CGMCC 3.17527	Zhu <i>et al.</i> (2015)
<i>T. orientale</i>	CBS 130428	Samuels <i>et al.</i> (2014)
<i>T. ovalisporum</i>	CBS 133299	Samuels <i>et al.</i> (2004)
<i>T. pachypallidum</i>	CBS 122126	Jaklitsch (2011)
<i>T. parapiluliferum</i>	CBS 112771	Jaklitsch <i>et al.</i> (2013)
<i>T. parareesei</i>	CBS 125925	Atanasova <i>et al.</i> (2010)
<i>T. pararogersonii</i>	CBS 133496	Jaklitsch <i>et al.</i> (2015)
<i>T. paratroviride</i>	CBS 136489	Jaklitsch <i>et al.</i> (2015)
<i>T. paraviridescens</i>	CBS 119321	Jaklitsch <i>et al.</i> (2013)
<i>T. parepimyces</i>	CBS 122769	Jaklitsch (2009)
<i>T. parestonicum</i>	CBS 120636	Jaklitsch (2009)
<i>T. parmastoi</i>	TFC 97-143	Jaklitsch <i>et al.</i> (2014)
<i>T. patella</i>	CBS 110081	Jaklitsch <i>et al.</i> (2014)
<i>T. patellotropicum</i>	-	Samuels
<i>T. paucisporum</i>	CBS 118645	Samuels <i>et al.</i> (2006)
<i>T. peltatum</i>	-	Samuels <i>et al.</i> (2014)
<i>T. petersenii</i>	CBS 119051	Samuels <i>et al.</i> (2006)
<i>T. pezizoides</i>	-	Jaklitsch <i>et al.</i> (2014)
<i>T. phellinicola</i>	CBS 119283	Jaklitsch (2011)
<i>T. piluliferum</i>	CBS 814.68	Webster <i>et al.</i> (1969)

ตารางที่ 3 (ต่อ)

Species	Ex-type culture	อ้างอิง
<i>T. pinnatum</i>	CBS 131292	Samuels <i>et al.</i> (2014)
<i>T. placentula</i>	-	Jaklitsch (2011)
<i>T. pleuroti</i>	CBS 124387	Yu <i>et al.</i> (2006)
<i>T. pleuroticola</i>	CNUMH 601 = CBS 124383	Yu <i>et al.</i> (2006)
<i>T. polysporum</i>	CBS 820.68	Rifai (1969)
<i>T. poronioideum</i>	CBS 139046	Samuels
<i>T. priscilae</i>	CBS 131487	Jaklitsch <i>et al.</i> (2014)
<i>T. protopulvinatum</i>	CBS 739.83	Jaklitsch <i>et al.</i> (2013)
<i>T. protrudens</i>	CBS 121320	Samuels <i>et al.</i> (2008)
<i>T. pseudocandidum</i>	CBS 114249	Chaverri <i>et al.</i> (2009)
<i>T. pseudogelatinosum</i>	CNUN309	Kim <i>et al.</i> (2012)
<i>T. pseudokoningii</i>	CBS 408.91 = DAOM 167678 = ATCC 298861	Rifai (1969)
<i>T. pseudolacteam</i>	TUFC 61490 = CBS 133191	Kim <i>et al.</i> (2012)
<i>T. pseudonigrovirens</i>	CBS 1143340	Chaverri <i>et al.</i> (2009)
<i>T. pseudostramineum</i>	TUFC 60104	Kim <i>et al.</i> (2012)
<i>T. psychrophilum</i>	CBS 119129	Jaklitsch (2011)
<i>T. pubescens</i>	DAOM 166162	Bissett (1992)
<i>T. pulvinatum</i>	-	Jaklitsch <i>et al.</i> (2013)
<i>T. pyramidale</i>	CBS 135574	Jaklitsch <i>et al.</i> (2015)
<i>T. reesei</i>	QM 6a = CBS 383.79	Simmons <i>et al.</i> (1977)
<i>T. rhododendri</i>	CBS 119288	Jaklitsch <i>et al.</i> (2014)
<i>T. rifaii</i>	DIS 355b = CBS 130746	Chaverri <i>et al.</i> (2015)
<i>T. rodmanii</i>	CBS 120895	Jaklitsch <i>et al.</i> (2014)
<i>T. rogersonii</i>	G.J.S. 04-158 = CBS 119233	Samuels <i>et al.</i> (2006)
<i>T. rossicum</i>	DAOM 230011	Bissett <i>et al.</i> (2003)
<i>T. rosulatum</i>	HMAS 244906	Zhu <i>et al.</i> (2015)
<i>T. rubi</i>	CBS 127380	Jaklitsch <i>et al.</i> (2015)
<i>T. rufobrunneum</i>	HMAS 244907	Zhu <i>et al.</i> (2015)
<i>T. sambuci</i>	-	Jaklitsch <i>et al.</i> (2014)
<i>T. samuelsii</i>	CBS 130537	Jaklitsch <i>et al.</i> (2012)
<i>T. saturnisporopsis</i>	CBS 130751	Samuels <i>et al.</i> (2012)
<i>T. saturnisporum</i>	ATCC 18903 = CBS 330.70	Hammill (1970)
<i>T. scalesiae</i>	CBS 120069	Samuels <i>et al.</i> (2006)
<i>T. semiorbis</i>	CBS 130716	Jaklitsch <i>et al.</i> (2014)
<i>T. sempervirentis</i>	CBS 133498	Jaklitsch <i>et al.</i> (2013)
<i>T. seppoi</i>	C.P.K. 3161 = CBS 122498	Jaklitsch <i>et al.</i> (2008)
<i>T. silvae-virgineae</i>	CBS 120922	Jaklitsch (2011)

ตารางที่ 3 (ต่อ)

Species	Ex-type culture	อ้างอิง
<i>T. simmonsii</i>	G.J.S 91-138 = CBS 130731	Chaverri <i>et al.</i> (2015)
<i>T. sinense</i>	DAOM 230000	Bissett <i>et al.</i> (2003)
<i>T. sinoluteum</i>	HMAS 245077 = CGMCC 3.17528	Zhu <i>et al.</i> (2015)
<i>T. sinuosum</i>	CBS 114247	Chaverri <i>et al.</i> (2004)
<i>T. solani</i>	CBS 130506	Samuels <i>et al.</i> (2012)
<i>T. songyi</i>	KCTC 46205 = CBS 138099	Park <i>et al.</i> (2014)
<i>T. spinulosum</i>	-	Jaklitsch <i>et al.</i> (2013)
<i>T. spirale</i>	DAOM 183974	Bissett (1992)
<i>T. stercorarium</i>	CBS 148.85 = ATCC 62321	Jaklitsch <i>et al.</i> (2015)
<i>T. stilbohypoxyli</i>	CBS 992.97 = ATCC MYA 2970 = DAOM 231834	Samuels <i>et al.</i> (2006)
<i>T. stipitatum</i>	HMAS 244908	Zhu <i>et al.</i> (2015)
<i>T. strictipile</i>	DAOM 172827	Bissett (1992)
<i>T. strigosellum</i>	CBS 102817	Quintero <i>et al.</i> (2013)
<i>T. strigosum</i>	DAOM 1661214 = CBS 348.93	Bissett (1992)
<i>T. stromaticum</i>	ATCC 204426 = CBS 101875	Samuels <i>et al.</i> (2000)
<i>T. subalpinum</i>	CBS 119128	Jaklitsch (2011)
<i>T. subeffusum</i>	CBS 120929	Jaklitsch (2011)
<i>T. sulawesense</i>	G.J.S. 2000	Jaklitsch <i>et al.</i> (2014)
<i>T. sulphureum</i>	-	Jaklitsch <i>et al.</i> (2013)
<i>T. surrotundum</i>	G.J.S. 88-73 = CBS 111145	Chaverri <i>et al.</i> (2004)
<i>T. taiwanense</i>	G.J.S. 95-93 = CBS 119058	Samuels <i>et al.</i> (2006)
<i>T. tawa</i>	G.J.S. 97-174 = CBS 114233	Chaverri <i>et al.</i> (2004)
<i>T. taxi</i>	ZJUF0986 = CGMCC 1672	Zhang <i>et al.</i> (2007)
<i>T. thailandicum</i>	G.J.S. 97-61 = CBS 114234 = DAOM 232842 = ATCC MYA-3233	Chaverri <i>et al.</i> (2004)
<i>T. thelephoricola</i>	G.J.S. 95-135 = CBS 114237 = DAOM 232843 = ATCC MYA-3232	Chaverri <i>et al.</i> (2004)
<i>T. theobromicola</i>	DIS 85f = CBS 119120 = IMI 393419 = ATCC MYA-3640	Samuels <i>et al.</i> (2006)
<i>T. tomentosum</i>	DAOM 178713a	Bissett (1992)
<i>T. tremelloides</i>	CBS 121140	Jaklitsch (2011)
<i>T. trixiae</i>	CBS 134702	Samuels <i>et al.</i> (2013)
<i>T. tropicosinense</i>	HMAS 244983	Liu <i>et al.</i> (2015)
<i>T. tsugarensis</i>	TAMA 0203 = NBRC 109641	Yabuki <i>et al.</i> (2014)
<i>T. turrialbense</i>	CBS 112445	Samuels <i>et al.</i> (2008)
<i>T. valdunense</i>	CBS 120923	Jaklitsch (2011)

ตารางที่ 3 (ต่อ)

Species	Ex-type culture	อ้างอิง
<i>T. velutinum</i>	DAOM 230013	Bissett <i>et al.</i> (2003)
<i>T. vermipilum</i>	PPRI 3359 = CBS 127103	Samuels <i>et al.</i> (2011)
<i>T. victoriense</i>	G.J.S. 99-200 = CBS 140064	Jaklitsch <i>et al.</i> (2013)
<i>T. vinosum</i>	G.J.S. 99-158 (= collection G.J.S. 8702) = ICMP 16294 = CBS 119087	Samuels (2006)
<i>T. virens</i>	-	Miller <i>et al.</i> (1987)
<i>T. virescentiflavum</i>	-	Jaklitsch <i>et al.</i> (2014)
<i>T. viridarium</i>	CBS 132568	Jaklitsch <i>et al.</i> (2013)
<i>T. viridescens</i>	CBS 132573	Jaklitsch <i>et al.</i> (2006)
<i>T. viridialbum</i>	CBS 133495	Jaklitsch <i>et al.</i> (2013)
<i>T. virilente</i>	CBS 132569	Jaklitsch <i>et al.</i> (2013)
<i>T. voglmayrii</i>	CBS 117711	Jaklitsch <i>et al.</i> (2005)
<i>T. yunnanense</i>	YMF 1.0169 = CBS 121219	Yu <i>et al.</i> (2007)

ตารางที่ 4 รายชื่อรา *Trichoderma* species จาก Mycobank และฐานข้อมูลใน NCBI

Species	Ex-type culture	อ้างอิง
<i>T. acremonioides</i>	HMAS 254566	Zhang <i>et al.</i> (2018)
<i>T. albofulvopsis</i>	HMAS 273760	Qin <i>et al.</i> (2016)
<i>T. alboviride</i>	HMAS 247224	Chen <i>et al.</i> (2017)
<i>T. angustum</i>	HMAS 273784	Qin <i>et al.</i> (2017)
<i>T. arenarium</i>	CGMCC 19611	Ding <i>et al.</i> (2020)
<i>T. asterineum</i>	HMAS 271353	Qin <i>et al.</i> (2016)
<i>T. attinorum</i>	CBS H-22180	Montoya <i>et al.</i> (2016)
<i>T. azevedoi</i>	CEN1422	Inglis <i>et al.</i> (2020)
<i>T. beinartii</i>	PREM 61288	Du Plessis <i>et al.</i> (2018)
<i>T. botryosum</i>	COAD 2422	Rodríguez <i>et al.</i> (2021)
<i>T. caeruleimontis</i>	PREM 62136	Du Plessis <i>et al.</i> (2018)
<i>T. caeruloviride</i>	COAD 2416	Rodríguez <i>et al.</i> (2021)
<i>T. changbaiense</i>	HMAS 247198	Chen <i>et al.</i> (2017)
<i>T. chetii</i>	PREM 61287	Du Plessis <i>et al.</i> (2018)
<i>T. confertum</i>	HMAS 248896	Chen <i>et al.</i> (2017)
<i>T. confluens</i>	HMAS 244993	Qin <i>et al.</i> (2016)
<i>T. crystalligenum</i>	HMAS 248746	Qin <i>et al.</i> (2017)
<i>T. densum</i>	HMAS 273758	Qin <i>et al.</i> (2016)
<i>T. dimorphum</i>	HMAS 247199	Chen <i>et al.</i> (2017)
<i>T. dorotheopsis</i>	HMAS 248251	Tomah <i>et al.</i> (2020)
<i>T. flavescens</i>	HMJAU 34730	Zhu <i>et al.</i> (2018)

ตารางที่ 4 (ต่อ)

Species	Ex-type culture	อ้างอิง
<i>T. fujianense</i>	HMJAU 34830	Zhu <i>et al.</i> (2017)
<i>T. gansuanum</i>	HMAS 279687	Zeng <i>et al.</i> (2020)
<i>T. globoides</i>	HMAS 248747	Qin <i>et al.</i> (2017)
<i>T. gregarium</i>	HMAS 248887	Chen <i>et al.</i> (2017)
<i>T. henanense</i>	HMAS 252891	Qin <i>et al.</i> (2016)
<i>T. hubeiense</i>	HMAS 252888	Qin <i>et al.</i> (2016)
<i>T. hypoxylon</i>	CGMCC 3.17906	Sun <i>et al.</i> (2016)
<i>T. kunmingense</i>	YMF 1.02659	Qiao <i>et al.</i> (2018)
<i>T. laevisporum</i>	HMAS 273756	Qin <i>et al.</i> (2016)
<i>T. lentissimum</i>	COAD 2399	Rodríguez <i>et al.</i> (2021)
<i>T. longifialidicum</i>	CBS H-22181	Montoya <i>et al.</i> (2016)
<i>T. lentinulae</i>	CGMCC 3.19847	Gu <i>et al.</i> (2020)
<i>T. odoratum</i>	HMAS 271354	Qin <i>et al.</i> (2016)
<i>T. peberdyi</i>	CEN1426	Inglis <i>et al.</i> (2020)
<i>T. perviride</i>	HMAS 273786	Qin <i>et al.</i> (2017)
<i>T. polyalthiae</i>	TBRC 8737	Nuankaew <i>et al.</i> (2018)
<i>T. pruinatum</i>	HMAS 247217	Chen <i>et al.</i> (2017)
<i>T. pseudobritdaniae</i>	HMAS 271355	Qin <i>et al.</i> (2016)
<i>T. pseudopyramidale</i>	COAD 2426	Rodríguez <i>et al.</i> (2021)
<i>T. purpureum</i>	HMAS 273787	Qin <i>et al.</i> (2017)
<i>T. restrictum</i>	PREM 61285	Du Plessis <i>et al.</i> (2018)
<i>T. rugosum</i>	HMAS 254548	Zhang <i>et al.</i> (2018)
<i>T. shennongjianum</i>	HMAS 245009	Chen <i>et al.</i> (2016)
<i>T. sinokoningii</i>	HMAS 271397	Qin <i>et al.</i> (2016)
<i>T. sparsum</i>	HMAS 273759	Qin <i>et al.</i> (2016)
<i>T. speciosum</i>	YMF 1.00205	Qiao <i>et al.</i> (2018)
<i>T. sphaerosporum</i>	HMAS 273763	Qin <i>et al.</i> (2016)
<i>T. subalni</i>	HMAS 275683	Zhang <i>et al.</i> (2018)
<i>T. subiculoides</i>	HMAS 254600	Zeng <i>et al.</i> (2019)
<i>T. subviride</i>	HMAS 273761	Qin <i>et al.</i> (2016)
<i>T. tenue</i>	HMAS 273785	Qin <i>et al.</i> (2017)
<i>T. texanum</i>	CBS H-22182	Montoya <i>et al.</i> (2016)
<i>T. tibetense</i>	HMAS 245010	Chen <i>et al.</i> (2016)
<i>T. undulatum</i>	PREM 61286	Du Plessis <i>et al.</i> (2018)
<i>T. vermifimicola</i>	CGMCC 3.19694	Gu <i>et al.</i> (2020)
<i>T. viridulum</i>	HMAS 273865	Qin <i>et al.</i> (2017)
<i>T. xanthum</i>	HMAS 247207	Chen <i>et al.</i> (2017)

ตารางที่ 4 (ต่อ)

Species	Ex-type culture	อ้างอิง
<i>T. xixiacum</i>	CGMCC 3.19697	Gu <i>et al.</i> (2020)
<i>T. zelobreve</i>	CGMCC 3.19695	Gu <i>et al.</i> (2020)
<i>T. zeloharzianum</i>	YMF 1.00268	Qiao <i>et al.</i> (2018)
<i>T. zonatum</i>	HMJAU 34820	Zhu <i>et al.</i> (2017)

บทบาทของรา *Trichoderma* species

รา *Trichoderma* ดำรงชีวิตเป็นผู้ย่อยสลาย (saprophyte) บางชนิดเป็นเอนโดไฟต์ และหลายชนิดมีคุณสมบัติในการควบคุมราสาเหตุโรคพืช โดยแต่ละไอโซเลตมีคุณสมบัติยับยั้งราสาเหตุโรคพืชที่แตกต่างกัน เช่น รา *T. harzianum* T-39 ควบคุมรา *B. cinerea* สาเหตุโรคราสีเทาของมะเขือเทศ รา *T. virens* ควบคุมรา *Fusarium* spp., *Pythium* spp., *Rhizoctonia* spp. และ *Verticillium dahlia* สาเหตุโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ โรครากและโคนเน่าของไม้ประดับ โรครากและโคนเน่าของถั่วเขียว โรคเหี่ยวของมันฝรั่ง ตามลำดับ (Weindling, 1932; Chet, 1987; Grosch *et al.*, 2007; Samuels *et al.*, 2015) นอกจากนี้รา *Trichoderma* ยังส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช (Inbar *et al.*, 1994) และบางสายพันธุ์สร้างสารออกฤทธิ์ชีวภาพฆ่าราสาเหตุโรคพืช (Monte, 2001; Hermosa *et al.*, 2004) ดังนั้นจึงมีการนำรา *Trichoderma* species มาใช้เป็นราปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี ซึ่งมีกลไกการยับยั้งที่แตกต่างกัน เช่น การแก่งแย่งแข่งขัน การทำลายชีวิต ชักน้ำให้เกิดต้านทานของพืช และการเป็นปรสิต (Harman *et al.*, 2004)

กลไกการเป็นปฏิปักษ์ของรา *Trichoderma* species

การเป็นปรสิต (parasitism)

รา *Trichoderma* ที่มีกลไกการเป็นปรสิตเมื่อเข้าทำลายราสาเหตุโรคพืชด้วยการพันรัดรอบเส้นใย หรือเจาะเข้าไปในเส้นใยของราสาเหตุโรคแล้วดูดกินสารอาหารทำให้เส้นใยของราสาเหตุโรคแห้งตายไปในที่สุด (Harman *et al.*, 2004; Omann *et al.*, 2012) ซึ่งมีรายงานว่ารา *Trichoderma* อย่างน้อย 75 สายพันธุ์มีศักยภาพในการเข้าทำลายราสาเหตุโรคพืช เช่น *Alternaria alternata*, *B. cinerea*, *R. solani*, *Sclerotinia sclerotium*, *Pythium* spp. และ *Fusarium* spp. (Harman *et al.*, 2004; Druzhinina *et al.*, 2011)

การทำลายชีวิต (antibiosis)

กลไกการทำลายชีวิตเกิดจากราส่งสารทุติยภูมิ (secondary metabolites) จากกระบวนการเมแทบอลิซึม (metabolism) โดยสารที่สร้างมีคุณสมบัติเป็นสาร

ปฏิชีวนะ (antibiotics) สารพิษ (toxins) และเอนไซม์ (enzymes) ที่สามารถทำลายหรือยับยั้งราสาเหตุโรคพืช เช่น รา *Trichoderma* species บางชนิดสามารถสร้างเอนไซม์ chitinase และ glucanase ทำหน้าที่ทำลาย polysaccharides, chitin และ β -glucans ซึ่งเป็นองค์ประกอบของผนังเซลล์ราสาเหตุโรคพืช (Howell *et al.*, 2002)

Sivasithamparam และ Ghisalberti (1998) รายงานว่ารา *Trichoderma* สร้างสารออกฤทธิ์ที่เป็นสารปฏิชีวนะ 43 ชนิด รวมถึง alkyl pyrones, isonitriles, polyketides, peptaibols, diketopiperazines, sesquiterpenes และ steroids ในรา *T. virens* สารปฏิชีวนะส่วนใหญ่ที่พบคือ peptaibols เช่น gliotoxin และ a small NRP (Velázquez-Robledo *et al.*, 2011; Mukherjee *et al.*, 2013) โดย peptaibols ใน class 11-, 14- และ 18-mer มีส่วนยับยั้งการงอกและการเจริญของรา *A. solani*, *P. capsica*, *R. solani*, *S. rolfsii* และ *S. cepivorum* (Velázquez-Robledo *et al.*, 2011)

จากรายงานของ Weindling (1941) แสดงให้เห็นว่ารา *T. virens* สามารถผลิตสารพิษที่ชื่อว่า gliotoxin เป็นสารปฏิชีวนะที่ออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของรา *R. solani* และ *Sclerotinia americana*

Metcalf และ Wilson (2001) รายงานว่ารา *T. koningii* สามารถทำลายเส้นใยของรา *Sclerotium cepivorum* ที่เข้าทำลายรากหอมใหญ่ ส่งผลให้รา *S. cepivorum* เข้าทำลายรากหอมใหญ่ได้น้อยหรือไม่เข้าทำลาย จากรายงานนี้จึงมีการศึกษาต่อโดย Baek และคณะ (1999) เนื่องจากรา *T. koningii* สามารถสร้างเอนไซม์ endo- และ exo-chitinases

การแก่งแย่งแข่งขัน (competition)

รา *Trichoderma* สามารถเจริญแก่งแย่งอาหารและพื้นที่อาศัยได้ดีกว่าราสาเหตุโรคพืช ส่งผลให้ราสาเหตุโรคเจริญได้ช้าลงหรือไม่สามารถเจริญต่อไปได้ เช่น รา *Trichoderma* บางชนิดสามารถผลิตสารไซเดอโรฟออร์ (siderophores) เป็นสารที่มีโมเลกุลขนาดเล็กที่ถูกปล่อยออกมาจับกับเหล็กจากภายนอกเข้าสู่เซลล์แบบ active transport โดยเหล็กมีความสำคัญต่อกระบวนการเมแทบอลิซึมและการเจริญของรา ในสภาวะค่าความเป็นกรดเบสที่เป็นกลางพบว่าธาตุเหล็กนั้นสามารถละลายได้ดี่มาก ส่งผลให้รานำเหล็กไปใช้ได้ยาก ดังนั้นรา *Trichoderma* ที่สามารถผลิตสารไซเดอโรฟออร์ได้สามารถแก่งแย่งธาตุเหล็กได้ดีกว่าราที่ไม่สามารถผลิตสารไซเดอโรฟออร์ในสภาวะที่มีธาตุเหล็กจำกัด จากรายงานของ Howell (2002) รา

T. koningii สามารถเจริญแก่แย่งอาหารและพื้นที่อาศัยบริเวณรากของต้นกล้าฝ้ายได้ดีกว่า *R. solani*

การชักนำให้เกิดความต้านทาน (induced resistance)

รา *Trichoderma* สามารถชักนำให้พืชเกิดกลไกการต้านทานต่อการเกิดโรค การต้านทานของพืชสามารถเกิดได้เฉพาะตำแหน่งหรือเกิดได้ทั่วต้นขึ้นอยู่กับชนิดและปริมาณของตัวกระตุ้น (Pal and Gardener, 2006) จากรายงานของ Harman และคณะ (2004) รายงานว่าการใช้รา *Trichoderma* spp. T-22 คลุกเมล็ดถั่วหรือราดดินสามารถกระตุ้นหรือชักนำให้พืชต้านทานต่อรา *B. cinerea* และ *Alternaria solani* สาเหตุโรคราสีเทาและโรคใบจุดของมะเขือเทศ รา *Colletotrichum graminicola* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของข้าวโพด และแบคทีเรีย *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* สาเหตุโรคใบไหม้ของถั่ว

จากกลไกการเป็นปฏิปักษ์ที่กล่าวมาข้างต้นรา *Trichoderma* species จึงได้รับความสนใจนำไปใช้ประโยชน์ทางการเกษตร ซึ่งจากรายงานของ Samuels และคณะ (2015) รายงานว่ารา *T. asperellum*, *T. atroviride*, *T. harzianum*, *T. virens* และ *T. viride* เป็นที่นิยมนำมาใช้เป็นชีวภัณฑ์ควบคุมเชื้อสาเหตุโรคพืช เช่น *T. harzianum* ใช้ชื่อทางการค้าว่า Bioderma-H ควบคุมราสาเหตุโรคบนรากและใบพืช และช่วยกระตุ้นการงอกของเมล็ด สามารถใช้ในฝ้าย ธัญพืช ผัก พืชน้ำมัน ไม้ผล และไม้ดอก *Trichoderma* sp. ใช้ชื่อทางการค้าว่า T-50BioHealth TH WSG ควบคุมเชื้อสาเหตุโรคในดิน ส่งเสริมการงอกของเมล็ดและการแตกใบ สามารถใช้ในพืชหลายชนิด เช่น ผัก ไม้ประดับ หญ้าสนาม และธัญพืช และ *T. virens* ใช้ชื่อทางการค้าว่า Rootmate ส่งเสริมสุขภาพพืช ควบคุมโรครากและโคนเน่าที่เกิดจากเชื้อ *Pythium* sp. สามารถใช้ในไม้ประดับและไม้ป่า

การสร้างเอนไซม์ไคติเนสของรา *Trichoderma* species

ไคติน (chitin) เป็นสารประกอบอินทรีย์ที่พบมากในธรรมชาติ เป็นส่วนประกอบสำคัญของผนังเซลล์ราคิดเป็น 75% ของน้ำหนัก (Urbina-Salazar *et al.*, 2018) เอนไซม์ที่ย่อยสลายไคติน คือเอนไซม์ไคติเนส (chitinase) ย่อยไคตินเป็น N-acetyl-D-glucosamine ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของน้ำตาลกลูโคส (Sahai and Manocha, 1993)

รา *Trichoderma* species บางชนิดที่มีกลไกการเป็นปรสิต และการทำลายชีวิต สามารถสร้างเอนไซม์ไคติเนสในการทำลายผนังเซลล์ของราสาเหตุโรคพืช (Sivasithamparam and Ghisalberti, 1998) เช่น *T. harzianum* สามารถสร้างเอนไซม์ไคติเนสทำลายผนังเซลล์รา *Sclerotium rolfsii* สาเหตุโรครากและโคนเน่า และรา *T. viride* สร้างเอนไซม์ไคติเนสย่อยไคติน ซึ่งเป็นองค์ประกอบของผนังเซลล์รา *Aspergillus niger* สาเหตุโรคราดำหลังการเก็บเกี่ยว

Fusarium oxysporum สาเหตุโรคเหี่ยว และ *S. rolfsii* สาเหตุโรครากและโคนเน่าในห้องปฏิบัติการ (El-Katatny *et al.*, 2000; Khatri *et al.*, 2017)

การทดสอบการสร้างเอนไซม์ไคติเนสของรา *Trichoderma* species สามารถทดสอบเบื้องต้นได้ด้วย gel diffusion method บนอาหาร chitinase detection medium และวัดค่ากิจกรรมเอนไซม์ด้วยวิธี dinitrosalicylic acid (DNS) และวัดค่าดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (Spectrophotometer) (Agrawal *et al.*, 2012)

Urbina-Salazar และคณะ (2018) ได้ทดสอบการสร้างเอนไซม์ไคติเนสของรา *T. harzianum* บนสูตรอาหารที่มีส่วนผสมแตกต่างกัน ได้แก่ อาหารที่มีส่วนผสมของ chitin powder (Ch_p), colloidal chitin (Ch_c) และ mushroom Chitin/Glucan enriched fraction (M-Ch/G-F) พบว่ารา *T. harzianum* มีกิจกรรมเอนไซม์ไคติเนสสูงที่สุดบนอาหารที่มีส่วนผสมของ M-Ch/G-F ที่ค่า 261.5 mU L^{-1} ต่อวัน เมื่อเทียบกับอาหารที่มีส่วนผสมของ Ch_p และ Ch_c

Khatri และคณะ (2017) ได้ทดสอบการสร้างเอนไซม์ไคติเนสของรา *T. harzianum*, *T. hamatum* และ *T. viride* บนอาหาร chitinase secretion detection medium และวัดค่ากิจกรรมเอนไซม์ไคติเนส พบว่ารา *T. viride* มีศักยภาพในการสร้างเอนไซม์ไคติเนสมากที่สุดและมีศักยภาพในการเป็นปฏิปักษ์ต่อรา *A. niger*, *F. oxysporum* และ *S. rolfsii*

Loc และคณะ (2020) ได้ทดสอบค่ากิจกรรมเอนไซม์ของรา *T. asperellum* (PQ34) พบว่ามีค่ากิจกรรมเอนไซม์สูงสุดประมาณ 22 U/mL หลังจาก 96 ชั่วโมง ณ อุณหภูมิ 40°C ที่ค่า pH 7

วัตถุประสงค์

1. เพื่อทราบชนิดและอธิบายลักษณะทางสัณฐานวิทยาของรา *Trichoderma* species
2. เพื่อให้ได้รา *Trichoderma* สายพันธุ์ที่สร้างเอนไซม์ไคติเนส

บทที่ 2

วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการ

วิธีการทดลอง

การทดลองที่ 1 การเก็บตัวอย่างดิน

เก็บตัวอย่างดินแบบสุ่มบริเวณโคนต้นไม้ที่มีความอุดมสมบูรณ์ในพื้นที่ 14 จังหวัดภาคใต้ของประเทศไทย โดยใช้อุปกรณ์เก็บตัวอย่างดิน (soil probe) เก็บดินที่ความลึก 0-15 เซนติเมตร บรรจุใส่ถุงซิปล็อคและบันทึกพิกัดภูมิศาสตร์ ข้อมูลสถานที่ วันที่เก็บตัวอย่าง เก็บรักษาตัวอย่างดินที่อุณหภูมิ 10°C (Kumar *et al.*, 2012)

การทดลองที่ 2 การแยก *Trichoderma* species

แยก *Trichoderma* species จากตัวอย่างดินทั้งหมดด้วยวิธีเจือจางลำดับส่วนครั้งละ 10 เท่า (ten-fold serial dilution) โดยชั่งดินตัวอย่างละ 10 กรัม ใส่ในน้ำกลั่นหนึ่งขวด 90 มิลลิลิตร เขย่าด้วยความเร็ว 180 รอบ/นาที เป็นเวลา 15 นาที นำน้ำตัวอย่างดินมาเจือจางลำดับส่วนครั้งละ 10 เท่า ดูดน้ำตัวอย่างดิน 1 มิลลิลิตร ที่ความเข้มข้น 10^{-3} (Rahman *et al.*, 2011) ใส่ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อขนาด 9 เซนติเมตร จากนั้นเทอาหาร *Trichoderma harzianum* selective agar (Himedia, India) ปริมาตร 18 มิลลิลิตร (Sander, 2012) ที่ใส่ยาปฏิชีวนะ streptomycin ความเข้มข้น 0.03 กรัม/ลิตร ลงไป ทำการทดลองจำนวน 3 ซ้ำ บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง (25-30°C) เป็นเวลา 7 วัน สังเกตการเจริญของเส้นใยทุกวัน แยกที่คาดว่า เป็น *Trichoderma* species มาเลี้ยงให้บริสุทธิ์โดยตัดปลายเส้นใย เลี้ยงลงในอาหาร potato dextrose agar (PDA; มันฝรั่ง 200 กรัม น้ำตาลเดกซ์โทรส 20 กรัม ผงวุ้น 17 กรัม น้ำ 1 ลิตร) บ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7 วัน

นํารวมที่ได้มาแยกสปอร์เดี่ยวด้วยวิธี single spore isolation โดยใช้เข็มเขี่ยเชื้อแต่ละสปอร์ของราใส่ลงในหลอดทดลองที่มีน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ 4.5 มิลลิลิตร ที่ผสม tween 20 (1% Polysorbate 20) เจือจางลำดับส่วนครั้งละ 10 เท่า ดูดสปอร์แขวนลอย 0.5 มิลลิลิตร ที่ความเข้มข้น 10^{-3} ลงบนอาหาร PDA แล้ว spread plate บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 12-24 ชั่วโมง ตัดปลายเส้นใยที่งอกออกจากสปอร์เดี่ยว (germ tube) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo (Leica S8AP0, Germany) เลี้ยงในหลอดอาหารเลี้ยง cornmeal agar (CMA) (Himedia, India) เก็บไว้จำแนกชนิดต่อไป

การทดลองที่ 3 การระบุชนิดของรา *Trichoderma* species

การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา

นำรา *Trichoderma* species ที่แยกได้ เลี้ยงบนอาหาร 3 ชนิด ได้แก่ อาหาร PDA (Himedia, India) อาหาร cornmeal dextrose agar (CMD) (Himedia, India) ที่เติมน้ำตาลเดกซ์โทรส 20 กรัม) และอาหาร Spezieller Nährstoffarmer agar (SNA; KH_2PO_4 1 กรัม KNO_3 1 กรัม $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.5 กรัม KCl 0.5 กรัม น้ำตาลกลูโคส 0.2 กรัม น้ำตาลซูโครส 0.2 กรัม ผงวุ้น 20 กรัม น้ำกลั่น 1 ลิตร) บ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7 วัน สังเกตลักษณะของโคโลนี การเจริญของเส้นใย สีของโคโลนี การเปลี่ยนสีของอาหารเลี้ยงเชื้อ และทำ slide culture ตามวิธีของ Riddell (1950) ส่งและถ่ายภาพลักษณะโครงสร้างของเชื้อรารายได้กล้องจุลทรรศน์ (Leica DM750, Germany) ซึ่งประกอบด้วยกล้องถ่ายภาพ (Leica MD170 HD, Germany) วัดขนาดโครงสร้างสี่บัพันธ์ของราจากภาพถ่ายด้วยโปรแกรม Leica application suite (LAS software version 4.9.0) เปรียบเทียบกับเอกสารอ้างอิง Bissett (1991), Kubicek (1998) และ Samuels *et al.*, 2015

การศึกษาลักษณะทางชีวโมเลกุลโดยใช้ลำดับนิวคลีโอไทด์

สกัด DNA จากเส้นใยราด้วยวิธี mini-preparation ของ Saitoh และคณะ (2006) โดยตัดชิ้นวุ้นที่มีปลายเส้นใยของราใส่หลอด microtube เติม lysis buffer (200mM Tris-HCl, 50mM ethylenediaminetetraacetic acid, 200mM NaCl, 1% *n*-lauroylsarcosine sodium salt, pH 8.0) 500 ไมโครลิตร บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง 10 นาที เขย่า 2-3 ครั้ง นำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่อง microcentrifuge (Sigma 3-16KL, Germany) ที่ความเร็ว 12,000 รอบ/นาที อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 10 นาที ดูดส่วนใส (supernatant) 300 ไมโครลิตร ใส่ลงในหลอด microtube หลอดใหม่ เติม absolute ethanol 750 ไมโครลิตร ปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 12,000 รอบ/นาที อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 5 นาที เทส่วนของเหลวทิ้ง เติม 70% ethanol 500 ไมโครลิตร ปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 12,000 รอบ/นาที อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 5 นาที เทส่วนของเหลว (70% ethanol) ทิ้ง ตาก DNA โดยเปิดฝาหลอด microtube วางคว่ำไว้ข้ามคืน จากนั้นละลาย DNA ด้วย Dnase-free water ปริมาตร 20 ไมโครลิตร

ตรวจหา DNA โดยดู DNA 3 ไมโครลิตร ผสมกับ Novel Juice (GeneDireX, Taiwan) 2 ไมโครลิตร นำไปแยก DNA โดยวิธีเจลอิเล็กโทรโฟรีซิส (gel electrophoresis) บน 1% อะกาโรสเจล (agarose gel) กระแสไฟฟ้า 100 โวลต์ เป็นเวลา 25 นาที ตรวจสอบภายใต้ UV transilluminator (GenedireX, Taiwan) นำ DNA ที่สกัดได้ไปเพิ่มปริมาณ โดยใช้เทคนิค PCR (polymerase chain reaction) ที่ตำแหน่ง internal transcribed spacer (ITS1-5.8S-

ITS2) ด้วยคู่ไพรเมอร์ ITS1/ITS4 (White et al., 1990) ตำแหน่งยีน translation elongation factor 1 alpha (*tef1*) ด้วยไพรเมอร์ EF1-728F (Carbone et al., 1999) และ TEF1LLErev (Jaklitsch et al., 2005) โดยปฏิกิริยาทั้งหมด 50 ไมโครลิตร ประกอบด้วย DNA 4 ไมโครลิตร forward primer 2 ไมโครลิตร reverse primer 2 ไมโครลิตร 5x HOT FIREPol® Blend Master Mix 10 ไมโครลิตร และ Rnase – free water 32 ไมโครลิตร นำหลอด PCR ใส่เครื่อง thermal cycler (BIO-RAD T100™, USA) ตั้งเวลาและอุณหภูมิดังนี้ Pre denaturation ที่อุณหภูมิ 95°C เป็นเวลา 13 นาที จำนวน 1 รอบ Denaturation ที่อุณหภูมิ 95°C เป็นเวลา 20 วินาที Annealing ที่อุณหภูมิ 55°C เป็นเวลา 30 วินาที Extension ที่อุณหภูมิ 72°C เป็นเวลา 1 นาที ทำซ้ำจำนวน 30 รอบ และ Extension ที่อุณหภูมิ 72°C เป็นเวลา 5 นาที ตรวจสอบ PCR product โดยวิธีเจลอิเล็กโทรโฟรีซิส จากนั้นส่ง PCR product ไปยังบริษัท Macrogen (South Korea) หรือ ATGC CO.,LTD (Thailand) เพื่อหาลำดับนิวคลีโอไทด์ (nucleotide) และนำลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้รับมาเทียบหาชนิดของราใน GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>)

นำลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ตำแหน่งยีน ITS และ *tef1* เปรียบเทียบด้วยโปรแกรม BLASTN ใน GenBank เพื่อจัดกลุ่มรา *Trichoderma* species ที่แยกได้ตาม clade จากอ้างอิงของ Samuels และ Hebbard (2015) และวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ด้วย phylogenetic tree โดยนำลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ตำแหน่งยีน *tef1* ของรา *Trichoderma* species มาจัดเรียง (alignment) ด้วย Clustal W ใช้โปรแกรม BioEdit (North Carolina state university, USA. 1999) จากนั้นวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์และสร้างแผนภูมิวิวัฒนาการ (phylogenetic tree) ด้วยวิธี Maximum likelihood ใช้โปรแกรม MEGA-X (Kumar et al., 2018) เทียบกับ ex-type (ตารางที่ 5) ทดสอบความเชื่อมั่นจากค่า bootstrap จำนวน 1,000 ซ้ำ นำข้อมูลของไฟโลเจเนติกทรีที่ได้มาวิเคราะห์ร่วมกับลักษณะทางสัณฐานวิทยา เพื่อระบุชนิดของรา

ตารางที่ 5 NCBI Genbank accessions ของรา *Trichoderma* species ที่ใช้สร้างแผนภูมิวิวัฒนาการ

Taxon	Clade	สายพันธุ์* (strain)	GenBank accession <i>tef1</i>
<i>T. arundinaceum</i>	Brevicompactum	ATCC 90237 ^T	EU338291
<i>T. auranteffusum</i>	Brevicompactum	CBS 119284 ^T	FJ860613
<i>T. brevicompactum</i>	Brevicompactum	TUB F-1076 ^T	AY857297
		HZA4	MK850826
<i>T. margaretense</i>	Brevicompactum	C.P.K. 3127 ^T	FJ860625

ตารางที่ 5 (ต่อ)

Taxon	Clade	สายพันธุ์* (strain)	GenBank accession
			<i>tef1</i>
<i>T. protrudens</i>	Brevicompactum	DIS 119F ^T	EU338289
<i>T. rodmanii</i>	Brevicompactum	GJS 91-88 ^T	EU338286
<i>T. turrialbense</i>	Brevicompactum	CBS 112445 ^T	EU338284
<i>T. afarasin</i>	Harzianum	GJS 99-227 ^T	AF348093
<i>T. afroharzianum</i>	Harzianum	GJS 04-186 ^T	FJ463301
<i>T. aggressivum</i>	Harzianum	DAOM 222156 ^T	AF348098
<i>T. alni</i>	Harzianum	CBS 120633 ^T	EU498312
<i>T. alpinum</i>	Harzianum	HMAS 248821 ^T	KY688012
<i>T. amazonicum</i>	Harzianum	IB50 ^T	HM142376
<i>T. bannaense</i>	Harzianum	HMAS 248840 ^T	KY688037
<i>T. breve</i>	Harzianum	HMAS 248844 ^T	KY688045
<i>T. brevicrassum</i>	Harzianum	HMAS 248871 ^T	KY688064
<i>T. brunneoviride</i>	Harzianum	CBS 121130 ^T	EU498316
<i>T. camerunense</i>	Harzianum	GJS 99-230 ^T	AF348107
<i>T. catoptron</i>	Harzianum	GJS 02-76 ^T	AY737726
<i>T. ceramicum</i>	Harzianum	CBS 114576 ^T	FJ860628
<i>T. cerinum</i>	Harzianum	DAOM 230012 ^T	KJ871242
<i>T. cinnamomeum</i>	Harzianum	GJS 97-237 ^T	AY737732
<i>T. concentricum</i>	Harzianum	HMAS 248833 ^T	KY688027
<i>T. epimyces</i>	Harzianum	CBS 120534 ^T	EU498320
<i>T. guizhouense</i>	Harzianum	HGUP0038 ^T	JN215484
<i>T. harzianum</i>	Harzianum	CBS 226.95 ^T	AF348101
<i>T. hengshanicum</i>	Harzianum	HMAS 248852 ^T	KY688054
<i>T. hirsutum</i>	Harzianum	HMAS 248834 ^T	KY688029
<i>T. hunanense</i>	Harzianum	HMAS 248841 ^T	KY688039
<i>T. inhamatum</i>	Harzianum	CBS 273.78 ^T	AF348099
<i>T. ingratum</i>	Harzianum	HMAS 248822 ^T	KY688018
<i>T. lentiforme</i>	Harzianum	GJS 98-6 ^T	AF469195
<i>T. lentinulae</i>	Harzianum	CGMCC 3.19847 ^T	MN605878
<i>T. liberatum</i>	Harzianum	HMAS 248831 ^T	KY688025
<i>T. lixii</i>	Harzianum	GJS 97-96 ^T	AF443938
<i>T. neotropicale</i>	Harzianum	LA11 ^T	HQ022771
<i>T. parepimyces</i>	Harzianum	CBS 122769 ^T	FJ860664
<i>T. pinicola</i>	Harzianum	SFC20130926-S233 ^T	MH025981
<i>T. pleuroti</i>	Harzianum	CBS 124387 ^T	HM142382
<i>T. pleuroticola</i>	Harzianum	CBS 124383 ^T	HM142381

ตารางที่ 5 (ต่อ)

Taxon	Clade	สายพันธุ์* (strain)	GenBank accession
			<i>tef1</i>
<i>T. polypori</i>	Harzianum	HMAS 248855 ^T	KY688058
<i>T. pseudodensum</i>	Harzianum	HMAS 248828 ^T	KY688023
<i>T. pseudogelatinosum</i>	Harzianum	CNUN309 ^T	HM920202
<i>T. rifaii</i>	Harzianum	DIS 337F ^T	FJ463321
<i>T. rufobrunneum</i>	Harzianum	WYZ-2013b ^T	KF729989
<i>T. rugulosum</i>	Harzianum	SCF20180301-001 ^T	MH025984
<i>T. simplex</i>	Harzianum	HMAS 248844 ^T	KY688041
<i>T. solum</i>	Harzianum	HMAS 248848 ^T	KY688050
<i>T. stramineum</i>	Harzianum	GJS 02-84 ^T	AY391999
<i>T. tawa</i>	Harzianum	GJS 97-174 ^T	AY392004
<i>T. tomentosum</i>	Harzianum	DAOM 178713a ^T	AY750882
<i>T. velutinum</i>	Harzianum	DAOM 230013 ^T	AY937415
<i>T. vermifimicola</i>	Harzianum	CGMCC 3.19694 ^T	MN605882
<i>T. xixiacum</i>	Harzianum	CGMCC 3.19697 ^T	MN605885
<i>T. zelobreve</i>	Harzianum	CGMCC 3.19695 ^T	MN605883
<i>T. zeloharzianum</i>	Harzianum	YMF 1.00268 ^T	MH183181
<i>T. aethiopicum</i>	Longibrachiatum	PPRC H5 ^T	EU401616
<i>T. andinense</i>	Longibrachiatum	GJS 90-140 ^T	AY956321
<i>T. bissettii</i>	Longibrachiatum	UTHSC 08-2443 ^T	HG931266
<i>T. capillare</i>	Longibrachiatum	CBS 130629 ^T	JN182283
<i>T. citrinoviride</i>	Longibrachiatum	CBS 258.85 ^T	AY865637
<i>T. flagellatum</i>	Longibrachiatum	PPRC-ET58 ^T	FJ763184
<i>T. ghanense</i>	Longibrachiatum	TNS-F 237181 ^T	AY865638
<i>T. gillesii</i>	Longibrachiatum	GJS 00-72 ^T	JN175583
<i>T. gracile</i>	Longibrachiatum	GJS 10-263 ^T	JN175598
<i>T. konilangbra</i>	Longibrachiatum	DAOM 229906 ^T	EU280040
<i>T. longibrachiatum</i>	Longibrachiatum	ATCC 18648 ^T	AY937412
<i>T. novae-zelandiae</i>	Longibrachiatum	GJS 81-265 ^T	AY937448
<i>T. orientale</i>	Longibrachiatum	GJS 88-81 ^T	EU401581
<i>T. parareesei</i>	Longibrachiatum	TUB F-1066 ^T	GQ354353
<i>T. pinnatum</i>	Longibrachiatum	GJS 04-100 ^T	JN175571
<i>T. pseudokoningii</i>	Longibrachiatum	DAOM 167678 ^T	KJ713204
<i>T. reesei</i>	Longibrachiatum	DAOM 167654 ^T	KJ713193
<i>T. saturnisporum</i>	Longibrachiatum	IMI 146852 ^T	AY865642
<i>T. solani</i>	Longibrachiatum	GJS 08-81 ^T	JN175597
<i>T. longipile</i>	Strictipile	DAOM 177227 ^T	AY937430

ตารางที่ 5 (ต่อ)

Taxon	Clade	สายพันธุ์* (strain)	GenBank accession
			<i>tef1</i>
<i>T. spirale</i>	Strictipile	DAOM 186974 ^T	EU280049
			MG727891
<i>T. strictipile</i>	Strictipile	DAOM 172827 ^T	KJ871149
<i>T. crassum</i>	Virens	DAOM 164916 ^T	EU280048
<i>T. virens</i>	Virens	GLI 39 ^T	GU591800
		TRB1-7	MW325737
		Tvien6	MT081440
<i>T. appalachiense</i>	Viride	GJS 97-243 ^T	DQ307503
<i>T. asperelloides</i>	Viride	GJS 04-116 ^T	GU248412
<i>T. asperellum</i>	Viride	ATCC 204424 ^T	AF456907
<i>T. atroviride</i>	Viride	CBS 142.95 ^T	AY376051
<i>T. austrokoningii</i>	Viride	GJS 99-146 ^T	DQ307561
<i>T. caerulescens</i>	Viride	S195 ^T	JN715621
<i>T. dingleyae</i>	Viride	CBS 119056 ^T	KJ665467
<i>T. dorothaeae</i>	Viride	GJS 99-202 ^T	DQ307536
<i>T. erinaceus</i>	Viride	DAOM 230019 ^T	AY750880
<i>T. evansii</i>	Viride	DIS 341HI ^T	EU883566
<i>T. flaviconidium</i>	Viride	GJS 99-49 ^T	DQ020001
<i>T. hamatum</i>	Viride	DAOM 167057 ^T	AY750893
<i>T. hispanicum</i>	Viride	S453 ^T	JN715659
<i>T. intricatum</i>	Viride	GJS 97-88 ^T	AY376060
<i>T. junci</i>	Viride	CBS 120926 ^T	FJ860641
<i>T. koningii</i>	Viride	CBS 457.96 ^T	AF456909
<i>T. koningiopsis</i>	Viride	GJS 93-20 ^T	DQ284966
<i>T. lieckfeldtae</i>	Viride	GJS 00-14 ^T	EU856326
<i>T. martiale</i>	Viride	GJS 04-40 ^T	DQ307534
<i>T. neokoningii</i>	Viride	CBS 120070 ^T	KJ665620
<i>T. neorufoides</i>	Viride	CBS 119506 ^T	FJ860657
<i>T. neorufum</i>	Viride	GJS 96-135 ^T	AF487670
<i>T. neosinense</i>	Viride	CBS 134884 ^T	KJ665624
<i>T. ochroleucum</i>	Viride	CBS 119502 ^T	FJ860659
<i>T. olivascens</i>	Viride	S475 ^T	KC285624
<i>T. paratroviride</i>	Viride	CBS 136489 ^T	KJ665627
<i>T. paraviridescens</i>	Viride	CBS 119321 ^T	DQ672610
<i>T. paucisporum</i>	Viride	GJS 01-13 ^T	DQ109540
<i>T. pezizoides</i>	Viride	GJS 01-257 ^T	AY937438

ตารางที่ 5 (ต่อ)

Taxon	Clade	สายพันธุ์* (strain)	GenBank accession
			<i>tef1</i>
<i>T. rogersonii</i>	Viride	GJS 94-115 ^T	AF456906
<i>T. samuelsii</i>	Viride	S5 ^T	JN715651
<i>T. scalesiae</i>	Viride	GJS 03-74 ^T	DQ841726
<i>T. stilbohypoxyli</i>	Viride	CBS 992.97 ^T	DQ109546
<i>T. subeffusum</i>	Viride	CBS 120929 ^T	FJ860707
<i>T. taiwanense</i>	Viride	GJS 95-93 ^T	DQ284973
<i>T. theobromicola</i>	Viride	DIS 85f ^T	EU856321
<i>T. trixiae</i>	Viride	CPK 2138 ^T	DQ672606
<i>T. valdunense</i>	Viride	CBS 120923 ^T	FJ860717
<i>T. viride</i>	Viride	CBS 119327 ^T	DQ672617
<i>T. viridescens</i>	Viride	CBS 433.34 ^T	AY376048
<i>T. viridialbum</i>	Viride	S250 ^T	KC285706
<i>T. virilente</i>	Viride	S281 ^T	KC285692
<i>T. voglmayrii</i>	Viride	CBS 117711 ^T	DQ086146
<i>T. yunnanense</i>	Viride	CBS 121219 ^T	GU198243
<i>Protocrea farinosa</i>	Outgroup	CBS 121551 ^T	EU703889

หมายเหตุ: ^T คือ ex-type

การทดลองที่ 4 การทดสอบการสร้างเอนไซม์ไคตินเนสเบื้องต้น

เตรียม colloidal chitin โดยตัดแปลงมาจากวิธีของ Kim และคณะ (2001) ดังนี้ นำไคตินสำเร็จรูป (Himedia; chitin, flakes, from shrimp shells poly(N-acetyl-1,4-β-D-glucopyranosamine) 10 กรัม ทำละลายด้วยแอซีโตน (acetone) 20 มิลลิลิตร เติมกรดไฮโดรคลอริก (35–37% Hydrochloric acid) 200 มิลลิลิตร พร้อมคนเบา ๆ เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 10°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำมากรองผ่านผ้าขาวบางลงใน 50% ethanol 600 มิลลิลิตร (ซึ่งส่วนที่เป็นตะกอน) ล้างด้วยน้ำรอให้ตกตะกอนแล้วเทส่วนใสออก (ทำซ้ำประมาณ 5-7 ครั้ง จนได้ pH 7.0) นำตะกอน colloidal chitin ที่ได้ปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 8,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 5 นาที เเทน้ำออก นำ colloidal chitin ฆ่าเชื้อในเครื่องนึ่งฆ่าเชื้อ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121°C ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

นำรา *Trichoderma* ที่แยกได้มาทดสอบการสร้างเอนไซม์ไคตินเนสเบื้องต้นด้วย gel diffusion method บนอาหาร chitinase detection medium (MgSO₄·7H₂O 0.3 กรัม (NH₄)₂SO₄ 3.0 กรัม KH₂PO₄ 2.0 กรัม citric acid monohydrate 1.0 กรัม ผงวุ้น 15 กรัม Tween-

80 200 ไมโครลิตร colloidal chitin 4.5 กรัม bromocresol purple 0.15 กรัม น้ำ 1 ลิตร) ที่ pH 4.7 (Agrawal & Kotasthane, 2012) โดยใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร เจาะบริเวณขอบโคโคไคโนนีของรา *Trichoderma* ที่เลี้ยงบนอาหาร PDA เป็นเวลา 3 วัน มาวางบน กลางอาหาร chitinase detection medium บ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 14 วัน สังเกตและบันทึก สีของอาหารที่เปลี่ยนแปลงจากสีเหลืองเป็นสีม่วงเมื่อรา *Trichoderma* species สร้างเอนไซม์ ไคติเนส

บทที่ 3

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การเก็บตัวอย่างดินและการแยกรา *Trichoderma* species

เก็บรวบรวมตัวอย่างดินจำนวน 23 ตัวอย่างจาก 14 จังหวัดภาคใต้ของประเทศไทย สามารถแยกรา *Trichoderma* species ได้ทั้งหมด 148 ไอโซเลต (ตารางที่ 6) การศึกษาในครั้งนี้มีข้อสังเกตว่าจำนวนเชื้อที่ได้ในแต่ละตัวอย่างดินขึ้นอยู่กับลักษณะของดิน โดยดินที่มีลักษณะเป็นดินร่วนสีน้ำตาลเข้มถึงดำและมีเศษซากพืชปนอยู่มากแยกได้รา *Trichoderma* species จำนวนมากกว่าดินที่มีลักษณะเป็นดินทรายและดินเหนียวสีแดง อาจเกิดจากดินดังกล่าวมีอินทรีย์วัตถุสูง เนื่องจากเป็นดินที่อยู่รอบรากหรือใต้ต้นไม้ใหญ่ (Contreras-Cornejo *et al.*, 2016) อย่างไรก็ตามการทดลองครั้งนี้ไม่ได้วัดชนิดและปริมาณธาตุอาหารในดินและไม่ได้ศึกษาความหลากหลาย (diversity) ของรา *Trichoderma* species จึงไม่ได้หาความสัมพันธ์ระหว่างราสกุลนี้กับสถานที่เก็บตัวอย่างดิน งานวิจัยนี้ต้องการเก็บรวบรวมรา *Trichoderma* species เพื่อนำมาระบุชนิดและคัดเลือกสายพันธุ์ที่สร้างเอนไซม์ไคตินเนสเท่านั้น

ตารางที่ 6 ตำแหน่งที่เก็บตัวอย่างดินและจำนวนรา *Trichoderma* species ที่แยกได้

จังหวัด	พิกัดภูมิศาสตร์			จำนวน (ไอโซเลต)
	ละติจูด	ลองจิจูด	ระดับความสูงเหนือ ระดับน้ำทะเล (เมตร)	
กระบี่	N 8°11'1"	E 98°49'55"	40	4
	N 8°12'53"	E 98°46'38"	10	7
ชุมพร	N 10°34'49"	E 99°6'56"	40	2
	N 9°43'45"	E 98°40'55"	100	1
ตรัง	N 7°24'17"	E 99°31'30"	20	2
	N 7°23'35"	E 99°32'43"	20	11
นครศรีธรรมราช	N 8°9'21"	E 99°41'46"	70	8
นราธิวาส	N 6°27'46.4"	E 101°46'58.6"	-	6
ปัตตานี	N 6°45'21.1"	E 101°05'23.1"	-	13
พังงา	N 8°24'08.0"	E 98°26'45.2"	-	4
	N 8°32'7"	E 98°33'48"	10	6
	N 8°32'10"	E 98°33'35"	220	16
พัทลุง	N 7°44'18"	E 100°2'35"	10	10

ตารางที่ 6 (ต่อ)

จังหวัด	พิกัดภูมิศาสตร์			จำนวน (ไอโซเลต)
	ละติจูด	ลองจิจูด	ระดับความสูงเหนือ ระดับน้ำทะเล (เมตร)	
ภูเก็ต	N 7°57'9"	E 98°16'57"	20	5
	N 8°1'37"	E 98°20'32"	10	6
	N 8°4'18"	E 98°19'53"	20	8
ยะลา	N 6°40'34"	E 101°17'13"	20	11
ระนอง	N 9°57'27"	E 98°39'7"	60	1
สงขลา	N 6°77'69"	E 100°66'92"	-	2
	N 7°0'14"	E 100°30'26"	70	9
สตูล	N 6°51'17"	E 100°9'8"	60	11
	N 6°51'19"	E 100°9'12"	90	3
สุราษฎร์ธานี	N 8°54'30"	E 98°53'6"	10	2
รวม				148

การระบุชนิดของรา *Trichoderma* species

จากการตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาเบื้องต้นของรา *Trichoderma* species ทั้ง 148 ไอโซเลต สามารถจัดกลุ่มของรา *Trichoderma* species เป็น 6 กลุ่ม โดยอาศัยลักษณะของโคนิไดโอฟอร์ ได้แก่ Acremonium-type, Gliocladium-type, Longibrachiatum-type, Pachybasium-type, Pyramidal-type และ Verticillium-type จำนวน 1, 11, 5, 45, 75 และ 11 ไอโซเลต ตามลำดับ ซึ่งลักษณะทางสัณฐานวิทยาของรา *Trichoderma* species ทั้ง 6 กลุ่มนั้นในแต่ละกลุ่มมีไอโซเลตที่มีลักษณะเหมือนกันจึงทำการคัดเลือกตัวแทนมาศึกษาลักษณะทางชีวโมเลกุลโดยใช้ลำดับนิวคลีโอไทด์จำนวน 102 ไอโซเลต (ตารางที่ 7)

การศึกษานี้พบว่าลักษณะโคนิไดโอฟอร์ที่พบมากที่สุดคือ Pyramidal-type รองมาคือ Pachybasium-type และพบน้อยที่สุดคือ Acremonium-type จากรายงานของ Samuels และคณะ (2015) ได้กล่าวว่าร่า *Trichoderma* species ส่วนใหญ่มีลักษณะโคนิไดโอฟอร์แบบ Pyramidal-type

ร่า *Trichoderma* species ที่แยกได้มีลักษณะโคนิไดโอฟอร์ทุกแบบของร่า *Trichoderma* ในเอกสารอ้างอิง โดยลักษณะโคนิไดโอฟอร์ใช้ในการจัดกลุ่มเท่านั้น แต่ยังไม่สามารถระบุชนิดได้เนื่องจากร่า *Trichoderma* บางชนิดมีลักษณะโคนิไดโอฟอร์มากกว่าหนึ่งลักษณะและจากรายงานของ Samuels และคณะ (2015) ได้กล่าวว่าการระบุชนิดของร่าสกุลนี้

โดยใช้เพียงลักษณะสัณฐานวิทยาเพียงอย่างเดียวไม่เพียงพอต่อการระบุชนิด เนื่องจากราสกุลนี้มีหลายชนิดที่มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่คล้ายคลึงกันมากทำให้ยากต่อการระบุชนิด

ตารางที่ 7 การจำแนกรา *Trichoderma* species โดยใช้ลักษณะโคไนดีโอฟอร์

ลักษณะโคไนดีโอฟอร์	จำนวน	ไอโซเลต
Acremonium-type	1	TriSt 1-11
Gliocladium-type	11	TriPhk 2-2, TriPhk 4-1, TriPhk 4-2, TriPhk 4-3, TriPhk 4-4, TriPhk 4-6, TriPhk 4-7, TriPtL 1-2, TriPtn 1-7, TriPtn 1-11 และ TriSt 3-1
Longibrachiatum-type	5	TriKrb 2-2, TriKrb 2-4, TriNkr 1-7, TriPhk 2-3 และ TriYI 1-7
Pachybasium-type	45	TriKrb 2-1, TriKrb 2-5, TriKrb2-6, TriKrb 2-7, TriNkr 1-1, TriNkr 1-2, TriNkr 1-3, TriNkr 1-4, TriNkr 1-5, TriNkr 1-6, TriNkr 1-8, TriPhk 2-4, TriPtL 1-1, TriPtL 1-4, TriPtL1-6, TriPtn 1-2, TriPtn 1-3, TriPtn 1-6, TriPtn 1-12, TriPtn 1-13, TriSk 2-1, TriSk 2-2, TriSk 2-3, TriSk 2-4, TriSk 3-5, TriSt 1-1, TriSt 1-2, TriSt 1-3, TriSt 1-4, TriSt 1-5, TriSt 1-6, TriSt 1-7, TriSt 1-8, TriSt 1-9, TriSt 1-10, TriTrG 1-1, TriTrG 1-2, TriYI 1-1 TriYI 1-2, TriYI 1-3, TriYI 1-4, TriYI 1-6, TriYI 1-9, TriYI 1-10 และ TriYI 1-11
Pyramidal-type	75	TriChP 1-1, TriChP 1-2, TriChP 2-1, TriKrb 1-1, TriKrb 1-2, TriKrb 1-3, TriKrb 1-4, TriKrb 2-3, TriNr 1-1, TriNr 1-2, TriNr 1-3, TriNr 1-4, TriNr 1-5, TriNr 1-6, TriPhk 1-1, TriPhk 1-2, TriPhk 1-3, TriPhk 1-4, TriPhk 1-5, TriPhk 2-1, TriPhk 2-5, TriPhk 2-6, TriPhk 4-5, TriPhk 4-8, TriPN 4-1, TriPN 4-2, TriPN 4-3, TriPN 4-4, TriPN 4-5, TriPN 4-6, TriPN 5-2, TriPN 5-3, TriPN 5-4, TriPN 5-6, TriPN 5-7, TriPN 5-8, TriPN 5-9, TriPN 5-10, TriPN 5-11, TriPN 5-12, TriPN 5-13, TriPN 5-14, TriPN 5-15, TriPN 5-16, TriPtL 1-3, TriPtL 1-5, TriPtL 1-7, TriPtL 1-8, TriPtL 1-9, TriPtL 1-10, TriPtn 1-1, TriPtn 1-5, TriPtn 1-9, TriRn 1-1, TriSk 1-1, TriSk 1-2, TriSk 3-1, TriSk 3-2, TriSk 3-3, TriSk 3-4, TriSn 1-1, TriSn 2-1, TriSt 3-2, TriTrG 3-1, TriTrG 3-2, TriTrG 3-3, TriTrG 3-4, TriTrG 3-5, TriTrG 3-6, TriTrG 3-7, TriTrG 3-8, TriTrG 3-10, TriTrG 3-11, TriYI 1-5, TriYI 1-8
Verticillium-type	11	TriPN 2-1, TriPN 2-2, TriPN 3-1, TriPN 3-2, TriPN 5-1, TriPN 5-5, TriPtn 1-4, TriPtn 1-8, TriPtn 1-10, TriSt 3-3 และ TriTrG 3-9

*หมายเหตุ: ตัวอักษรพิมพ์หนาสุดใช้เป็นตัวแทนในการศึกษาลักษณะทางชีวโมเลกุล

จากการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ ITS (ITS1-5.8S-ITS2) และยีน *tef1* โดยการนำไปเทียบกับฐานข้อมูลใน GenBank สามารถแบ่งกลุ่มของรา *Trichoderma* species ที่แยกได้ออกเป็น 6 clade ดังนี้

Brevicompectum clade จำนวน 4 ไอโซเลต คือ TriNkr 1-3, TriTrG 1-1, TriYI 1-1 และ TriYI 1-3

Harzianum clade จำนวน 51 ไอโซเลต คือ TriChP 1-1, TriChP 1-2, TriChP 2-1, TriKrb 1-1, TriKrb 2-1, TriKrb 2-3, TriKrb 2-6, TriKrb 2-7, TriNkr 1-1, TriNkr 1-5, TriPhk 1-1, TriPhk 1-2, TriPhk 1-3, TriPhk 1-4, TriPhk 2-1, TriPhk 2-2, TriPhk 2-6, TriPN 2-1, TriPN 2-2, TriPN 3-1, TriPN 4-1, TriPN 4-2, TriPN 4-3, TriPN 4-4, TriPN 4-5, TriPN 4-6, TriPN 5-3, TriPN 5-4, TriPN 5-7, TriPN 5-8, TriPN 5-10, TriPN 5-13, TriPtL 1-1, TriPtL 1-4, TriPtL 1-6, TriPtn 1-1, TriPtn 1-3, TriPtn 1-5, TriPtn 1-8, TriPtn 1-12, TriRn 1-1, TriSk 2-4, TriSn 2-1, TriSt 1-1, TriSt 1-2, TriSt 1-3, TriSt 1-4, TriSt 1-9, TriSt 3-2, TriTrG 3-9 และ TriTrG 3-10

Longibrachiatum clade จำนวน 4 ไอโซเลต คือ TriKrb 2-2, TriNkr 1-7, TriPhk 2-3 และ TriYI 1-7

Strictipile clade จำนวน 12 ไอโซเลต คือ TriPN 5-1, TriPN 5-5, TriPtn 1-2, TriPtn 1-4, TriPtn 1-13, TriSk 2-1, TriSk 3-5, TriSt 1-5, TriSt 1-8, TriSt 1-10, TriSt 1-11 และ TriSt 3-3

Virens clade จำนวน 4 ไอโซเลต คือ TriPhk 4-1, TriPtL 1-2, TriPtn 1-7 และ TriSt 3-1

Viride clade จำนวน 27 ไอโซเลต คือ TriNr 1-1, TriNr 1-4, TriNr 1-6, TriPhk 2-4, TriPhk 4-5, TriPhk 4-8, TriPN 3-2, TriPN 5-2, TriPN 5-6, TriPN 5-9, TriPN 5-12, TriPtL 1-3, TriPtL 1-5, TriPtL 1-8, TriPtL 1-9, TriPtL 1-10, TriPtn 1-9, TriSk 1-1, TriSk 3-1, TriSk 3-4, TriSn 1-1, TriTrG 3-1, TriTrG 3-6, TriYI 1-5, TriYI 1-6, TriYI 1-8 และ TriYI 1-11

จากการจัดกลุ่มของรา *Trichoderma* species โดยการแบ่ง clade กับการใช้ลักษณะโคนิติโอฟอร์มีความแตกต่างกัน เนื่องจากในแต่ละ clade ส่วนใหญ่มีลักษณะโคนิติโอฟอร์มากกว่าหนึ่งลักษณะอย่างเช่น Harzianum clade มีลักษณะโคนิติโอฟอร์แบบ Pachybasium-type และ Pyramidal-type หรือ Viride clade มีลักษณะโคนิติโอฟอร์แบบ Pachybasium-type, Pyramidal-type และ Verticillium-type เป็นต้น (Chaverri *et al.*, 2015; Samuels *et al.*, 2015)

ผลการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ตำแหน่งยีน *tef1* จากการสร้าง phylogenetic tree ของรา *Trichoderma* species ทั้ง 6 clade สามารถระบุชนิดของราได้ 14 ชนิด จำนวน 64 ไอโซเลต ได้แก่

Brevicompactum clade จำนวน 1 ชนิด คือ *T. brevicompactum* (TriNkr 1-3, TriTrG 1-1, TriYI 1-1 และ TriYI 1-3) ภาพที่ 3

Harzianum clade จำนวน 6 ชนิด คือ *T. afarasin* (TriKrb 2-3, TriPhk 2-1, TriPN 5-13 และ TriRn 1-1), *T. amazonicum* (TriKrb 2-7), *T. camerunense* (TriPN 2-1, TriPN 2-2, TriPN 3-1, TriPN 5-4, TriPN 5-8 และ TriTrG 3-9), *T. lentiforme* (TriKrb 1-1, TriPhk 1-1, TriPhk 1-3, TriPhk 1-4, TriPhk 2-6, TriPtn 1-1, TriPtn 1-5 และ TriSn 2-1), *T. lentinulae* (TriPN 4-1) และ *T. tomentosum* (TriSk 2-4, TriSt 1-1, TriSt 1-2, TriSt 1-3, TriSt 1-4 และ TriSt 1-9) ภาพที่ 4

Longibrachiatum clade จำนวน 2 ชนิด คือ *T. longibrachiatum* (TriYl 1-7) และ *T. parareesei* (TriKrb 2-2, TriNkr 1-7 และ TriPhk 2-3) ภาพที่ 5

Strictipile clade จำนวน 1 ชนิด คือ *T. spirale* (TriPN 5-1, TriPN 5-5, TriPtn 1-2, TriPtn 1-4, TriPtn 1-13, TriSk 2-1, TriSk 3-5, TriSt 1-5, TriSt 1-8, TriSt 1-10, TriSt 1-11 และ TriSt 3-3) ภาพที่ 6

Virens clade จำนวน 1 ชนิด คือ *T. virens* (TriPhk 4-1, TriPtL 1-2, TriPtn 1-7 และ TriSt 3-1) ภาพที่ 7

Viride clade จำนวน 3 ชนิด คือ *T. erinaceus* (TriNr 1-6, TriPtL 1-8, TriPtL 1-10, TriSk 1-1 และ TriSk 3-1), *T. hamatum* (TriPhk 2-4) และ *T. koningiopsis* (TriPhk 4-5, TriPhk 4-8, TriPN 5-9, TriPtL 1-3, TriPtL 1-5, TriPtL 1-9, TriPtn 1-9 และ TriSk 3-4) ภาพที่ 8

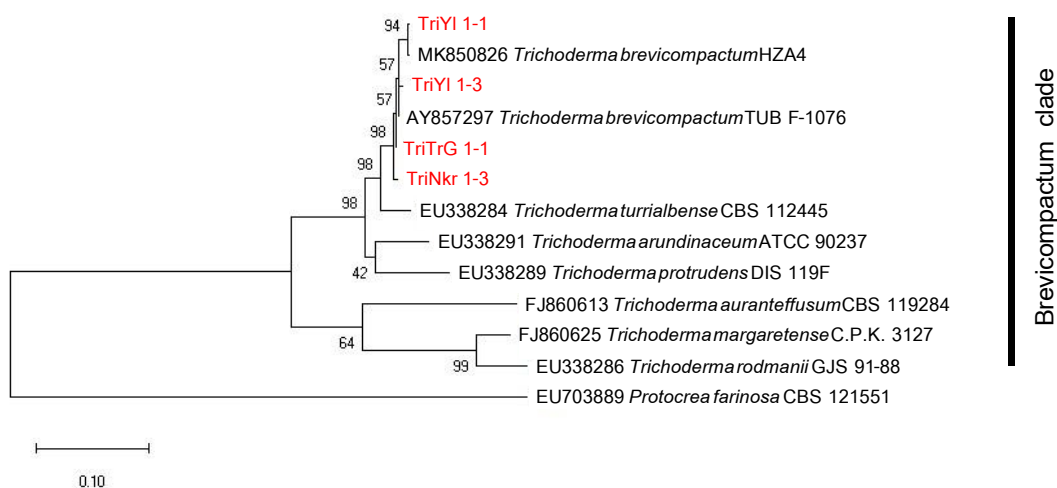
รา *Trichoderma* species ที่ไม่สามารถระบุชนิดได้อย่างแน่ชัด เนื่องจากลำดับนิวคลีโอไทด์ของรามีความเหมือนกับ ex-type มากกว่า 1 ชนิด และไม่มี ความเหมือนกับ ex-type จำนวน 38 ไอโซเลต ได้แก่

Harzianum clade จำนวน 25 ไอโซเลต คือ TriChP 1-1, TriChP 1-2, TriChP 2-1, TriKrb 2-1, TriKrb 2-6, TriNkr 1-1, TriNkr 1-5, TriPhk 1-2, TriPhk 2-2, TriPN 4-2, TriPN 4-3, TriPN 4-4, TriPN 4-5, TriPN 4-6, TriPN 5-3, TriPN 5-7, TriPN 5-10, TriPtL 1-1, TriPtL 1-4, TriPtL 1-6, TriPtn 1-3, TriPtn 1-8, TriPtn 1-12, TriSt 3-2 และ TriTrG 3-10 ภาพที่ 4

Viride clade จำนวน 13 ไอโซเลต คือ TriNr 1-1, TriNr 1-4, TriPN 3-2, TriPN 5-2, TriPN 5-6, TriPN 5-12, TriSn 1-1, TriTrG 3-1, TriTrG 3-6, TriYl 1-5, TriYl 1-6, TriYl 1-8 และ TriYl 1-1 ภาพที่ 8

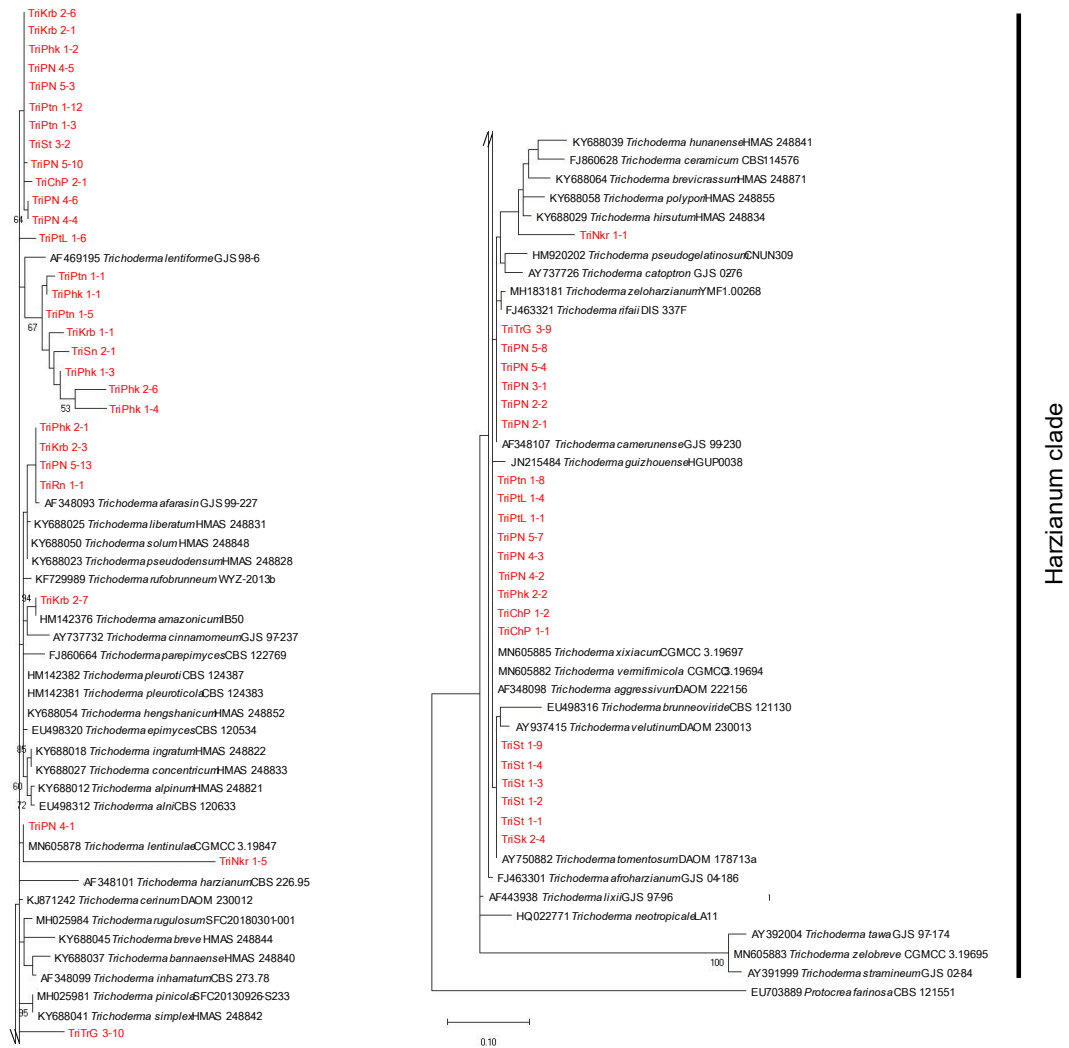
ผลการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ตำแหน่งยีน *tef1* ด้วย phylogenetic tree แสดงให้เห็นว่าการใช้ยีนเพียงแค่นี้ตำแหน่งเดียวอาจไม่เพียงพอต่อการระบุชนิดของรา *Trichoderma* species บางชนิดได้ จึงจำเป็นต้องเพิ่มตำแหน่งยีนให้มากกว่า 1 ตำแหน่ง เช่น

ตำแหน่งยีน RNA polymerase II subunit B (*rpb2*) และ ATP citrate lyase (*ac1*) เพื่อที่ใช้ในการระบุชนิดของรา *Trichoderma* ได้แม่นยำและถูกต้อง จากรายงานของ Jaklitsch และ Voglmayr (2014) ได้ทำการระบุชนิดของรา *Trichoderma* species โดยใช้ลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ตำแหน่งยีน *tef1*, *rpb2* และ *ac1* ในการสร้าง phylogenetic tree นอกจากนี้ Tomah และคณะ (2020) ได้นำลำดับนิวคลีโอไทด์ของตำแหน่ง ITS, *tef1* และยีน *rpb2* มารวมกันเพื่อสร้าง phylogenetic tree และ Du Plessis และคณะ (2018) ใช้ตำแหน่งยีน calmodulin (*CaM1*) และ endochitinase (*CHI18-5*, syn. *ECH42*) ซึ่งเพิ่มขึ้นมานอกเหนือจากตำแหน่ง ITS, *rpb2* และ *ac1* เพื่อระบุชนิดของรา *Trichoderma* species



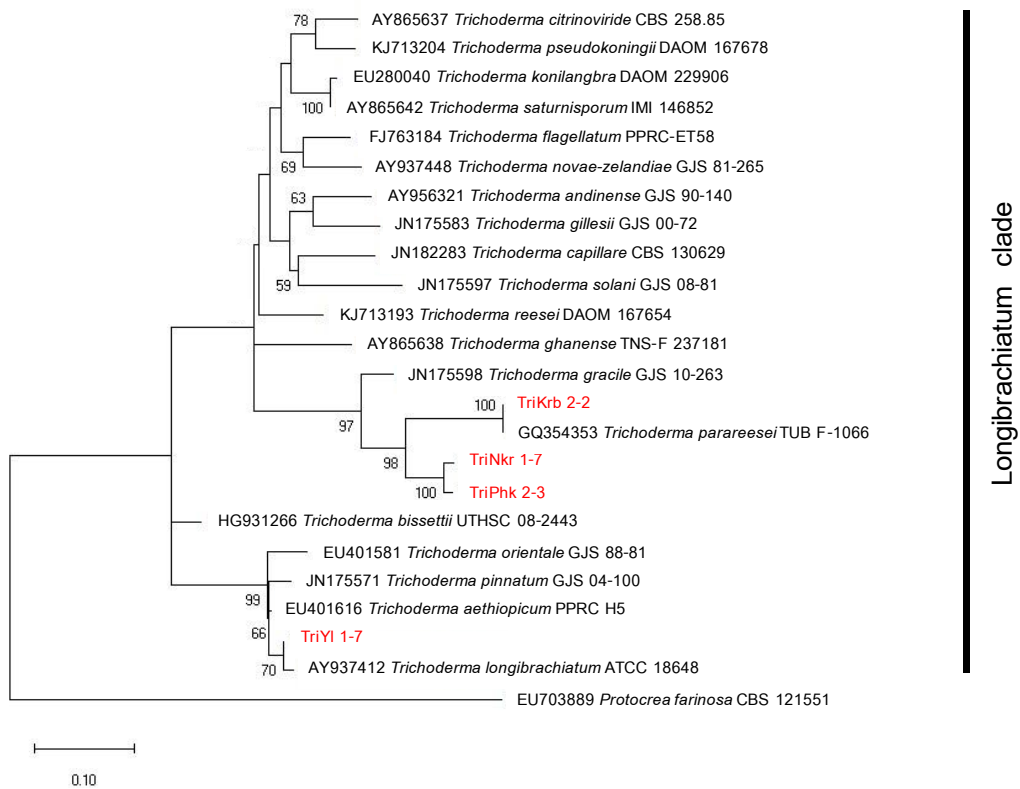
ภาพที่ 3 Maximum likelihood phylogenetic tree ของ Brevicompectum clade ที่ตำแหน่งยีน translation elongation factor 1 alpha (*tef1*)

หมายเหตุ: ตัวอักษรสีแดงคือ ไอโซเลตของรา *Trichoderma* species ที่นำมาวิเคราะห์



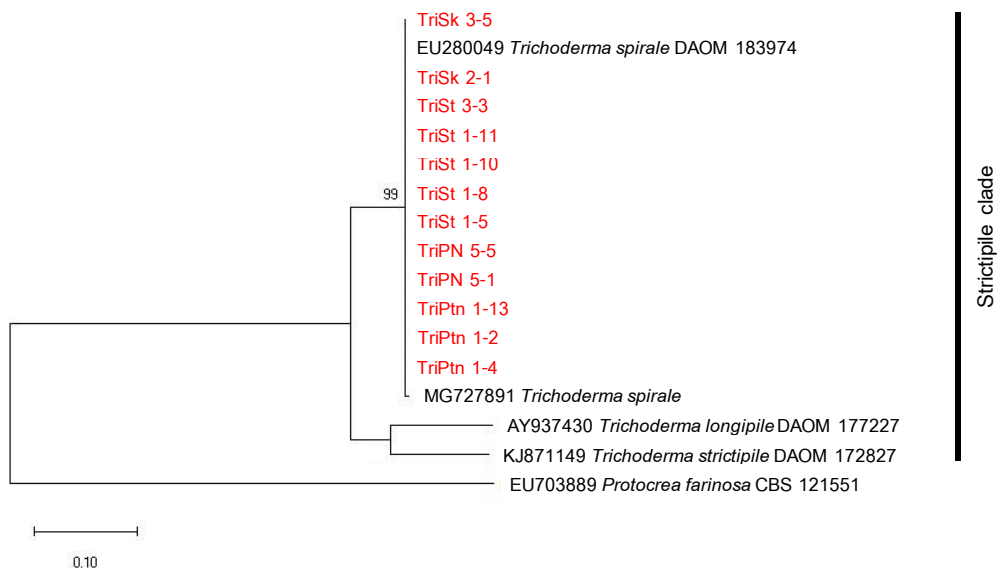
ภาพที่ 4 Maximum likelihood phylogenetic tree ของ Harzianum clade ที่ตำแหน่งยีน translation elongation factor 1 alpha (*tef1*)

หมายเหตุ: ตัวอักษรสีแดงคือ ไอโซเลตของรา *Trichoderma* species ที่นำมาวิเคราะห์



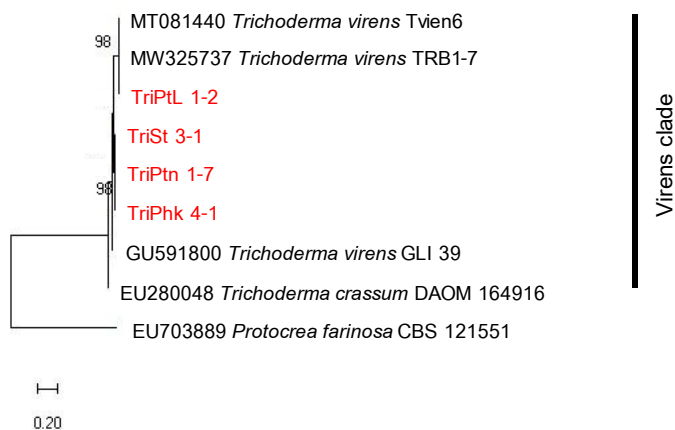
ภาพที่ 5 Maximum likelihood phylogenetic tree ของ Longibrachiatum clade ที่ตำแหน่ง ยีน translation elongation factor 1 alpha (*tef1*)

หมายเหตุ: ตัวอักษรสีแดงคือ ไอโซเลตของรา *Trichoderma* species ที่นำมาวิเคราะห์



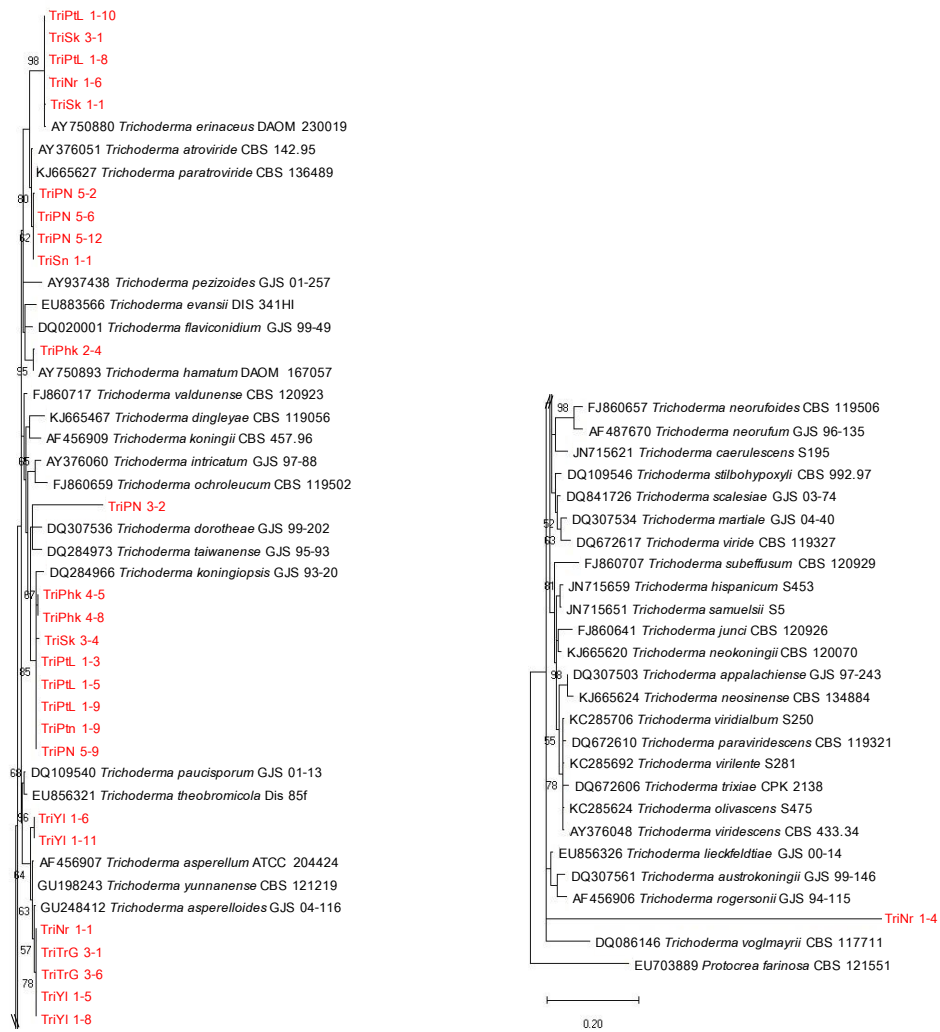
ภาพที่ 6 Maximum likelihood phylogenetic tree ของ Strictipile clade ที่ตำแหน่งยีน translation elongation factor 1 alpha (*tef1*)

หมายเหตุ: ตัวอักษรสีแดงคือ ไอโซเลตของรา *Trichoderma* species ที่นำมาวิเคราะห์



ภาพที่ 7 Maximum likelihood phylogenetic tree ของ Virens clade ที่ตำแหน่งยีน translation elongation factor 1 alpha (*tef1*)

หมายเหตุ: ตัวอักษรสีแดงคือ ไอโซเลตของรา *Trichoderma* species ที่นำมาวิเคราะห์



ภาพที่ 8 Maximum likelihood phylogenetic tree ของ Viride clade ที่ตำแหน่งยีน translation elongation factor 1 alpha (*tef1*)

หมายเหตุ: ตัวอักษรสีแดงคือ ไอโซเลตของรา *Trichoderma* species ที่นำมาวิเคราะห์

จากการวิเคราะห์ผลความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมร่วมกับลักษณะทางสัณฐานวิทยา จากเอกสารอ้างอิงของรา *Trichoderma* species สามารถระบุชนิดได้ทั้งหมด 16 ชนิด ได้แก่ *T. afarasin* จำนวน 4 ไอโซเลต, *T. amazonicum* จำนวน 1 ไอโซเลต, *T. atroviride* จำนวน 8 ไอโซเลต, *T. brevicompactum* จำนวน 9 ไอโซเลต, *T. camerunense* จำนวน 2 ไอโซเลต, *T. erinaceus* จำนวน 8 ไอโซเลต, *T. hamatum* จำนวน 1 ไอโซเลต, *T. koningiopsis* จำนวน 9 ไอโซเลต, *T. lentiforme* จำนวน 11 ไอโซเลต, *T. lentinulae* จำนวน 1 ไอโซเลต, *T. longibrachiatum* จำนวน 1 ไอโซเลต, *T. parareesei* จำนวน 4 ไอโซเลต, *T. spirale* จำนวน 7 ไอโซเลต, *T. taiwanense* จำนวน 1 ไอโซเลต, *T. tomentosum* จำนวน 8 ไอโซเลต และ *T. virens* จำนวน 10 ไอโซเลต

รา *Trichoderma* species ที่ไม่สามารถระบุชนิดได้จำนวน 63 ไอโซเลต แบ่งเป็น Harzianum clade จำนวน 34 ไอโซเลต Strictipile clade จำนวน 7 ไอโซเลต และ Viride clade จำนวน 22 ไอโซเลต ซึ่งรา *Trichoderma* species ที่ไม่สามารถระบุชนิดได้อย่างชัดเจน มีความเป็นไปได้ว่า อาจเป็นรา *Trichoderma* ชนิดใหม่

ลักษณะสัณฐานวิทยาของรา *Trichoderma* species

1. *Trichoderma afarasin*

Clade: Harzianum

ลักษณะทางสัณฐานวิทยา: โคลินี่ (colony) บนอาหาร PDA สีขาวตรงกลางสีเหลืองอ่อน บริเวณที่สร้างกลุ่มโคนินเดีย เปลี่ยนเป็นสีเขียวเข้มเมื่ออายุมาก เส้นใยมีลักษณะฟูเหมือนปุยฝ้ายเห็นเป็นวงชั้น (zonation) สีเหลืองอ่อนสลับขาวและเปลี่ยนเป็นสีเขียวเข้มเมื่ออายุมาก สร้างวงคว่ำตูลีเหลืองจนถึงน้ำตาลด้านใต้โคลินี่บนอาหาร PDA และ CMD มีการสร้างกลิ่นอ่อน ๆ มีรูปแบบการแตกแขนงของโคนินดีโอฟอร์แบบ Pyramidal-type สร้างไฟอะไลด์มากกว่า 4 ไฟอะไลด์ ขึ้นไปต่อก้านโคนินดีโอฟอร์รอง โดยไฟอะไลด์รูปร่างแบบ ampulliform ขนาด (4.2-)4.5-5.5(-8.0) x (2.2-)2.7-3.2(-5.5) ไมโครเมตร โคนินเดียสีเขียวใสจนถึงสีเขียวเข้ม รูปร่างแบบ globose จนถึง subglobose ขนาด (2.2-)2.5-3.0(-3.2) x (2.2-)2.5-3.2(-3.7) ไมโครเมตร คลาไมโดสปอร์รูปร่างแบบ globose จนถึง subglobose

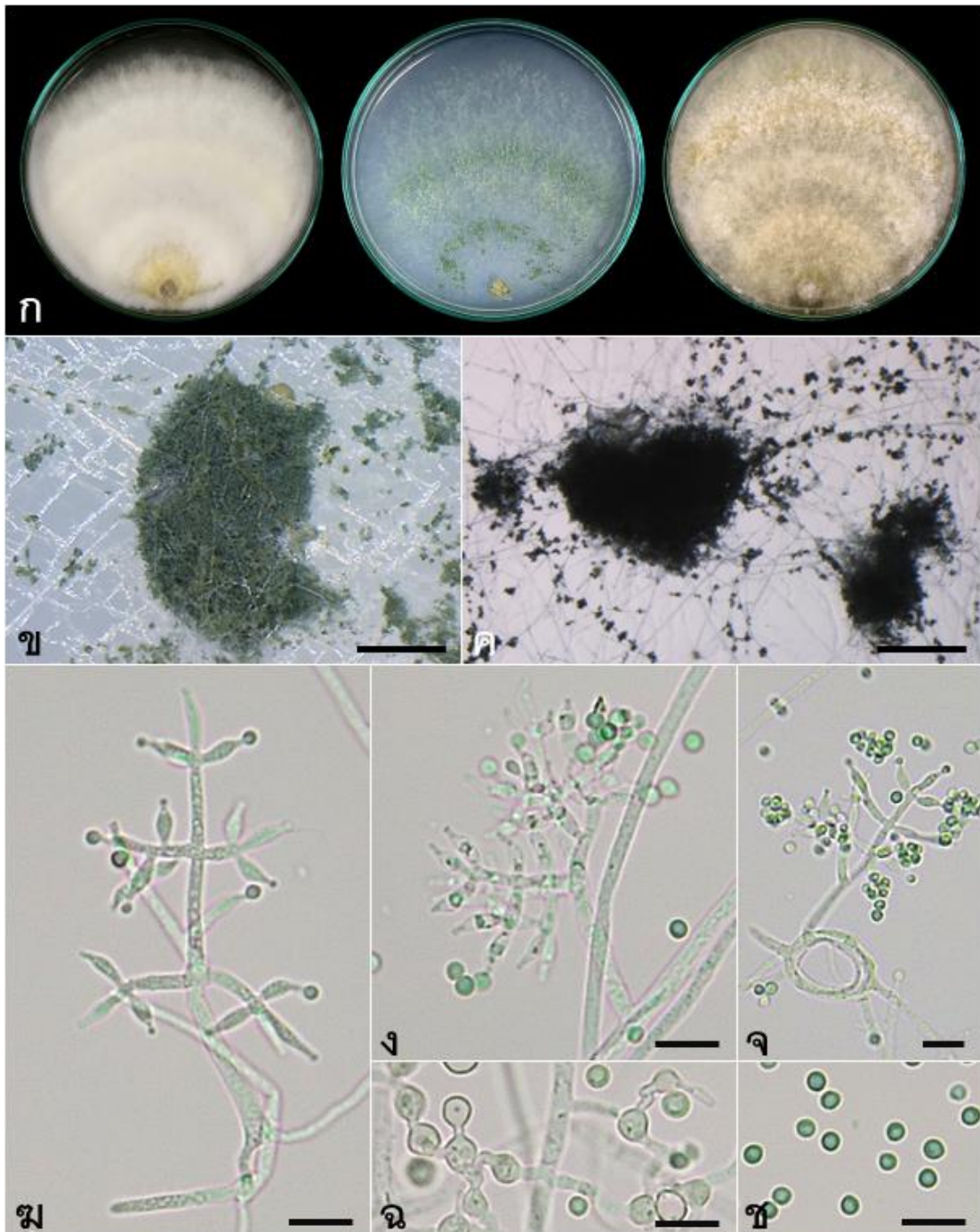
แหล่งที่พบ: ดิน

จังหวัดที่เก็บตัวอย่าง: กระบี่ พังงา ภูเก็ต และระนอง

ไอโซเลตที่แยกได้: TriKrb 2-3, TriPhk 2-1, TriPN 5-13 และ TriRn 1-1

เอกสารอ้างอิง: Chaverri *et al.*, 2015

TriKrb 2-3: เป็นตัวแทนในการแสดงรายละเอียดของลักษณะทางสัณฐานวิทยา (ภาพที่ 9)



ภาพที่ 9 *Trichoderma afarasin* ไอโซเลต TriKrb 2-3 (ก) ลักษณะโคโคนีอายุ 7 วัน ที่อุณหภูมิห้อง (ซ้ายอาหาร PDA กลางอาหาร SNA และขวาอาหาร CMD) (ข และ ค) conidial pustules บนอาหาร SNA (ง-จ) โคนิดิอ็อพอร์และไฟอะไลด์ (ฉ) เส้นใยที่ขดเป็นวงกลม (coiling hyphae) (ฉ) คลาไมโดสปอร์ (ซ) โคนิดีเดียว (สเกลบาร์ภาพ ข และ ค = 1 มิลลิเมตร ง-ซ = 10 ไมโครเมตร)

2. *Trichoderma amazonicum*

Clade: Harzianum

ลักษณะทางสัณฐานวิทยา: โคนินบนอาหาร PDA สีขาวตรงกลางสีเขียวเหลือง มีการรวมตัวกันของเส้นใยอย่างหนาแน่นและสร้างกลุ่มโคนินเดี่ยวลักษณะเป็น pustule จำนวนมาก บริเวณตรงกลางโคนิน เส้นใยมีลักษณะฟูเหมือนปุยฝ้ายเห็นเป็นวงชั้นคล้ายกลีบดอกไม้ เมื่อโคนินมีอายุมากจะเปลี่ยนเป็นสีเขียวเข้ม ไม่สร้างรงควัตถุหรือกลิ่นบนอาหาร PDA มีรูปแบบการแตกแขนงของโคนินดิโอฟอร์แบบ Pachybasium-type สร้างไฟอะไลด์รูปร่างแบบ ampulliform ขนาด (3.3–)4.8–6.7(–10.2) x (2.3–)2.7–3.0(–3.7) ไมโครเมตร โคนินเดี่ยวรูปร่างแบบ broadly ellipsoidal จนถึง subglobose ขนาด (1.7–)2.2–2.7(–3.0) x (2.0–)2.5–3.2(–3.5) ไมโครเมตร สร้างคลาไมโดสปอร์

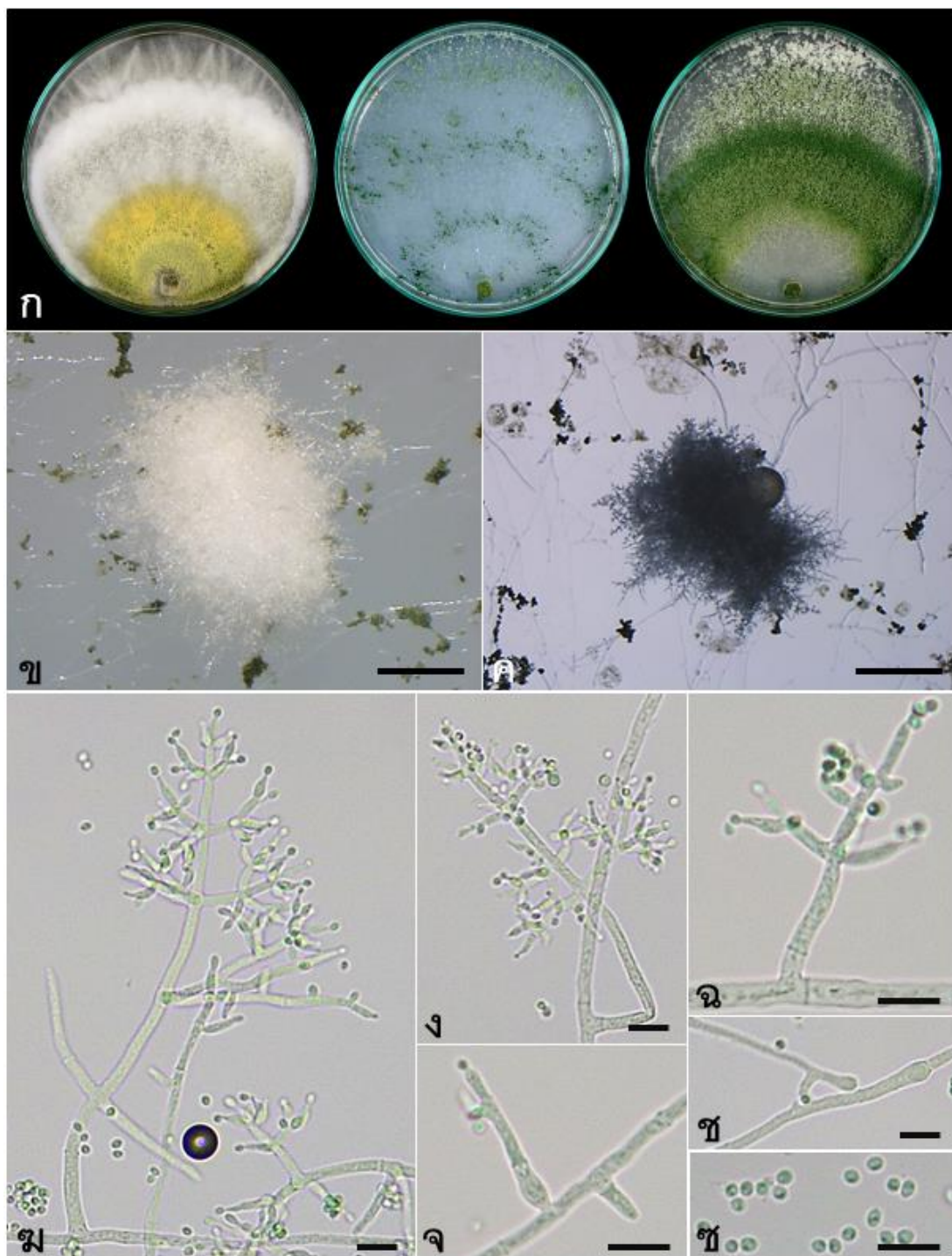
แหล่งที่พบ: ดิน

จังหวัดที่เก็บตัวอย่าง: กระบี่

ไอโซเลตที่แยกได้: TriKrb 2-7

เอกสารอ้างอิง: Samuels และ Hebbar (2015)

TriKrb 2-7: เป็นตัวแทนในการแสดงรายละเอียดของลักษณะทางสัณฐานวิทยา (ภาพที่ 10)



ภาพที่ 10 *Trichoderma amazonicum* ไอโซเลต TriKrb 2-7 (ก) ลักษณะโคโลนีอายุ 7 วัน ที่อุณหภูมิห้อง (ซ้ายอาหาร PDA กลางอาหาร SNA และขวาอาหาร CMD) (ข และ ค) conical pustules บนอาหาร SNA (ง-จ) โคนิดิอ็อพอร์และไฟอะไลด์ (ฉ) คลาไมโดสปอร์ (ช) โคนิเดียม (สเกลบาร์ภาพ ข และ ค = 1 มิลลิเมตร ง-จ = 10 ไมโครเมตร)

3. *Trichoderma atroviride*

Clade: Viride

ลักษณะทางสัณฐานวิทยา: โคลินีสสีขาว เกิดการรวมตัวกันของโคนิเดียเป็นกลุ่มลักษณะคล้ายเม็ดทรายขนาดเล็กจำนวนมาก โคลินีเมื่ออายุมากเปลี่ยนเป็นสีเขียวเข้มอย่างรวดเร็ว ไม่สร้างรงควัตถุนอาหารเลี้ยงเชื้อ สร้างกลิ่นคล้ายมะพร้าวบนอาหาร PDA มีรูปแบบการแตกแขนงของโคนิดิโอฟอร์แบบ Pyramidal-type สร้างไฟอะไลด์จำนวน 3-4 ไฟอะไลด์ต่อก้านโคนิดิโอฟอร์รอง โดยไฟอะไลด์รูปร่างแบบ ampulliform หรือ lageniform ขนาด (4.2-)6.0-9.7(-15.0) x (1.8-)2.5-3.5(-4.8) ไมโครเมตร โคนิเดียสีเขียว รูปร่างแบบ subglobose จนถึง ovoidal ขนาด (2.2-)2.7-3.5(-4.0) x (2.7-)3.2-3.7(-4.7) คลาไมโดสปอร์รูปร่างแบบ globose จนถึง subglobose

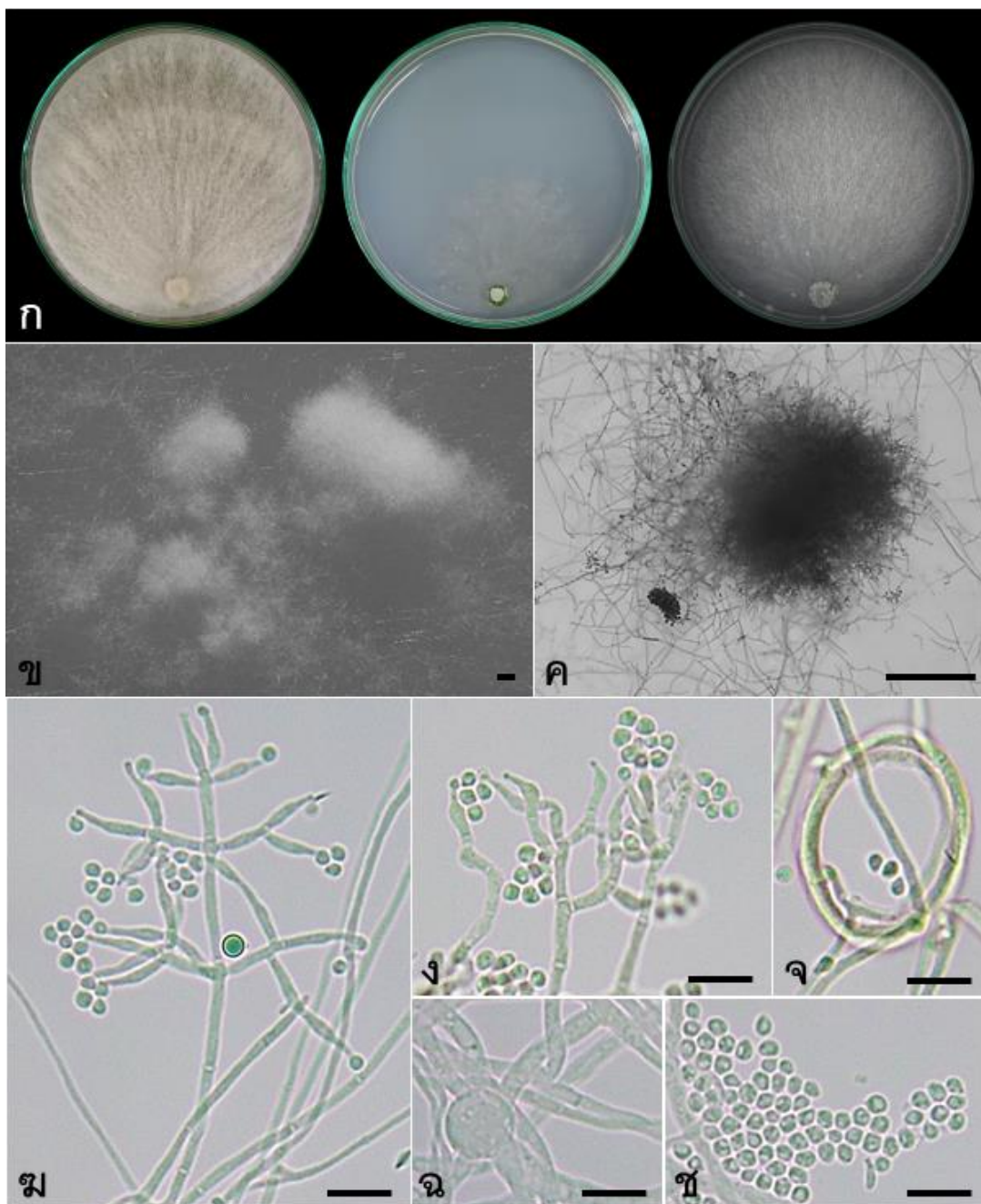
แหล่งที่พบ: ดิน

จังหวัดที่เก็บตัวอย่าง: พังงา และสุราษฎร์ธานี

ไอโซเลตที่แยกได้: TriPN 5-2, TriPN 5-6, TriPN 5-11, TriPN 5-12, TriPN 5-14, TriPN 5-15, TriPN 5-16 และ TriSn 1-1

เอกสารอ้างอิง: Samuels และ Hebbar (2015)

TriSn 1-1: เป็นตัวแทนในการแสดงละเอียดของลักษณะทางสัณฐานวิทยา (ภาพที่ 11)



ภาพที่ 11 *Trichoderma atroviride* ไอโซเลต TriSn 1-1 (ก) ลักษณะโคโลนีอายุ 7 วัน ที่อุณหภูมิห้อง (ซ้ายอาหาร PDA กลางอาหาร SNA และซวาอาหาร CMD) (ข และ ค) conidial pustules บนอาหาร SNA (ง และ ฉ) โคนิดิโอฟอร์และไฟอะไลด์ (จ) เส้นใยที่ซดเป็นวงกลม (ฉ) คลาไมโดสปอร์ (ช) โคนิดิเดี่ย (สเกลบาร์ภาพ ข และ ค = 1 มิลลิเมตร ฉ-ซ = 10 ไมโครเมตร)

4. *Trichoderma brevicompactum*

Clade: Brevicompectum

ลักษณะทางสัณฐานวิทยา: โคนินี้ตรงกลางสีเหลืองหม่นเหลืองเป็นวงชั้นสีขาวอมเหลือง เมื่อโคนินี้อายุมากเปลี่ยนเป็นสีเขียวหม่น มีการรวมตัวกันของเส้นใยอย่างหนาแน่นและสร้างกลุ่มโคนินี้เดี่ยวลักษณะเป็น pustule จำนวนมาก ไม่สร้างรังศ์วัตถุหรือกลิ่นบนอาหารเลี้ยงเชื้อ มีรูปแบบการแตกแขนงของโคนินิไดโอฟอร์แบบ Pachybasium-type หรือ Pyramidal-type สร้างไฟอะไลด์รูปร่างแบบ ampulliform หรือ lageniform ขนาด (3.7–)4.7–6.7(–15.0) x (2.5–)3.0–3.7(–4.5) ไมโครเมตร โคนินิเดี่ยวสีเขียว รูปร่างแบบ subglobose จนถึง ovoidal ขนาด (2.0–)2.2–2.7(–3.0) x (2.2–)2.7–3.0(–3.7) ไมโครเมตร คลาไมโดสปอร์รูปร่างแบบ subglobose

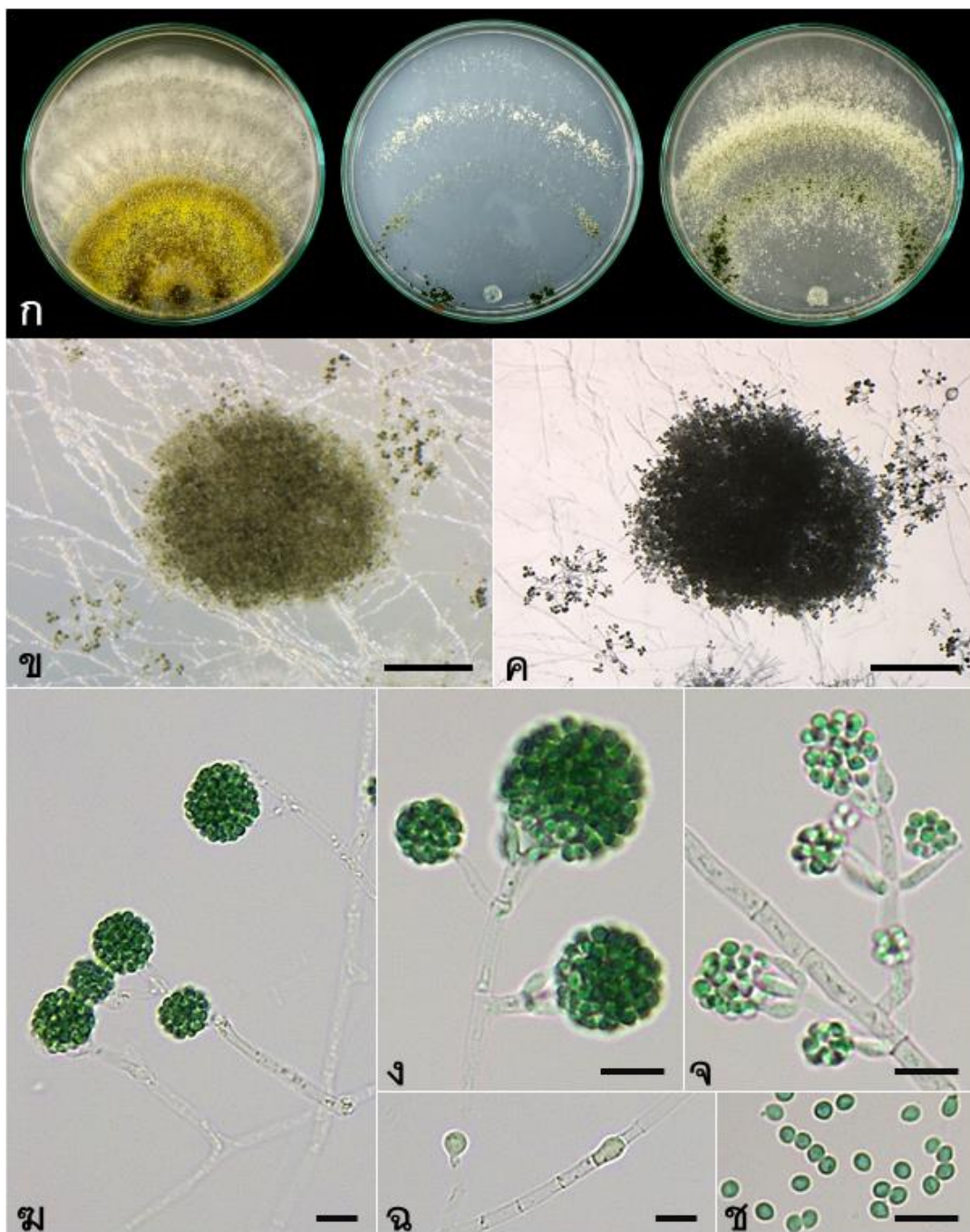
แหล่งที่พบ: ดิน

จังหวัดที่เก็บตัวอย่าง: ตรัง นครศรีธรรมราช และยะลา

ไอโซเลตที่แยกได้: TriNkr 1-3, TriNkr 1-4, TriNkr 1-8, TriTrG 1-1, TriTrG 1-2, TriYI 1-1, TriYI 1-2, TriYI 1-3 และ TriYI 1-4

เอกสารอ้างอิง: Samuels และ Hebbar (2015)

TriYI 1-2: เป็นตัวแทนในการแสดงรายละเอียดของลักษณะทางสัณฐานวิทยา (ภาพที่ 12)



ภาพที่ 12 *Trichoderma brevicompactum* ไอโซเลต TriYI 1-2 (ก) ลักษณะโคโลนีอายุ 7 วัน ที่อุณหภูมิห้อง (ซ้ายอาหาร PDA กลางอาหาร SNA และขวาอาหาร CMD) (ข และ ค) conidial pustules บนอาหาร SNA (ข และ ง) โคนดิโอฟอร์ (จ) โคนดิโอฟอร์และไฟอะไซด์ (ฉ) คลาไมโดสปอร์ (ช) โคนเดีย (สเกลบาร์ภาพ ข และ ค = 1 มิลลิเมตร ข-ช = 10 ไมโครเมตร)

5. *Trichoderma camerunense*

Clade: Harzianum

ลักษณะทางสัณฐานวิทยา: โคนินี้สีขาวตรงกลางสีเหลืองอ่อนเส้นใยมีลักษณะฟูเหมือนปุยฝ้ายเป็นวงชั้น มีการรวมตัวกันของเส้นใยอย่างหนาแน่นและสร้างกลุ่มโคนินเดี่ยวลักษณะเป็น pustule จำนวนมาก เป็น 2 วงชั้นบนอาหาร SNA ไม่สร้างรงควัตถุนอาหารเลี้ยงเชื้อ มีกลิ่นอ่อน ๆ มีรูปแบบการแตกแขนงของโคนิดิโอฟอร์แบบ Pyramidal-type สร้างไฟอะไลด์มากกว่า 4 ไฟอะไลด์ขึ้นไปบนก้านโคนิดิโอฟอร์รอง โดยไฟอะไลด์รูปร่างแบบ ampulliform และส่วนมากเป็นแบบ lageniform บริเวณของแกนหลักเป็นแบบ obpyriform หรือ obclavate ขนาด (3.2–)3.7–5.7(–7.2) x (2.0–)2.5–3.2(–3.5) ไมโครเมตร โคนินเดี่ยวรูปร่างแบบ subglobose จนถึง ovoidal ขนาด (2.2–)2.5–3.0(–3.2) x (2.2–)2.5–3.2(–4.0) ไมโครเมตร คลาไมโดสปอร์รูปร่างแบบ subglobose จนถึง globose

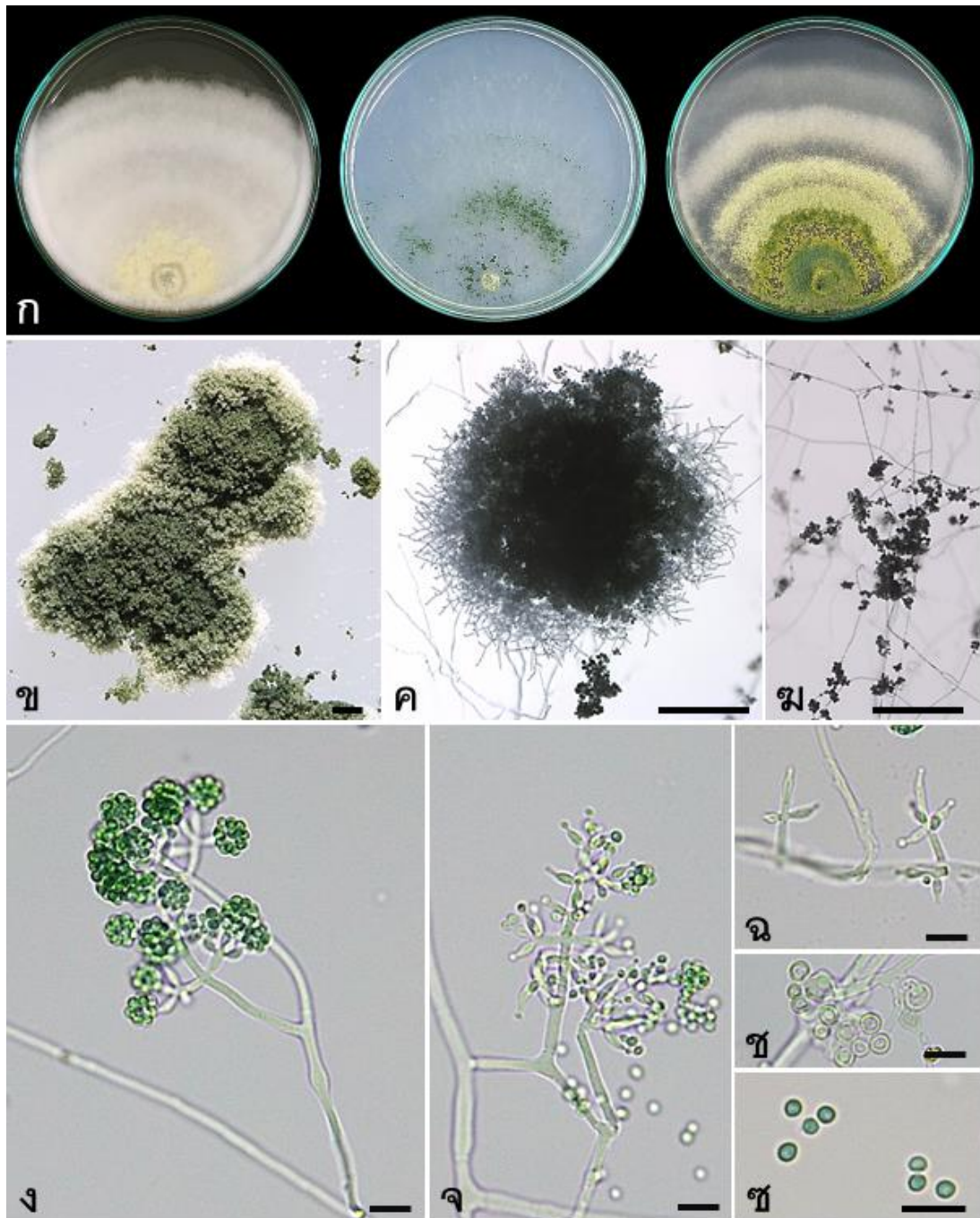
บริเวณที่พบ: ดิน

จังหวัดที่พบตัวอย่างในการศึกษา: พังงา

ตัวอย่าง: TriPN 5-4 และ TriPN 5-8

อ้างอิง: Chaverri *et al.*, 2015

TriPN 5-8: เป็นตัวแทนในการแสดงรายละเอียดของลักษณะทางสัณฐานวิทยา (ภาพที่ 13)



ภาพที่ 13 *Trichoderma camerunense* ไอโซเลต TriPN 5-8 (ก) ลักษณะโคโลนีอายุ 7 วัน ที่อุณหภูมิห้อง (ซ้ายอาหาร PDA กลางอาหาร SNA และขวาอาหาร CMD) (ข และ ค) conidial pustules บนอาหาร SNA (ง) โคนิดิโอฟอร์ บนอาหาร SNA เป็นเวลา 7 วัน (ง-ฉ) โคนิดิโอฟอร์และไฟอะไลต์ (ช) คลาไมโดสปอร์ (ซ) โคนินเดีย (สเกลบาร์ภาพ ข-ง = 1 มิลลิเมตร ง-ช = 10 ไมโครเมตร)

6. *Trichoderma erinaceus*

Clade: Viride

ลักษณะทางสัณฐานวิทยา: โคนินสีขาวยาว มีการรวมตัวกันของเส้นใยอย่างหนาแน่นและสร้างกลุ่มโคนินเดี่ยวลักษณะเป็น pustule เมื่อโคนินอายุมากเปลี่ยนเป็นสีเขียวเทา ไม่สร้างรงควัตถุบนอาหารเลี้ยงเชื้อ สร้างกลิ่นคล้ายมะพร้าวบนอาหาร PDA มีรูปแบบการแตกแขนงของโคนินดิโอฟอร์แบบ Pyramidal-type สร้างไฟอะไลต์ 2-4 ไฟอะไลต์ บนก้านโคนินดิโอฟอร์ร่อง โดยไฟอะไลต์รูปร่างแบบ ampulliform หรือ lageniform ขนาด (4.0-)5.7-9.0(-14.5) x (1.7-)2.5-3.5(-4.2) ไมโครเมตร โคนินเดี่ยวสีเขียว รูปร่างแบบ ellipsoidal จนถึง broadly ellipsoidal ขนาด (2.2-)2.7-3.2(-3.7) x (3.0-)3.5-4.0(-5.0) ไมโครเมตร คลาไมโดสปอร์รูปร่างแบบ globose จนถึง subglobose

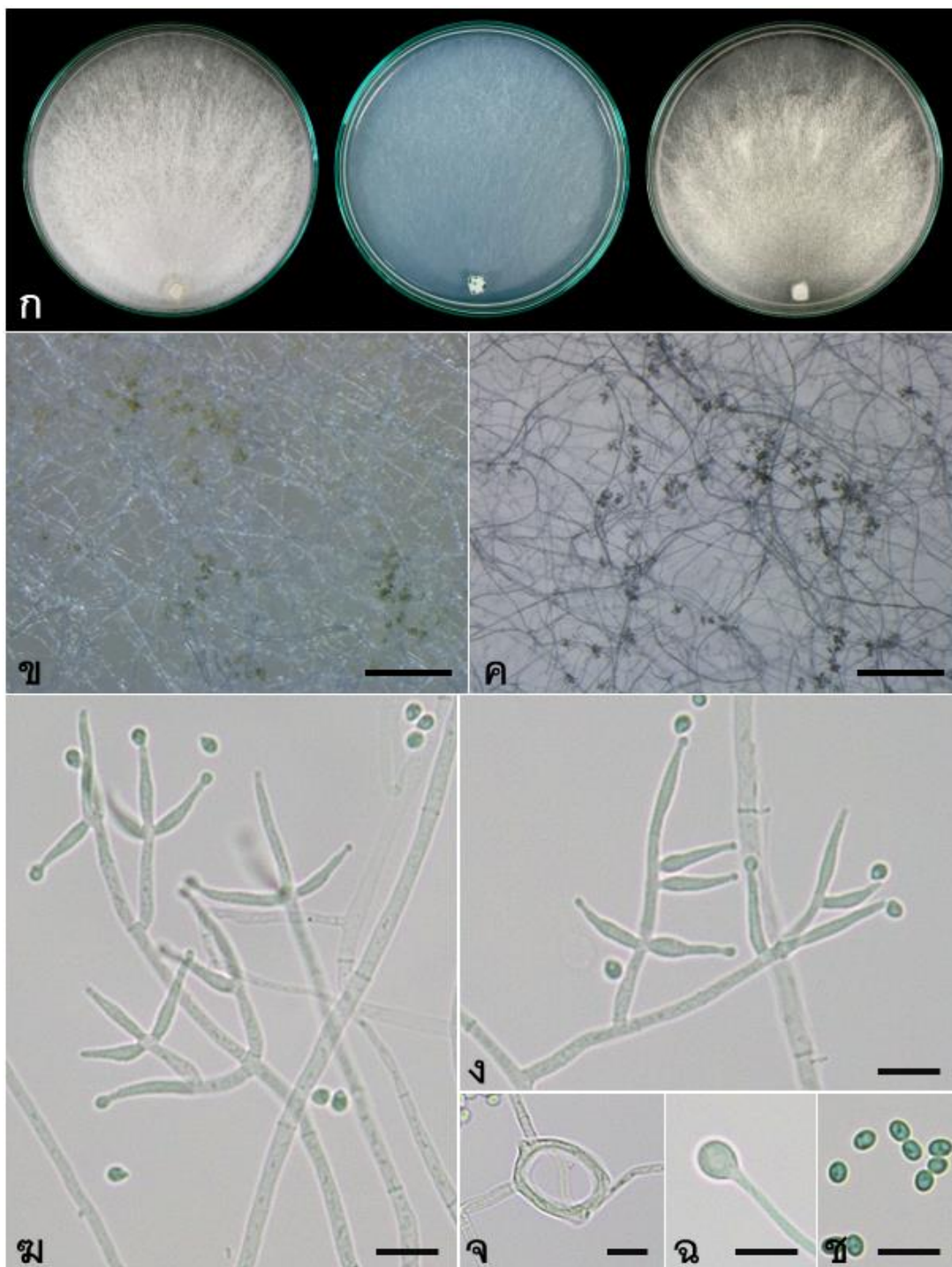
แหล่งที่พบ: ดิน

จังหวัดที่เก็บตัวอย่าง: นราธิวาส พัทลุง สงขลา

ไอโซเลตที่แยกได้: TriNr 1-6, TriPtL 1-8, TriPtL 1-10, TriSk 1-1, TriSk 1-2, TriSk 3-1, TriSk 3-2 และ TriSk 3-3

เอกสารอ้างอิง: Samuels และ Hebbar (2015)

TriPtL 1-10: เป็นตัวแทนในการแสดงรายละเอียดของลักษณะทางสัณฐานวิทยา (ภาพที่ 14)



ภาพที่ 14 *Trichoderma erinaceus* ไอโซเลต TriPtL 1-10 (ก) ลักษณะโคโลนีอายุ 7 วัน ที่อุณหภูมิห้อง (ซ้ายอาหาร PDA กลางอาหาร SNA และขวาอาหาร CMD) (ข และ ค) โคนดิโอฟอร์บนอาหาร SNA (ง และ จ) โคนดิโอฟอร์และไฟอะไลต์ (จ) เส้นใยที่ขดเป็นวงกลม (ฉ) คลาไมโดสปอร์ (ช) โคนินเดีย (สเกลบาร์ภาพ ข และ ค = 1 มิลลิเมตร ฉ-ช = 10 ไมโครเมตร)

7. *Trichoderma hamatum*

Clade: Viride

ลักษณะทางสัณฐานวิทยา: โคนิเดียมสีขาว มีการรวมตัวกันของเส้นใยอย่างหนาแน่นและสร้างกลุ่มโคนิเดียมลักษณะเป็น pustule จำนวนมากบริเวณรอบ ๆ inoculum และสร้าง sterile hairs แบบ sinuous ถึง nearly helical และ conspicuous สีขาว (ไม่มีแสดงในภาพ) เมื่ออายุมากเปลี่ยนเป็นสีเขียวเทา มีรูปแบบการแตกแขนงของโคนิเดียมฟอรแบบ Pachybasium-type สร้างไฟอะไลด์จำนวนมากบริเวณส่วนปลายของ secondary branches รูปร่างแบบ ampulliform ขนาด (3.7-)5.0-7.2(-10.7) x (2.2-)3.2-4.0(-5.5) ไมโครเมตร โคนิเดียมสีเขียวเทา รูปร่างแบบ ellipsoidal ขนาด (2.0-)2.5-3.0(-3.5) x (3.0-)3.7-4.2(-5.7) ไมโครเมตร คลาไมโดสปอร์พบได้ทั่วไป

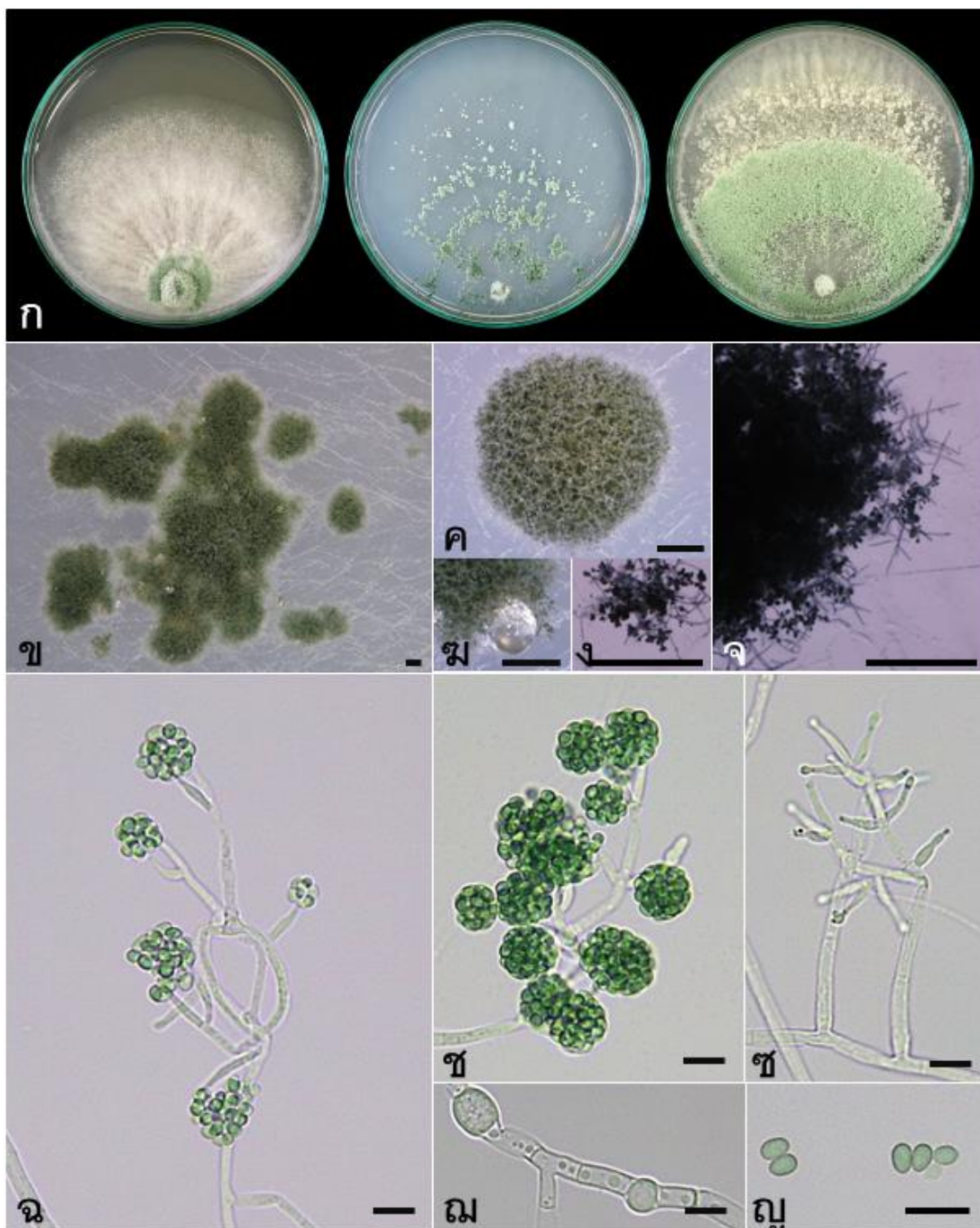
แหล่งที่พบ: ดิน

จังหวัดที่เก็บตัวอย่าง: ภูเก็ต

ไอโซเลตที่แยกได้: TriPhk 2-4

เอกสารอ้างอิง: Samuels และ Hebbar (2015)

TriPhk 2-4: เป็นตัวแทนในการแสดงรายละเอียดของลักษณะทางสัณฐานวิทยา (ภาพที่ 15)



ภาพที่ 15 *Trichoderma hamatum* ไอโซเลต TriPhk 2-4 (ก) ลักษณะโคโลนีอายุ 7 วัน ที่อุณหภูมิห้อง (ซ้ายอาหาร PDA กลางอาหาร SNA และซวาอาหาร CMD) (ข และ ค) conidial pustules บนอาหาร SNA (ฌ) exudate (ง และ จ) conidiation tufts บนอาหาร SNA เป็นเวลา 7 วัน (ฉ และ ช) โคินติโอฟอร์ (ซ) โคินติโอฟอร์และไฟอะไลด์ (ฌ) คลาไมโดสปอร์ (ญ) โคินเดีย (สเกลบาร์ภาพ ข-จ = 1 มิลลิเมตร ฉ-ญ = 10 ไมโครเมตร)

8. *Trichoderma koningiopsis*

Clade: Viride

ลักษณะทางสัณฐานวิทยา: โคลนีสีขาว มีการรวมตัวกันของเส้นใยอย่างหนาแน่นและสร้างกลุ่มโคนิเดียลักษณะเป็น pustule จำนวนมาก ไม่สร้างรงวัตถุบนอาหารเลี้ยงเชื้อ บางสายพันธุ์สร้างกลิ่นจาง ๆ คล้ายมะพร้าวบนอาหาร PDA มีรูปแบบการแตกแขนงของโคนิดิโอฟอร์แบบ Pyramidal-type สร้างไฟอะไลด์รูปร่างแบบ lageniform ขนาด (3.5–)5.5–9.2(–16.0) x (2.0–)2.7–3.5(–4.5) ไมโครเมตร และบางครั้งพบ intercalary phialides โคนิเดียสีเขียว รูปร่างแบบ ellipsoidal ขนาด (2.0–)2.5–3.0(–3.5) x (3.0–)3.5–4.0(–6.2) ไมโครเมตร คลาไมโดสปอร์รูปร่างแบบ globose จนถึง subglobose

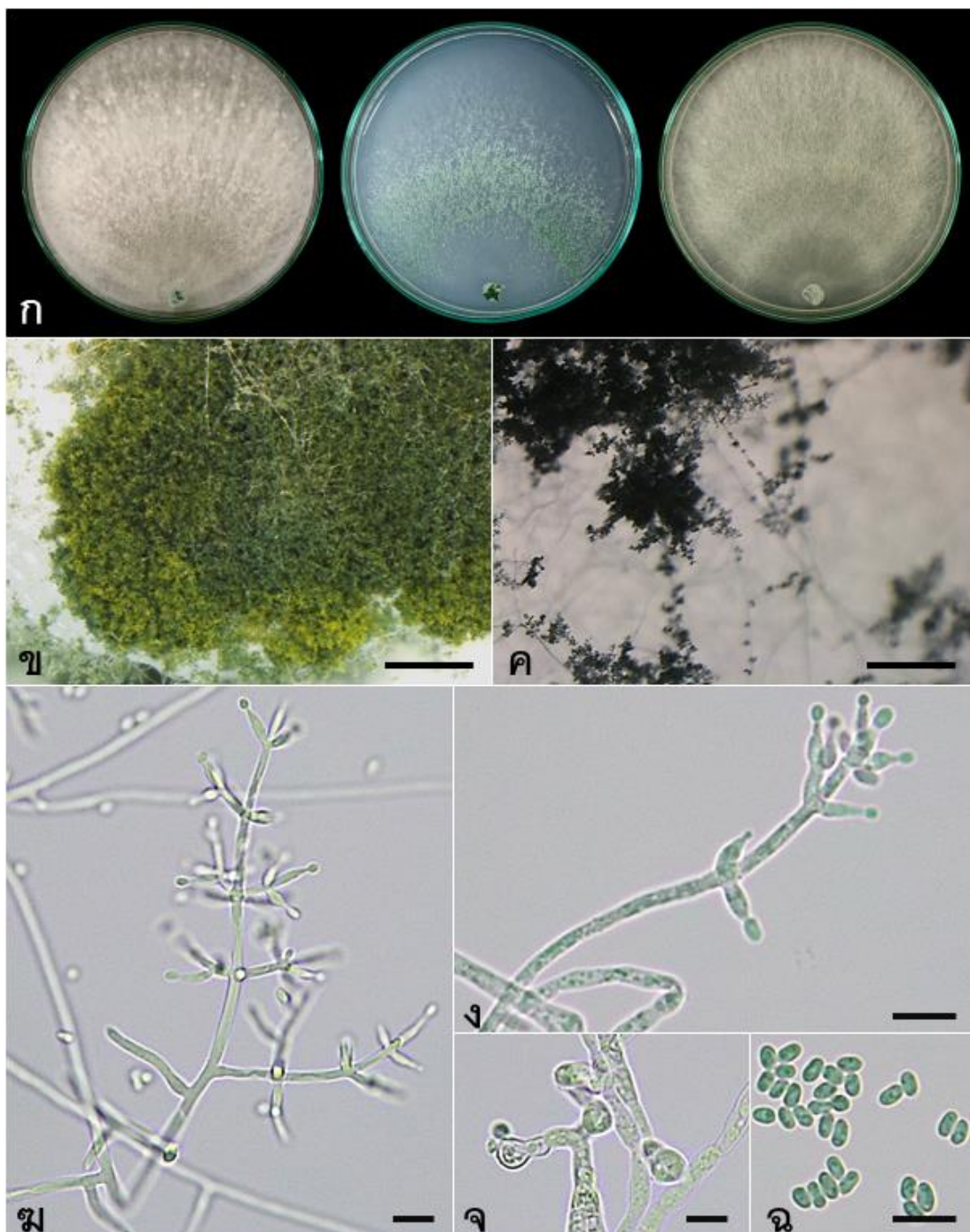
แหล่งที่พบ: ดิน

จังหวัดที่เก็บตัวอย่าง: พังงา พัทลุง บัตตานี ภูเก็ต และสงขลา

ไอโซเลตที่แยกได้: TriPhk 4-5, TriPhk 4-8, TriPN 5-9, TriPtL 1-3, TriPtL 1-5, TriPtL 1-7, TriPtL 1-9, TriPtn 1-9 และ TriSk 3-4

เอกสารอ้างอิง: Samuels และ Hebbar (2015)

TriSk 3-4: เป็นตัวแทนในการแสดงรายละเอียดของลักษณะทางสัณฐานวิทยา (ภาพที่ 16)



ภาพที่ 16 *Trichoderma koningiopsis* ไอโซเลต TriSk 3-4 (ก) ลักษณะโคโลนีอายุ 7 วัน ที่อุณหภูมิห้อง (ซ้ายอาหาร PDA กลางอาหาร SNA และขวาอาหาร CMD) (ข) conidiation pustules บนอาหาร SNA (ค) โคนดิโอฟอร์บนอาหาร SNA (ง และ จ) โคนดิโอฟอร์และไฟอะไลด์ (จ) คลาไมโดสปอร์ (ฉ) โคนเดีย (สเกลบาร์ ภาพ ข และ ค = 1 มิลลิเมตร ง-ฉ = 10 ไมโครเมตร)

9. *Trichoderma lentiforme*

Clade: Harzianum

ลักษณะทางสัณฐานวิทยา: โคนิเดียมสีขาว เส้นใยรวมกันแบบหลวม ๆ เป็นวงชั้น และเกิดการรวมตัวกันของโคนิเดียมเป็นกลุ่มลักษณะคล้ายเม็ดทรายขนาดเล็กจำนวนมาก ไม่สร้างรงควัตถุที่อุณหภูมิต่ำกว่า 35°C บนอาหาร PDA มีรูปแบบการแตกแขนงของโคนิเดียมแบบ Pyramidal-type สร้างไฟอะไลด์รูปร่างแบบ ampulliform ขนาด (3.0–)4.2–6.5(–12.2) x (2.2–)3.0–4.0(–5.0) ไมโครเมตร โคนิเดียมสีเขียวใสจนถึงเขียวเข้ม รูปร่างแบบ globose จนถึง subglobose หรือ subglobose จนถึง ovoidal ขนาด (1.7–)2.5–2.7(–3.2) x (2.0–)2.5–3.2(–3.7) ไมโครเมตร คลาไมโดสปอร์รูปร่างแบบ globose จนถึง subglobose

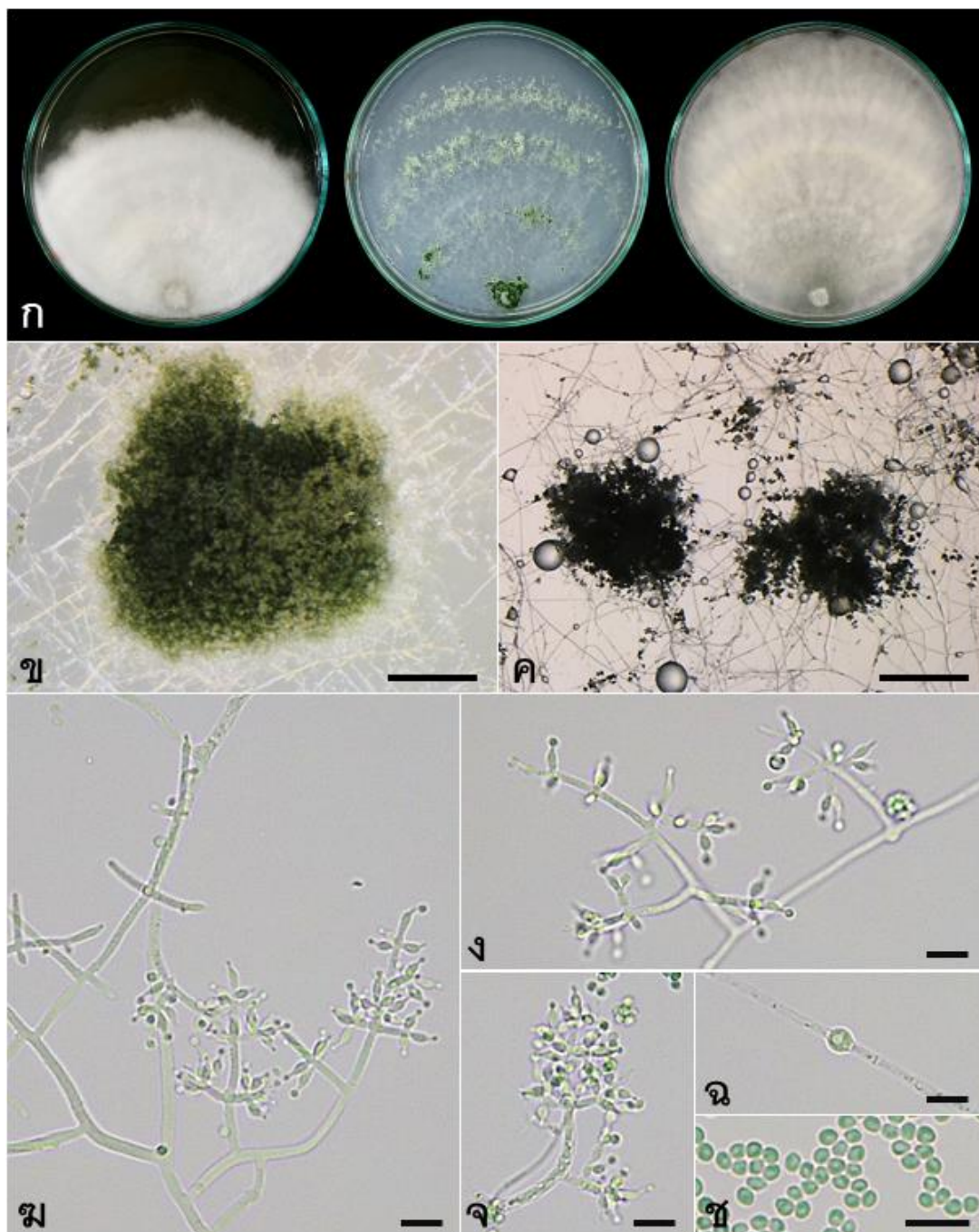
แหล่งที่พบ: ดิน

จังหวัดที่เก็บตัวอย่าง: กระบี่ ปัตตานี ภูเก็ต และสุราษฎร์ธานี

ไอโซเลตที่แยกได้: TriKrb 1-1, TriKrb 1-4, TriPhk 1-1, TriPhk 1-3, TriPhk 1-4, TriPhk 1-5, TriPhk 2-5, TriPhk 2-6, TriPtn 1-1, TriPtn 1-5 และ TriSn 2-1

เอกสารอ้างอิง: Chaverri *et al.*, 2015

TriPtn 1-5: เป็นตัวแทนในการแสดงรายละเอียดของลักษณะทางสัณฐานวิทยา (ภาพที่ 17)



ภาพที่ 17 *Trichoderma lentiforme* ไอโซเลต TriPtn 1-5 (ก) ลักษณะโคโคนีอายุ 7 วัน ที่อุณหภูมิห้อง (ย้ายอาหาร PDA กลางอาหาร SNA และขวาอาหาร CMD) (ข และ ค) conidiation pustules บนอาหาร SNA (ง-จ) โคนิดิออร์และไฟอะไลด์ (ฉ) คลาไมโดสปอร์ (ช) โคนินเดีย (สเกลบาร์ภาพ ข และ ค = 1 มิลลิเมตร ง-ช = 10 ไมโครเมตร)

10. *Trichoderma lentinulae*

Clade: Harzianum

ลักษณะทางสัณฐานวิทยา: โคลนีสีเขียวอ่อนอมเหลืองหม่นเป็นวงชั้น เมื่ออายุมากเปลี่ยนเป็นสีเขียวเข้มหม่น มีการรวมตัวกันของเส้นใยอย่างหนาแน่นและสร้างกลุ่มโคนิเดียลักษณะเป็น pustule จำนวนมาก ไม่สร้างรงควัตถุและกลิ่นบนอาหารเลี้ยงเชื้อ มีรูปแบบการแตกแขนงโคนิดีโอฟอร์แบบ Pyramidal-type สร้างไฟอะไลด์รูปร่างแบบ ampulliform ขนาด (3.5–)4.0–6.0(–6.5) x (2.0–)2.5–3.0(–3.5) ไมโครเมตร สร้างโคนิเดียสีเขียวจนถึงเขียวเข้ม รูปร่างแบบ ovoidal จนถึง globose ขนาด (1.5–)2.0–2.5(–3.0) x (2.0–)2.5–3.0(–3.5) ไมโครเมตร คลาไมโดสปอร์รูปร่างแบบ globose จนถึง subglobose

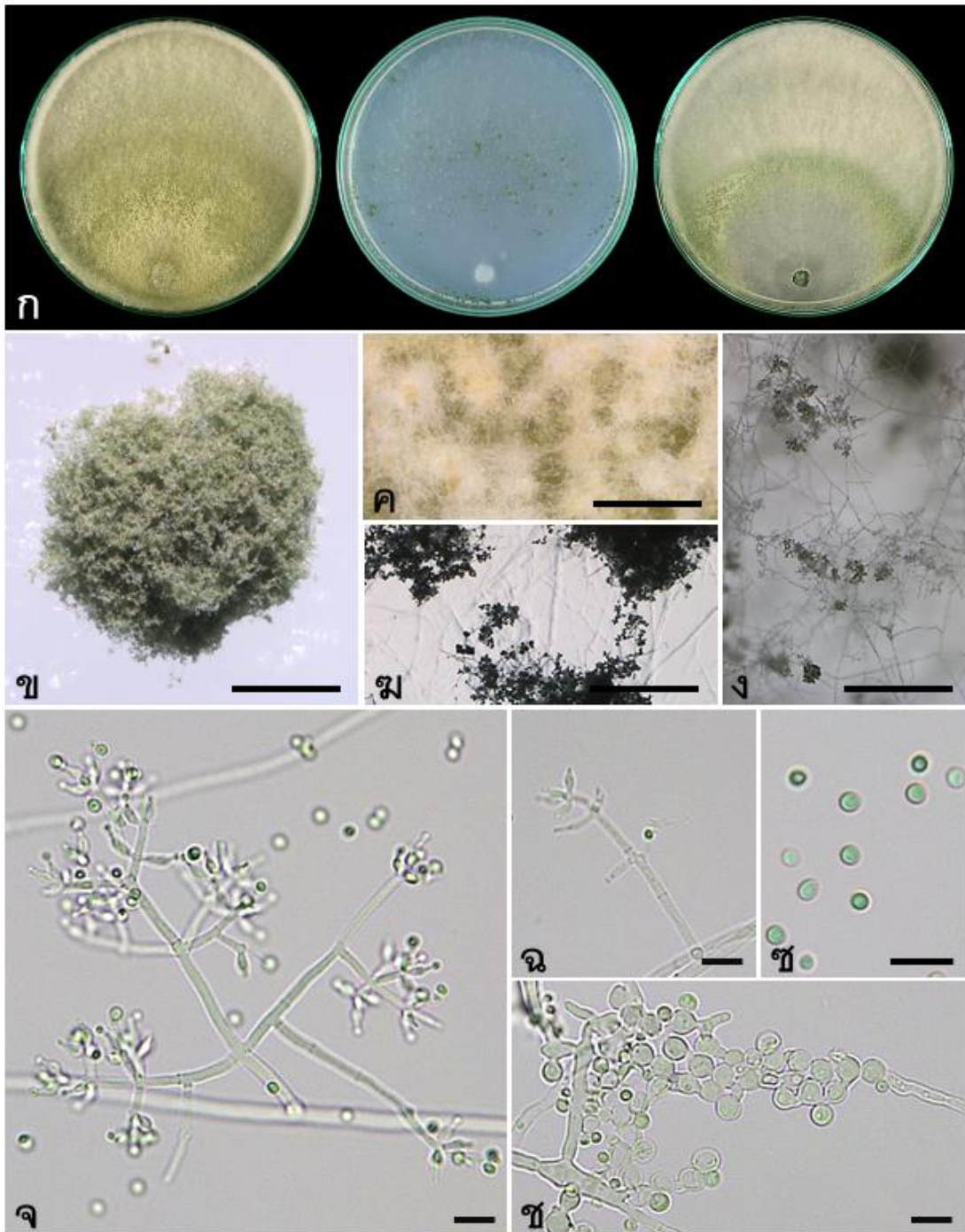
แหล่งที่พบ: ดิน

จังหวัดที่เก็บตัวอย่าง: พังงา

ไอโซเลตที่แยกได้: TriPN 4-1

เอกสารอ้างอิง: Gu *et al.*, 2020

TriPN 4-1: เป็นตัวแทนในการแสดงรายละเอียดของลักษณะทางสัณฐานวิทยา (ภาพที่ 18)



ภาพที่ 18 *Trichoderma lentinulae* ไอโซเลต TriPN 4-1 (ก) ลักษณะโคโลนีอายุ 7 วัน ที่อุณหภูมิห้อง (ซ้ายอาหาร PDA กลางอาหาร SNA และขวาอาหาร CMD) (ข) conidial pustules บนอาหาร SNA (ค) conidiation tufts บนอาหาร SNA (ฅ-ง) โคนิดิโอฟอร์บนอาหาร SNA (จ และ ฉ) โคนิดิโอฟอร์และไฟอะไลด์ (ช) คลาไมโดสปอร์ (ซ) โคนิดีเดียว (สเกลบาร์ภาพ ฅ-ง = 1 มิลลิเมตร จ-ฉ = 10 ไมโครเมตร)

11. *Trichoderma longibrachiatum*

Clade: Longibrachiatum

ลักษณะทางสัณฐานวิทยา: โคนิเดียสีเขียวย่อจนกระทั่งเข็มสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหารเลี้ยงเชื้อ มีการรวมตัวกันของเส้นใยอย่างหนาแน่นและสร้างกลุ่มโคนิเดียลักษณะเป็น pustule จำนวนมาก บริเวณรอบ ๆ inoculum สร้างรงวัตตุสีเหลืองบนอาหาร PDA และ CMD ไม่สร้างกลิ่นบนอาหารเลี้ยงเชื้อ มีรูปแบบการแตกแขนงของโคนิดิโอฟอร์แบบ Longibrachiatum-type สร้างไฟอะไลด์ รูปร่างแบบ cylindrical จนถึง lageniform ขนาด $(3.5-5.5-10.0(-17.2) \times (1.0-2.2-3.2(-4.5)$ ไมโครเมตร และพบ intercalary phialides สร้างโคนิเดียสีเขียวย่อ รูปร่างแบบ ellipsoidal ขนาด $(2.0-2.5-3.0(-4.0) \times (2.0-3.5-4.5(-6.2)$ ไมโครเมตร คลาไมโดสปอร์รูปร่างแบบ globose จนถึง subglobose

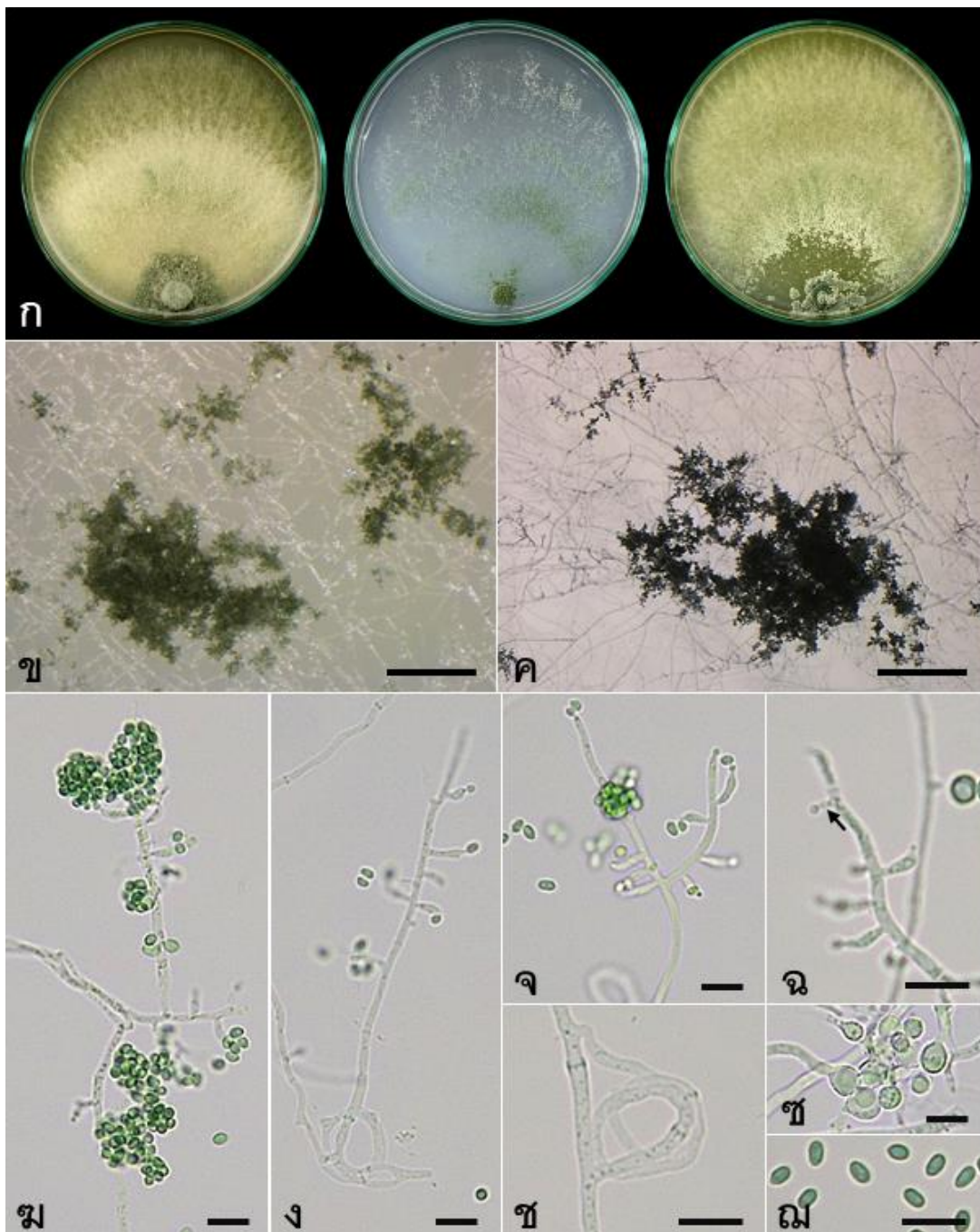
แหล่งที่พบ: ดิน

จังหวัดที่เก็บตัวอย่าง: ยะลา

ไอโซเลตที่แยกได้: TriYI 1-7

เอกสารอ้างอิง: Samuels และ Hebbar (2015)

TriYI 1-7: เป็นตัวแทนในการแสดงรายละเอียดของลักษณะทางสัณฐานวิทยา (ภาพที่ 19)



ภาพที่ 19 *Trichoderma longibrachiatum* ไอโซเลต TriYI 1-7 (ก) ลักษณะโคโลนีอายุ 7 วัน ที่อุณหภูมิห้อง (ซ้ายอาหาร PDA กลางอาหาร SNA และขวาอาหาร CMD) (ข และ ค) conidiation tufts บนอาหาร SNA (ฌ) โคนดิโอฟอร์ (ง-ฉ) โคนดิโอฟอร์และไฟอะไลต์ (ฉ) ลูกศรแสดง intercalary phialides (ช) เส้นใยที่ขดเป็นวงกลม (ซ) คลาไมโดสปอร์ (ณ) โคนเดีย (สเกลบาร์ภาพ ข และ ค = 1 มิลลิเมตร ฌ-ณ = 10 ไมโครเมตร)

12. *Trichoderma parareesei*

Clade: Longibrachiatum

ลักษณะทางสัณฐานวิทยา: โคนิเดียมสีเขียวอ่อนจนถึงเข้มแซมเหลืองเส้นใยเจริญเรียบไปกับอาหารเลี้ยงเชื้อ มีการรวมตัวกันของเส้นใยอย่างหนาแน่นและสร้างกลุ่มโคนิเดียมลักษณะเป็น pustule จำนวนมากบริเวณรอบ ๆ inoculum สร้างรงควัตถุสีเหลืองบนอาหาร PDA และ CMD ไม่สร้างกลิ่นบนอาหารเลี้ยงเชื้อ มีรูปแบบการแตกแขนงของโคนิเดียมโฟร์แบบ Longibrachiatum-type สร้างไฟอะโกลด์รูปร่างแบบ ampulliform หรือ lageniform ขนาด (4.5–)6.0–8.7(–11.0) x (2.0–)2.2–3.2(–3.8) ไมโครเมตร และพบ intercalary phialides สร้างโคนิเดียมสีเขียว รูปร่างแบบ ellipsoidal หรือ oblong ขนาด (2.5–)2.8–3.0(–3.5) x (3.3–)4.0–4.5(–6.2) ไมโครเมตร คลาไมโดสปอร์รูปร่างแบบ globose จนถึง subglobose

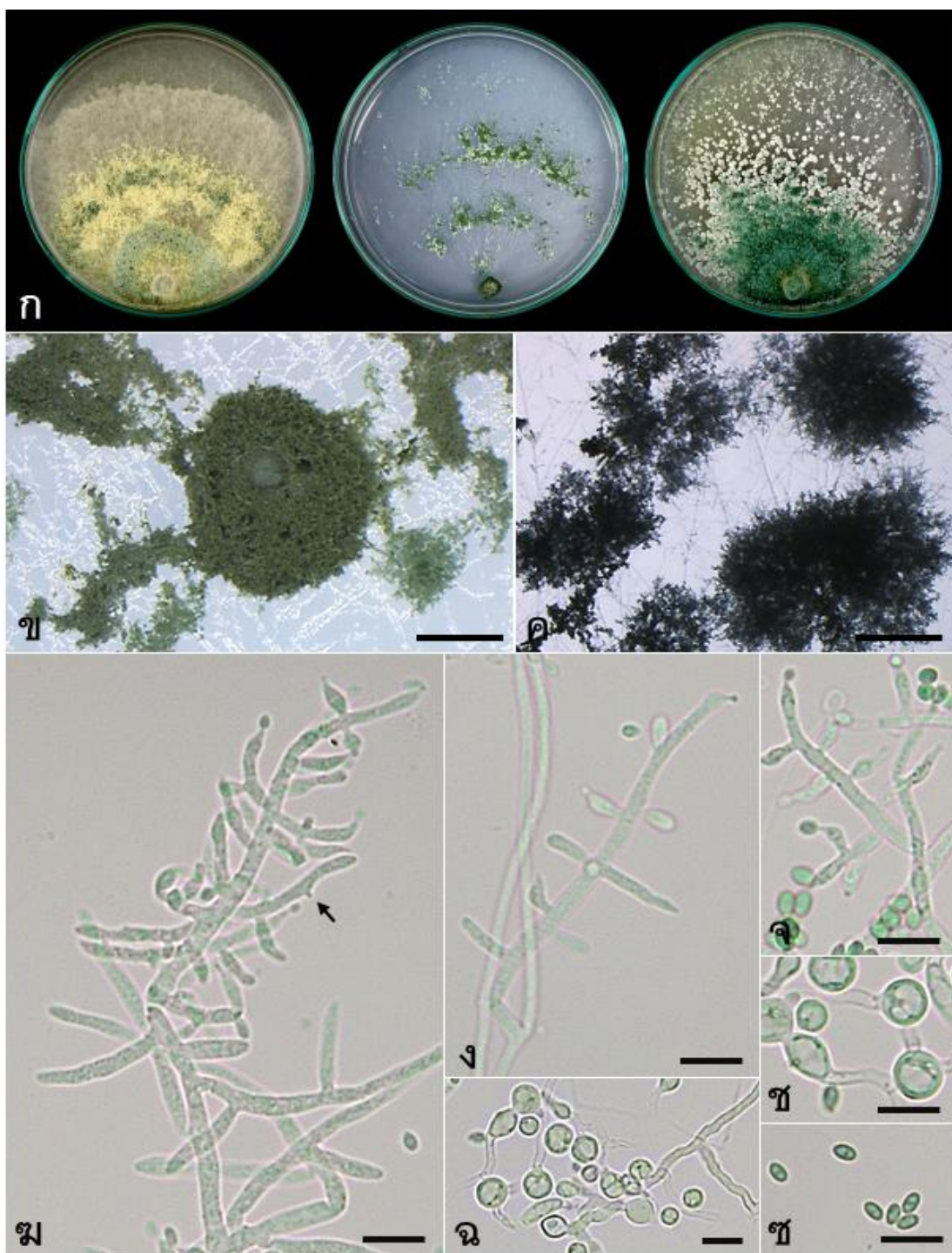
แหล่งที่พบ: ดิน

จังหวัดที่เก็บตัวอย่าง: กระบี่ นครศรีธรรมราช และภูเก็ต

ไอโซเลตที่แยกได้: TriKrb 2-2, TriKrb 2-4, TriNkr 1-7 และ TriPhk 2-3

เอกสารอ้างอิง: Atanasova *et al.*, 2010

TriKrb 2-2: เป็นตัวแทนในการแสดงรายละเอียดของลักษณะทางสัณฐานวิทยา (ภาพที่ 20)



ภาพที่ 20 *Trichoderma parareesei* ไอโซเลต TriKrb 2-2 (ก) ลักษณะโคโลนีอายุ 7 วัน ที่อุณหภูมิต้อง (ซ้ายอาหาร PDA กลางอาหาร SNA และขวาอาหาร CMD) (ข และ ค) conidial pustules บนอาหาร SNA (ฌ-จ) โคนิดิโอฟอร์และไฟอะไลด์ (ง) ลูกศรแสดง intercalary phialides (ฉ และ ช) คลาไมโดสปอร์ (ซ) โคนิดีเดียว (สเกลบาร์ภาพ ข และ ค = 1 มิลลิเมตร ฌ-ซ = 10 ไมโครเมตร)

13. *Trichoderma spirale*

Clade: Strictipile

ลักษณะทางสัณฐานวิทยา: โคนินสีขาวยาวและเส้นใยรวมกันแบบหลวมๆ เป็นวงชั้น เกิดการรวมตัวกันของโคนินเดี่ยวเป็นกลุ่มลักษณะคล้ายเม็ดทรายขนาดเล็กจำนวนมาก สร้างรงควัตถุนอาหาร PDA และ CMD ไม่สร้างกลิ่นบนอาหารเลี้ยงเชื้อ มีรูปแบบการแตกแขนงของโคนินดิโอฟอร์แบบ Pachybasium-type และพบ sterile hairs แบบขดงอ (ไม่มีแสดงในภาพ) บริเวณส่วนปลายของก้านโคนินดิโอฟอร์สร้างไฟอะไลด์รูปร่างแบบ ampulliform ขนาด (3.5–)4.2–6.7(–14.0) x (2.7–)3.2–4.2(–5.0) ไมโครเมตร สร้างโคนินเดี่ยวสีเขียวเทา รูปร่างแบบ oblong จนถึง narrowly ellipsoidal ขนาด (1.5–)2.0–2.7(–3.5) x (3.0–)3.7–4.2(–5.0) ไมโครเมตร คลาไมโดสปอร์รูปร่างแบบ globose จนถึง subglobose

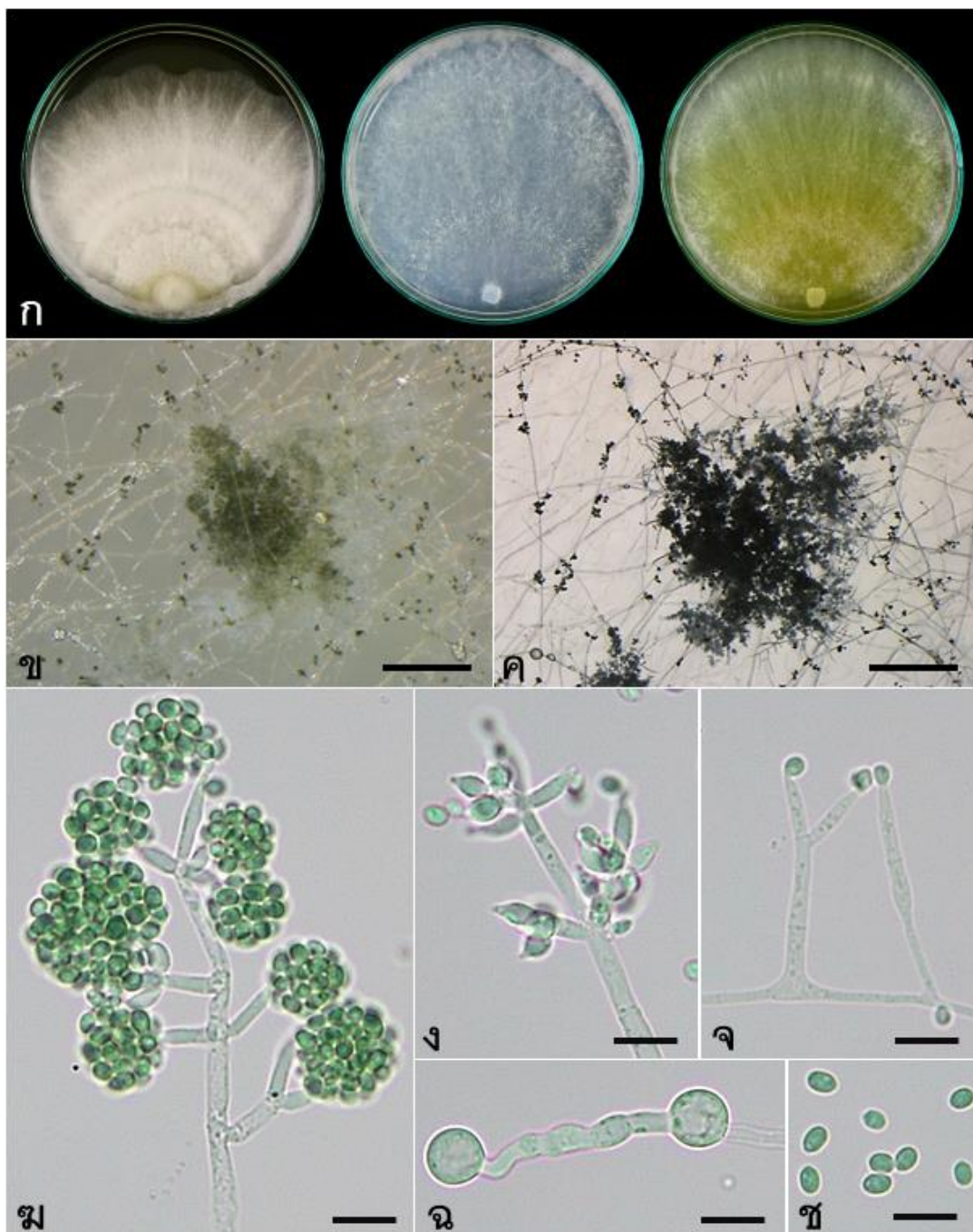
แหล่งที่พบ: ดิน

จังหวัดที่เก็บตัวอย่าง: สงขลา และสตูล

ไอโซเลตที่แยกได้: TriSk 2-1, TriSk 2-2, TriSk 3-5, TriSt 1-5, TriSt 1-6, TriSt 1-8 และ TriSt 1-10

เอกสารอ้างอิง: Samuels และ Hebbar (2015)

TriSk 2-1: เป็นตัวแทนในการแสดงรายละเอียดของลักษณะทางสัณฐานวิทยา (ภาพที่ 21)



ภาพที่ 21 *Trichoderma spirale* ไอโซเลต TriSk 2-1 (ก) ลักษณะโคโลนีอายุ 7 วัน ที่อุณหภูมิห้อง (ซ้ายอาหาร PDA กลางอาหาร SNA และขวาอาหาร CMD) (ข และ ค) conidiation tufts บนอาหาร SNA (ฌ) โคนิไดโพออร์ (ง และ จ) โคนิไดโพออร์และไฟอะไลด์ (ฉ) คลาไมโดสปอร์ (ช) โคนิเดี่ย (สเกลบาร์ภาพ ข และ ค = 1 มิลลิเมตร ฌ-ช = 10 ไมโครเมตร)

14. *Trichoderma taiwanense*

Clade: Viride

ลักษณะทางสัณฐานวิทยา: โคนิสีสีขาว เส้นใยรวมกันแบบหลวมๆ เป็นวงชั้น เกิดการรวมตัวกันของโคนิเดียเป็นกลุ่มลักษณะคล้ายเม็ดทรายขนาดเล็กจำนวนมาก เมื่ออายุมากโคนิเดียเปลี่ยนเป็นสีเขียวเข้ม ไม่สร้างรงควัตถุและก่อกินบนอาหารเลี้ยงเชื้อ มีรูปแบบการแตกแขนงของโคนิดิโอฟอร์แบบ Verticillium-type สร้างฟองอะไคด์รูปร่างแบบ lageniform หรือ cylindrical ขนาด (5.2–)7.0–10.2(–13.2) x (2.2–)2.5–3.2(–3.5) ไมโครเมตร สร้างโคนิเดียสีเขียว รูปร่างแบบ ellipsoidal ขนาด (2.5–)2.7–3.2(–3.5) x (3.5–)3.7–4.2(–4.7) ไมโครเมตร คลาไมโดสปอร์รูปร่างแบบ globose จนถึง subglobose

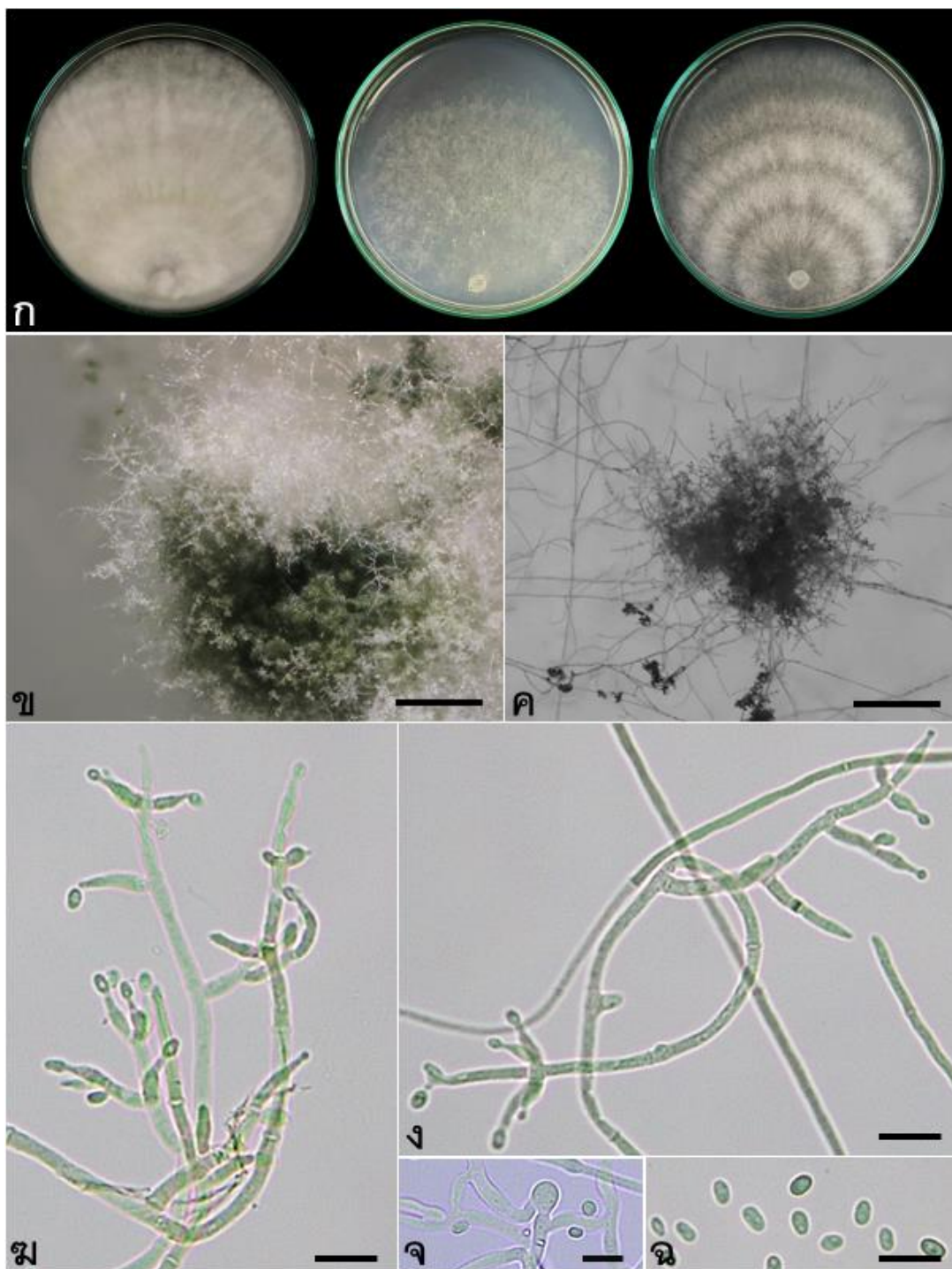
แหล่งที่พบ: ดิน

จังหวัดที่เก็บตัวอย่าง: พังงา

ไอโซเลตที่แยกได้: TriPN 3-2

เอกสารอ้างอิง: Samuels *et al.*, 2006

TriPN 3-2: เป็นตัวแทนในการแสดงรายละเอียดของลักษณะทางสัณฐานวิทยา (ภาพที่ 22)



ภาพที่ 22 *Trichoderma taiwanense* ไอโซเลต TriPN 3-2 (ก) ลักษณะโคโคนี้อายุ 7 วัน ที่อุณหภูมิต้อง (ซ้ายอาหาร PDA กลางอาหาร SNA และขวาอาหาร CMD) (ข และ ค) conical pustules บนอาหาร SNA (ง และ ฉ) โคโคนิโอฟอร์และไฟอะไลด์ (จ) คลาไมโดสปอร์ (ฉ) โคโคนิเดีย (สเกลบาร์ภาพ ข และ ค = 1 มิลลิเมตร ง-ฉ = 10 ไมโครเมตร)

15. *Trichoderma tomentosum*

Clade: Harzianum

ลักษณะทางสัณฐานวิทยา: โคลนีตรงกลางสีเขียวเทาเข้มเป็นวงชั้นสีเขียวอ่อนอมเทาสลับเหลืองอ่อน สร้างเส้นใยฟูเหนืออาหารเลี้ยงเชื้อ มีการรวมตัวกันของเส้นใยอย่างหนาแน่นและสร้างกลุ่มโคนิเดียลักษณะเป็น pustule จำนวนมาก ไม่สร้างรงควัตถุนอาหาร PDA และ CMD ไม่สร้างกลิ่นบนอาหารเลี้ยงเชื้อ มีรูปแบบการแตกแขนงของโคนิดิโอฟอร์แบบ Pachybasium-type และพบ sterile หรือ fertile hairs บริเวณส่วนปลายของก้านโคนิดิโอฟอร์สร้างไฟอะไลด์รูปร่างแบบ ampulliform ขนาด (3.7-)4.2-6.2(-10.2) x (2.7-)3.0-3.7(-4.0) ไมโครเมตร สร้างโคนิเดียสีเขียว รูปร่างแบบ ellipsoidal ขนาด (1.5-)2.0-2.5(-2.7) x (2.5-)3.0-3.7(-4.0) ไมโครเมตร คลาไมโดสปอร์รูปร่างแบบ globose จนถึง subglobose

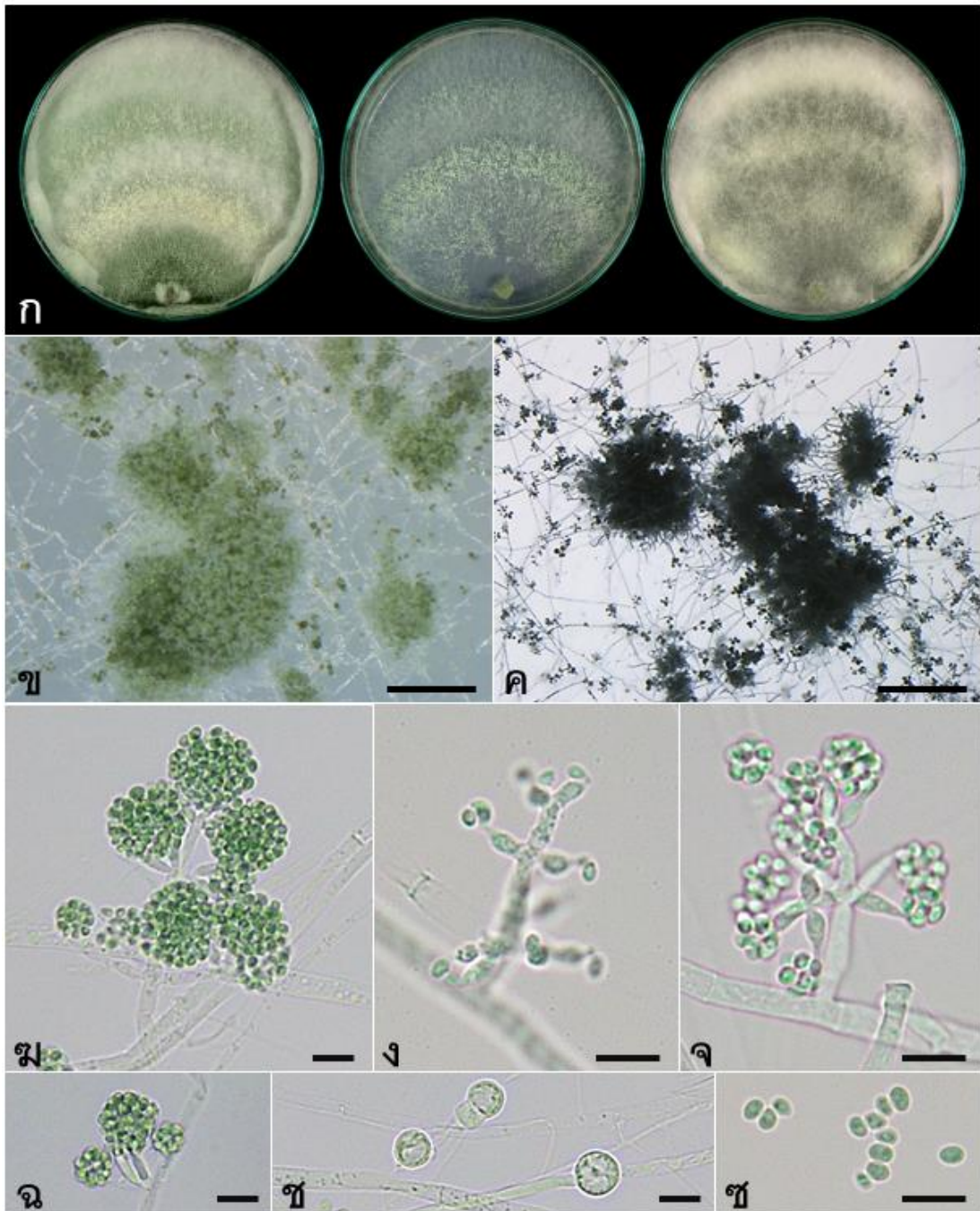
แหล่งที่พบ: ดิน

จังหวัดที่เก็บตัวอย่าง: สตูล และสงขลา

ไอโซเลตที่แยกได้: TriSk 2-3, TriSk 2-4, TriSt 1-1, TriSt 1-2, TriSt 1-3, TriSt 1-4, TriSt 1-7 และ TriSt 1-9

เอกสารอ้างอิง: Samuels และ Hebbar (2015)

TriSt 1-1: เป็นตัวแทนในการแสดงรายละเอียดของลักษณะทางสัณฐานวิทยา (ภาพที่ 23)



ภาพที่ 23 *Trichoderma tomentosum* ไอโซเลต TriSt 1-1 (ก) ลักษณะโคโลนีอายุ 7 วัน ที่อุณหภูมิห้อง (ซ้าย อาหาร PDA กลางอาหาร SNA และขวาอาหาร CMD) (ข และ ค) conidial pustules บนอาหาร SNA (ง) โคนิดิโอฟอร์ (ง-ฉ) โคนิดิโอฟอร์และไฟอะไลด์ (ช) คลาไมโดสปอร์ (ซ) โคนิดีเดี่ยว (สเกลบาร์ภาพ ข และ ค = 1 มิลลิเมตร ง-ซ = 10 ไมโครเมตร)

16. *Trichoderma virens*

Clade: Virens

ลักษณะทางสัณฐานวิทยา: โคนินี่เจริญซ้ำ สีเขียวอมเหลือง ไม่สร้างรงควัตถุและกลืนบนอาหาร
 เลี้ยงเชื้อ โคนินดีโอฟอร์ถูกสร้างขึ้นจาก aerial mycelium และมีรูปแบบการแตกแขนงแบบ
 Gliocladium-type สร้างไฟอะไลด์รูปร่างแบบ lageniform จนถึง ampulliform ขนาด (5.5–)8.7–
 9.2(–15.0) x (2.5–)3.5–4.5(–5.0) ไมโครเมตร สร้างโคนินเดี่ยวสีเขียว รูปร่างแบบ subglobose
 จนถึง ellipsoidal หรือ ovoidal ขนาด (2.5–)3.5–4.2(–4.7) x (3.6–)4.0–5.2(–6.5) ไมโครเมตร
 คลาไมโดสปอร์รูปร่างแบบ subglobose

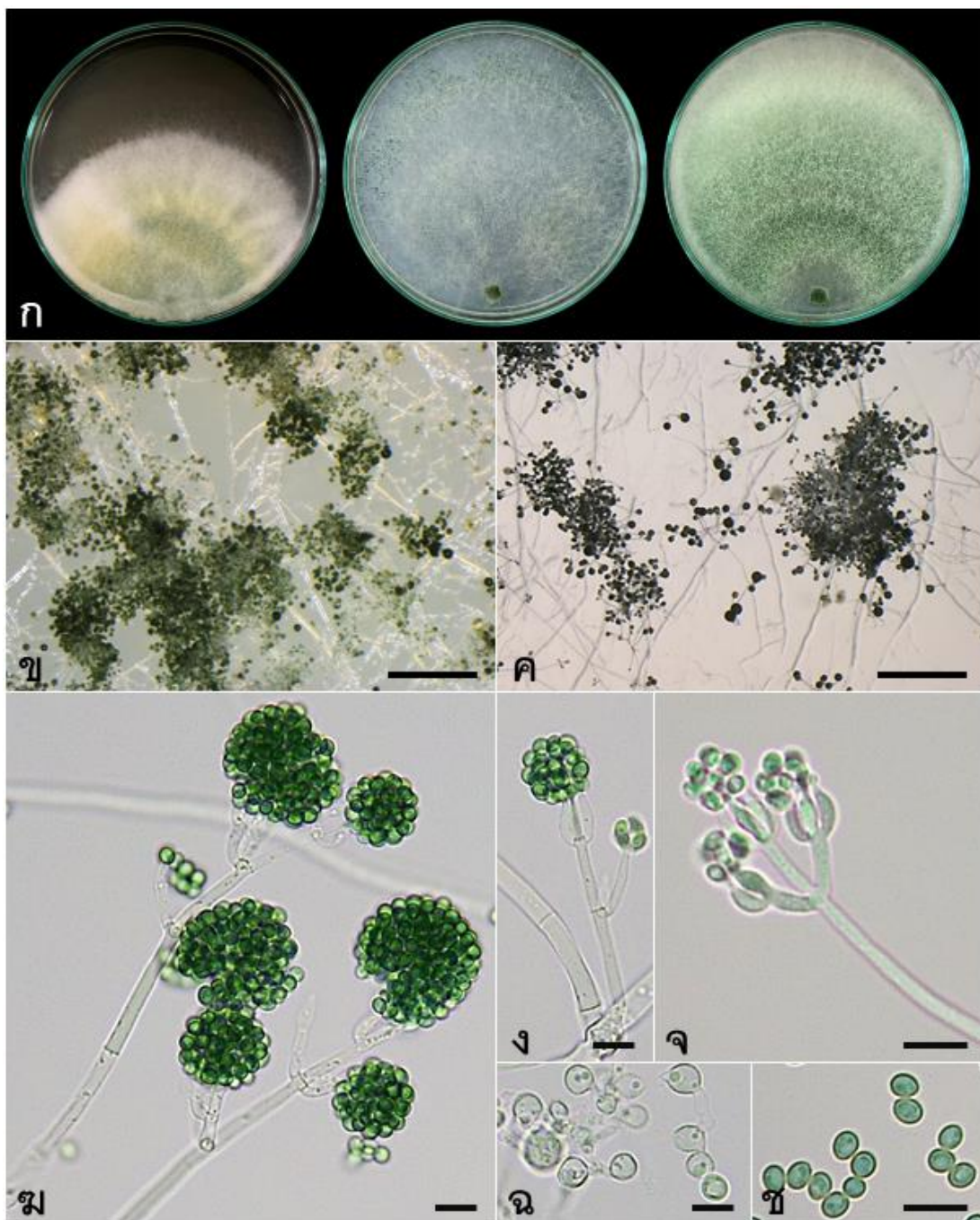
แหล่งที่พบ: ดิน

จังหวัดที่เก็บตัวอย่าง: ปัตตานี พัทลุง ภูเก็ต และสตูล

ไอโซเลตที่แยกได้: TriPhk 4-1, TriPhk 4-2, TriPhk 4-3, TriPhk 4-4, TriPhk 4-6, TriPhk 4-7,
 TriPtL 1-2, TriPtn 1-7, TriPtn 1-11 และ TriSt 3-1

เอกสารอ้างอิง: Samuels และ Hebbar (2015)

TriPtn 1-7: เป็นตัวแทนในการแสดงรายละเอียดของลักษณะทางสัณฐานวิทยา (ภาพที่ 24)



ภาพที่ 24 *Trichoderma virens* ไอโซเลต TriPt1 1-7 (ก) ลักษณะโคโลนีอายุ 7 วัน ที่อุณหภูมิห้อง (ซ้ายอาหาร PDA กลางอาหาร SNA และขวาอาหาร CMD) (ข และ ค) conidiation tufts บนอาหาร SNA (ง-จ) โคนินดิโอฟอร์และไฟอะไลด์ (ฉ) คลาไมโดสปอร์ (ช) โคนินเดีย (สเกลบาร์ภาพ ข และ ค = 1 มิลลิเมตร ง-ช = 10 ไมโครเมตร)

17. *Trichoderma* sp.

Clade: Harzianum

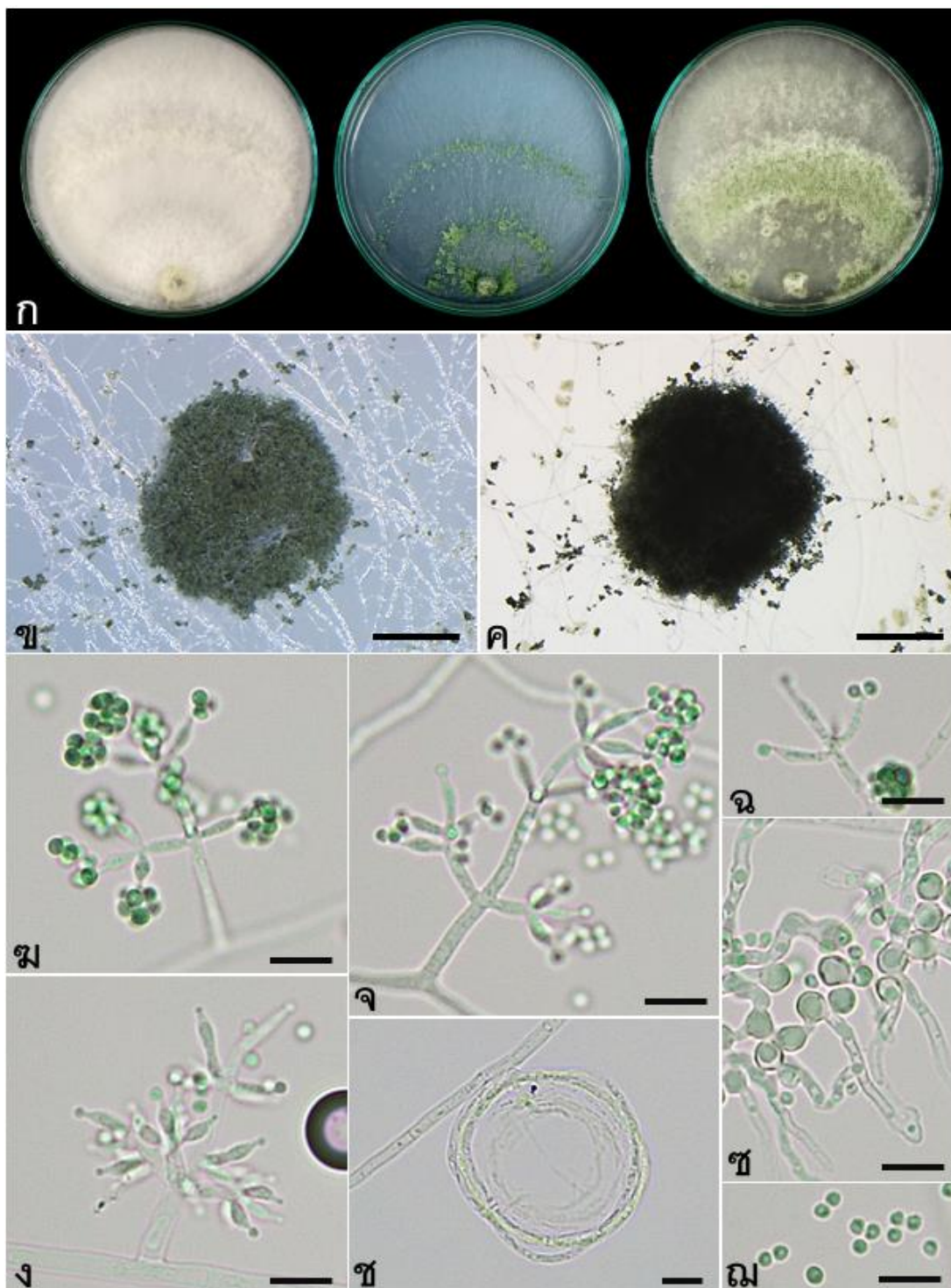
ลักษณะทางสัณฐานวิทยา: โคนินสีขาวยาว สร้างเส้นใยฟูเหนืออาหารเลี้ยงเชื้อ มีการรวมตัวกันของเส้นใยอย่างหนาแน่นและสร้างกลุ่มโคนินเดี่ยวลักษณะเป็น pustule จำนวนมาก เมื่ออายุมากโคนินเปลี่ยนเป็นสีเขียวเข้ม ไม่สร้างรงควัตถุและกลิ่นบนอาหารเลี้ยงเชื้อ มีรูปแบบการแตกแขนงของโคนินอโอฟอร์แบบ Pyramidal-type และ Pachybasium-type สร้างไฟอะไลด์รูปร่างแบบ ampulliform หรือ lageniform ขนาด (6.0–)8.0–10.5(–13.1) x (2.0–)2.6–3.2(–3.5) ไมโครเมตร สร้างโคนินเดี่ยวสีเขียว รูปร่างแบบ globose จนถึง subglobose ขนาด (2.6–)2.8–3.2(–4.0) x (2.7–)3.2–3.4(–4.2) ไมโครเมตร คลาไมโดสปอร์รูปร่างแบบ globose จนถึง subglobose

แหล่งที่พบ: ดิน

จังหวัดที่เก็บตัวอย่าง: กระบี่

ไอโซเลตที่แยกได้: TriKrb 2-1, TriKrb 2-5 และ TriKrb 2-6

TriKrb 2-1: เป็นตัวแทนในการแสดงรายละเอียดของลักษณะทางสัณฐานวิทยา (ภาพที่ 25)



ภาพที่ 25 *Trichoderma* sp. ไฮโซเลต TriKrb 2-1 (ก) ลักษณะโคโคนีอายุ 7 วัน ที่อุณหภูมิห้อง (ซ้ายอาหาร PDA กลางอาหาร SNA และขวาอาหาร CMD) (ข และ ค) conical pustules บนอาหาร SNA (ง-ฉ) โคโคนีโอฟอร์และไฟอะไลด์ (ช) เส้นใยที่ขดเป็นวงกลม (ซ) คลาไมโดสปอร์ (ฌ) โคนินเดี่ยว (สเกลบาร์ภาพ ข และ ค = 1 มิลลิเมตร ง-ณ = 10 ไมโครเมตร)

18. *Trichoderma* sp.

Clade: Harzianum

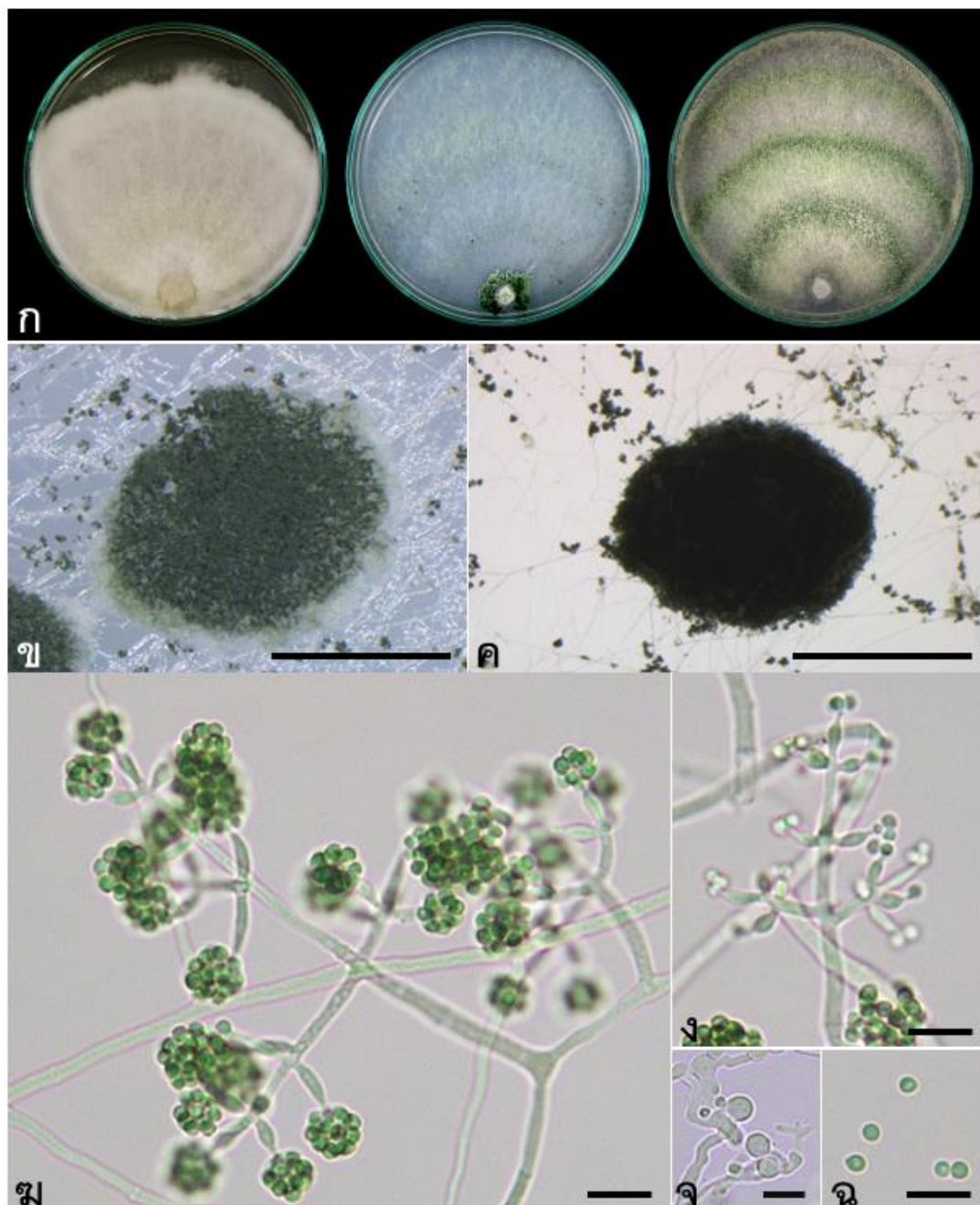
ลักษณะทางสัณฐานวิทยา: โคลนีสีขาวแซมเหลืองอ่อน มีการรวมตัวกันของเส้นใยอย่างหนาแน่นและสร้างกลุ่มโคนิเดียลักษณะเป็น pustule จำนวนมาก เมื่ออายุมากโคลนีเปลี่ยนเป็นสีเขียวเข้ม ไม่สร้างรงควัตถุและกลิ่นบนอาหารเลี้ยงเชื้อ มีรูปแบบการแตกแขนงของโคนิดีโอฟอร์แบบ Pyramidal-type สร้างไฟอะไลด์รูปร่างแบบ ampulliform ขนาด (5.0–)6.5–7.5(–10.0) x (2.0–)2.3–2.6(–3.3) ไมโครเมตร สร้างโคนิเดียสีเขียว รูปร่างแบบ globose จนถึง subglobose ขนาด (2.7–)2.9–3.1(–3.6) x (2.7–)3.2–3.4(–4.2) ไมโครเมตร คลาไมโดสปอร์รูปร่างแบบ globose จนถึง subglobose

แหล่งที่พบ: ดิน

จังหวัดที่เก็บตัวอย่าง: ชุมพร และภูเก็ต

ไอโซเลตที่แยกได้: TriChP 2-1, TriPhk 1-2

TriChP 2-1: เป็นตัวแทนในการแสดงรายละเอียดของลักษณะทางสัณฐานวิทยา (ภาพที่ 26)



ภาพที่ 26 *Trichoderma* sp. ไส้หลอด TriChP 2-1 (ก) ลักษณะโคโลนีอายุ 7 วัน ที่อุณหภูมิห้อง (ซ้าอาหาร PDA กลางอาหาร SNA และขวาอาหาร CMD) (ข และ ค) conidial pustules บนอาหาร SNA (ข และ ง) โคนิไดโอฟอร์และไฟอะไลด์ (จ) คลาไมโตสปอร์ (ฉ) โคนิเดีย (สเกลบาร์ภาพ ข และ ค = 1 มิลลิเมตร ฉ-ค = 10 ไมโครเมตร)

19. *Trichoderma* sp.

Clade: Harzianum

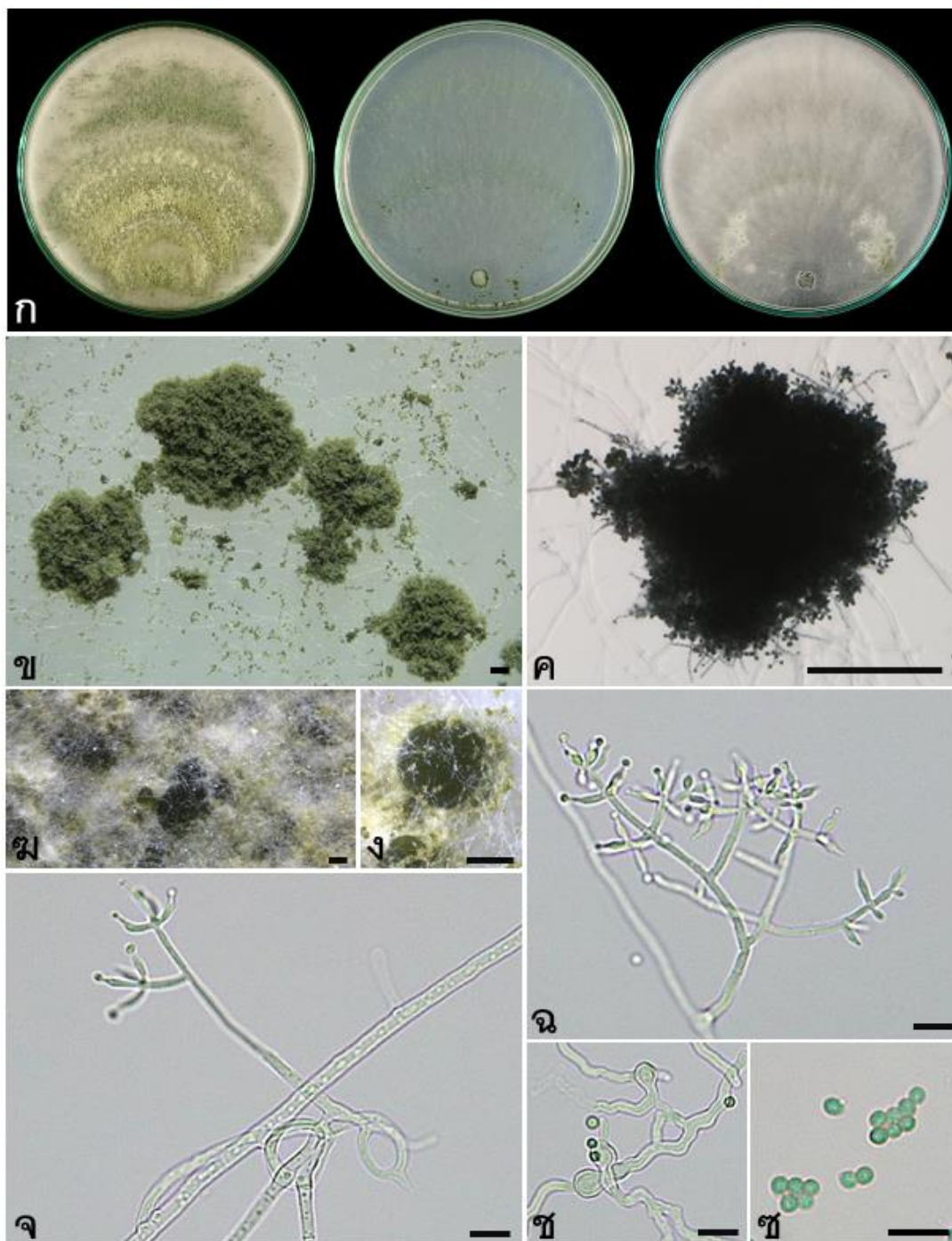
ลักษณะทางสัณฐานวิทยา: โคนิเดียมตรงกลางสีเขียวเทาเข้มเป็นวงชั้นสีเขียวอ่อนอมเทาสดับเหลืองอ่อน สร้างเส้นใยฟูเหนืออาหารเลี้ยงเชื้อ มีการรวมตัวกันของเส้นใยอย่างหนาแน่นและสร้างกลุ่มโคนิเดียมลักษณะเป็น pustule จำนวนมาก ไม่สร้างรงควัตถุและกลิ่นบนอาหารเลี้ยงเชื้อ มีรูปแบบการแตกแขนงของโคนิเดียมโอฟอร์แบบ Pyramidal-type สร้างไฟอะไลด์รูปร่างแบบ lageniform ขนาด (6.3–)7.5–8.1(–10.2) x (2.1–)2.3–2.6(–3.2) ไมโครเมตร สร้างโคนิเดียมสีเขียว รูปร่างแบบ globose จนถึง subglobose ขนาด (2.3–)2.7–2.9(–3.2) x (3.1–)3.3–3.5(–3.7) ไมโครเมตร คลาไมโดสปอร์รูปร่างแบบ subglobose

แหล่งที่พบ: ดิน

จังหวัดที่เก็บตัวอย่าง: สตูล

ไอโซเลตที่แยกได้: TriSt 3-2

TriSt 3-2: เป็นตัวแทนในการแสดงรายละเอียดของลักษณะทางสัณฐานวิทยา (ภาพที่ 27)



ภาพที่ 27 *Trichoderma* sp. ไอโซเลต TriSt 3-2 (ก) ลักษณะโคโลนีอายุ 7 วัน ที่อุณหภูมิห้อง (ซ้ายอาหาร PDA กลางอาหาร SNA และขวาอาหาร CMD) (ข และ ค) conidial pustules บนอาหาร SNA (ง และ จ) exudates บนอาหาร CMD เป็นเวลา 7 วัน (ฉ และ ช) โคนดิโอฟอร์และไฟอะไลด์ (ซ) คลาไมโตสปอร์ (ซ) โคนิเดีย (สเกลบาร์ภาพ ข-ง = 1 มิลลิเมตร ฉ-ซ = 10 ไมโครเมตร)

20. *Trichoderma* sp.

Clade: Harzianum

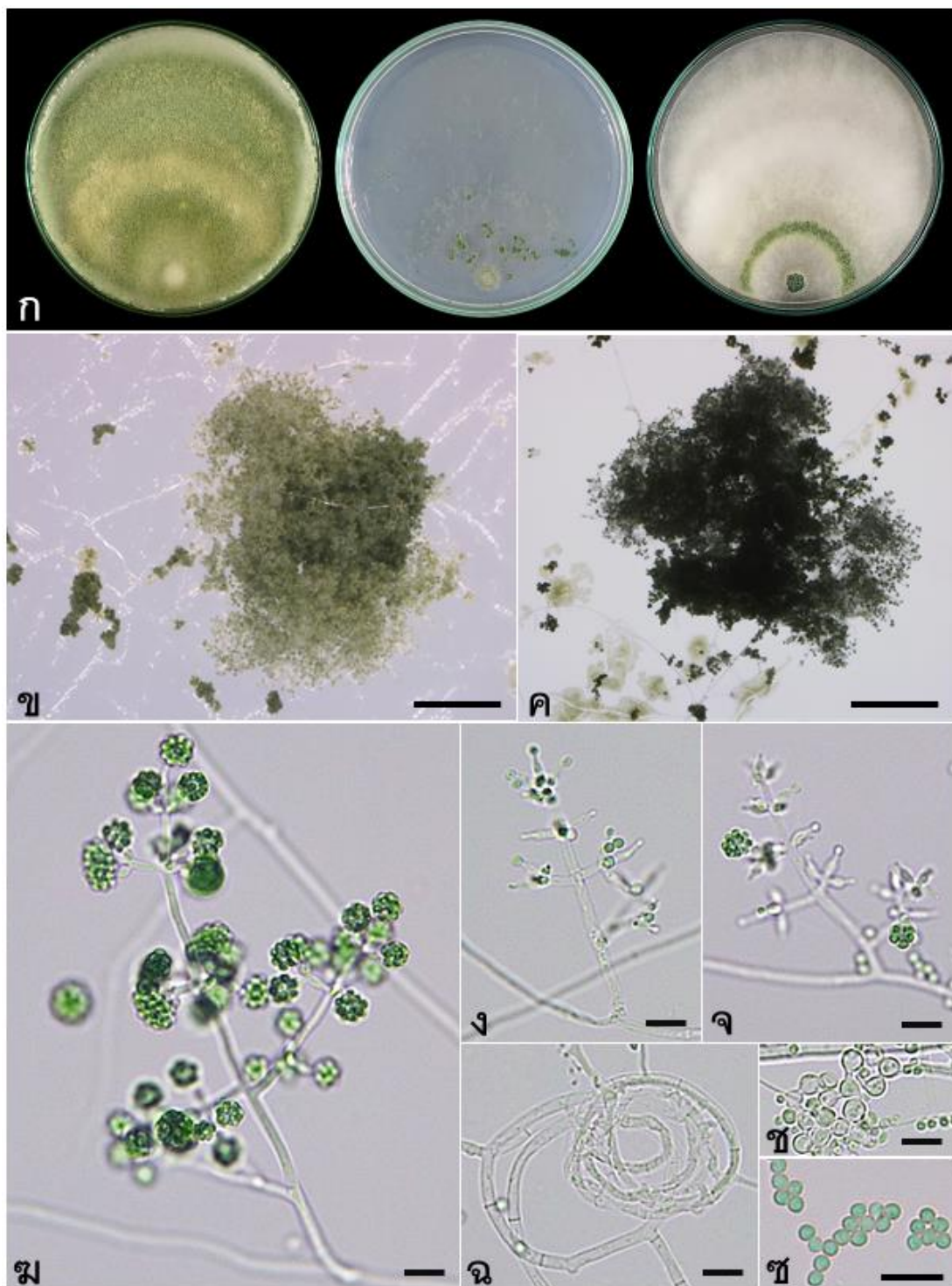
ลักษณะทางสัณฐานวิทยา: โคลนีตรงกลางสีเขียวเข้มเป็นวงชั้นสีเขียวอ่อนสลับเหลืองอ่อน สร้างเส้นใยเรียบไปกับผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ มีการรวมตัวกันของเส้นใยอย่างหนาแน่นและสร้างกลุ่มโคนิเดียลักษณะเป็น pustule จำนวนมาก ไม่สร้างรงควัตถุและกลิ่นบนอาหารเลี้ยงเชื้อ มีรูปแบบการแตกแขนงของโคนิดีโอฟอร์แบบ Pyramidal-type สร้างไฟอะไลด์รูปร่างแบบ ampulliform ขนาด (5.6–)6.7–7.6(–10.7) x (1.8–)2.2–2.4(–3.0) ไมโครเมตร สร้างโคนิเดียสีเขียว รูปร่างแบบ globose จนถึง subglobose ขนาด (2.4–)2.7–2.9(–3.4) x (3.1–)3.3–3.6(–4.1) ไมโครเมตร คลาไมโดสปอร์รูปร่างแบบ subglobose

แหล่งที่พบ: ดิน

จังหวัดที่เก็บตัวอย่าง: พังงา

ไอโซเลตที่แยกได้: TriPN 4-4, TriPN 4-5, TriPN 4-6, TriPN 5-3 และ TriPN 5-10

TriPN 4-4: เป็นตัวแทนในการแสดงรายละเอียดของลักษณะทางสัณฐานวิทยา (ภาพที่ 28)



ภาพที่ 28 *Trichoderma* sp. ไอโซเลต TriPN 4-4 (ก) ลักษณะโคโลนีอายุ 7 วัน ที่อุณหภูมิห้อง (ซ้าอาหาร PDA กลางอาหาร SNA และขวาอาหาร CMD) (ข และ ค) conidial pustules บนอาหาร SNA (ข) โคนิติโอฟอร์ (ง และ จ) โคนิติโอฟอร์และไฟอะไลด์ (ฉ) เส้นใยที่ขดเป็นวงกลม (ช) คลาไมโดสปอร์ (ซ) โคนิตีเย (สเกลบาร์ภาพ ข และ ค = 1 มิลลิเมตร ฉ-ซ = 10 ไมโครเมตร)

21. *Trichoderma* sp.

Clade: Harzianum

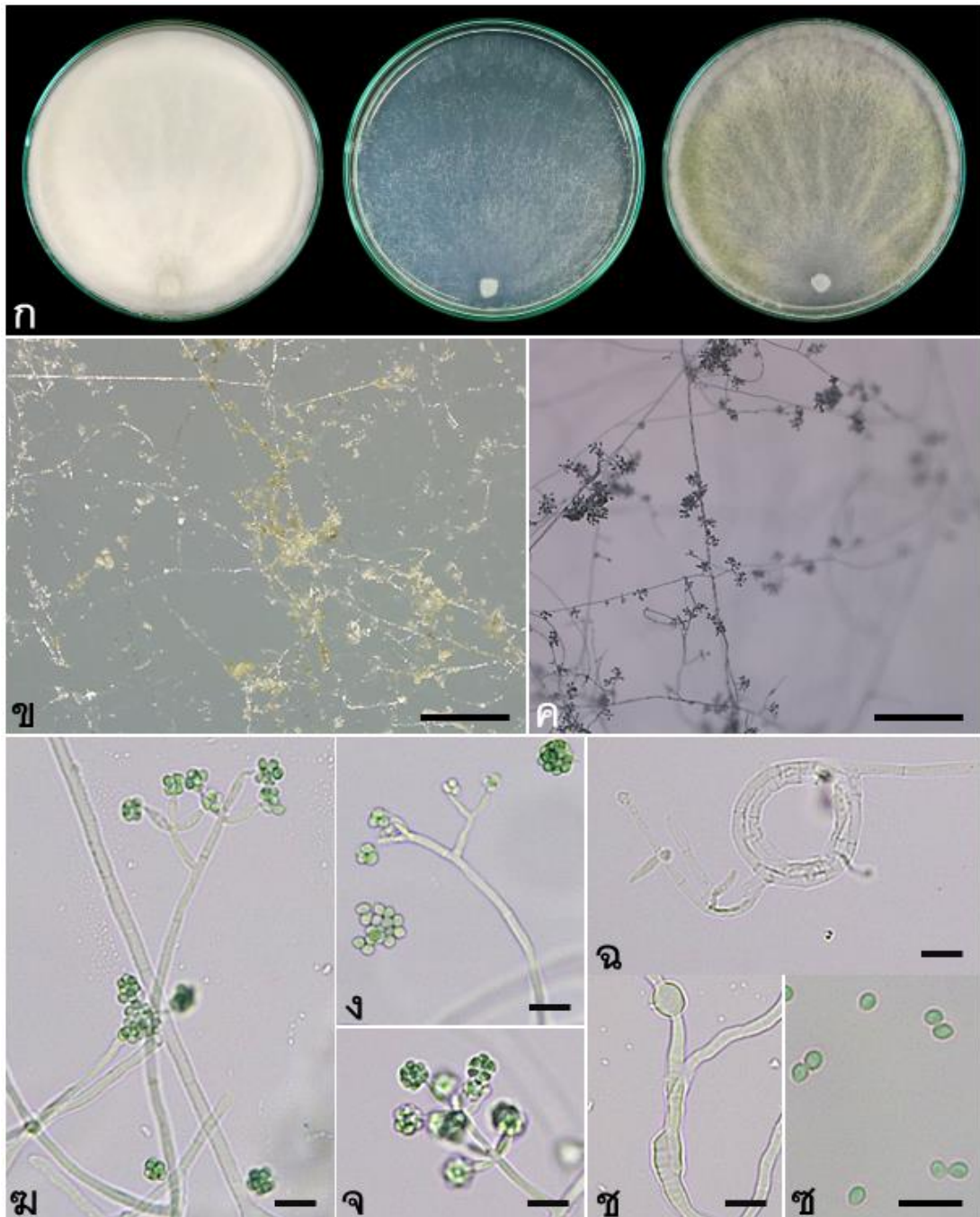
ลักษณะทางสัณฐานวิทยา: โคนิสีสีขาวและเส้นใยฟูอยู่เหนือผิวหน้าอาหาร เมื่ออายุมากโคนิสีเปลี่ยนเป็นสีเขียวเข้ม ไม่สร้างรงควัตถุและกลิ่นบนอาหารเลี้ยงเชื้อ มีรูปแบบการแตกแขนงของโคนิไดโอฟอร์แบบ Pyramidal-type สร้างไฟอะไลดรูปปร่างแบบ lageniform ขนาด (5.6–)7.5–9.0 (–15.2) x (1.5–)1.8–2.4(–2.7) ไมโครเมตร สร้างโคนิเดียสีเขียว รูปปร่างแบบ subglobose ขนาด (2.4–)2.6–2.9(–3.1) x (2.7–)3.2–3.5(–4.0) ไมโครเมตร คลาไมโดสปอร์รูปปร่างแบบ subglobose

แหล่งที่พบ: ดิน

จังหวัดที่เก็บตัวอย่าง: ตรัง

ไอโซเลตที่แยกได้: TriTrG 3-10

TriTrG 3-10: เป็นตัวแทนในการแสดงรายละเอียดของลักษณะทางสัณฐานวิทยา (ภาพที่ 29)



ภาพที่ 29 *Trichoderma* sp. ไอโซเลต TriTrG 3-10 (ก) ลักษณะโคโลนีอายุ 7 วัน ที่อุณหภูมิห้อง (ซ้ายอาหาร PDA กลางอาหาร SNA และขวาอาหาร CMD) (ข และ ค) โคนดิโอฟอร์บนอาหาร SNA (ง-ฉ) โคนดิโอฟอร์และไฟอะไลด์ (ฉ) เส้นใยที่ขดเป็นวงกลม (ช) คลาไมโดสปอร์ (ซ) โคนเดีย (สเกลบาร์ภาพ ข และ ค = 1 มิลลิเมตร ง-ซ = 10 ไมโครเมตร)

22. *Trichoderma* sp.

Clade: Harzianum

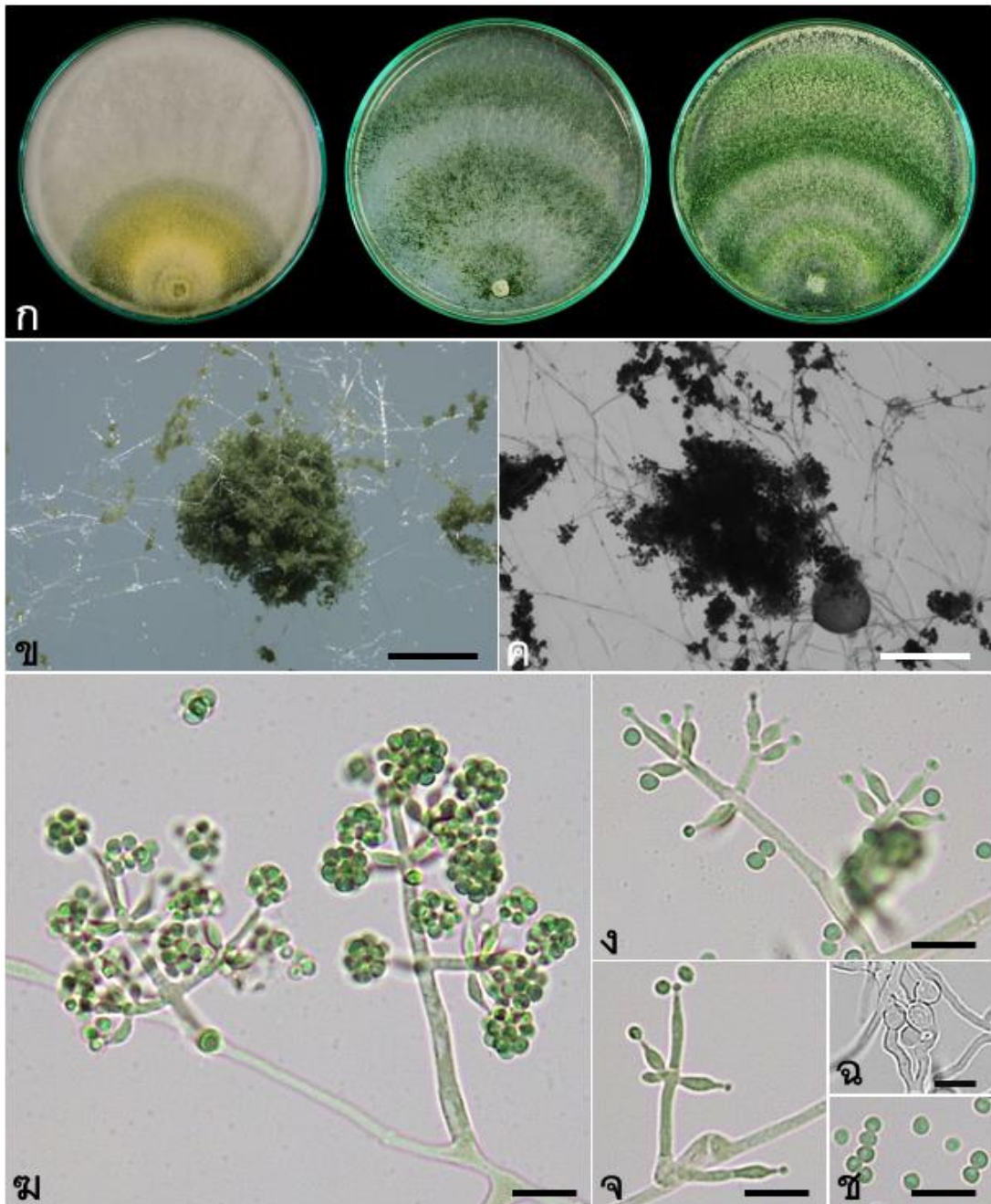
ลักษณะทางสัณฐานวิทยา: โคนิเดียตรงกลางสีเขียวเข้มแซมเหลืองเป็นวงชั้น ชั้นนอกสีขาว สร้างเส้นใยเรียบไปกับผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ เกิดการรวมตัวกันของโคนิเดียเป็นกลุ่มลักษณะคล้ายเม็ดทรายขนาดเล็กจำนวนมาก ไม่สร้างรงควัตถุและกลิ่นบนอาหารเลี้ยงเชื้อ มีรูปแบบการแตกแขนงของโคนิเดียฟองแบบ Pyramidal-type สร้างไฟอะไลด์รูปร่างแบบ ampulliform ขนาด (4.5–)6.7–7.2(–10.0) x (1.8–)2.5–2.7(–3.3) ไมโครเมตร สร้างโคนิเดียสีเขียว รูปร่างแบบ globose จนถึง subglobose ขนาด (2.5–)2.6–2.8(–3.1) x (2.7–)2.8–3.1(–3.6) ไมโครเมตร คลาไมโดสปอร์รูปร่างแบบ subglobose

แหล่งที่พบ: ดิน

จังหวัดที่เก็บตัวอย่าง: ชุมพร

ไอโซเลตที่แยกได้: TriChP 1-1 และ TriChP 1-2

TriChP 1-1: เป็นตัวแทนในการแสดงรายละเอียดของลักษณะทางสัณฐานวิทยา (ภาพที่ 30)



ภาพที่ 30 *Trichoderma* sp. ไฮโซเลต TriChP 1-1 (ก) ลักษณะโคโคนีอายุ 7 วัน ที่อุณหภูมิห้อง (ซ้าอาหาร PDA กลางอาหาร SNA และขวาอาหาร CMD) (ข และ ค) conidial pustules บนอาหาร SNA (ง) โคโคนีโอฟอร์ (ง และ จ) โคโคนีโอฟอร์และไฟอะไลต์ (ฉ) คลาไมโดสปอร์ (ช) โคโคนีเดีย (สเกลบาร์ภาพ ข และ ค = 1 มิลลิเมตร ก-ท = 10 ไมโครเมตร)

23. *Trichoderma* sp.

Clade: Harzianum

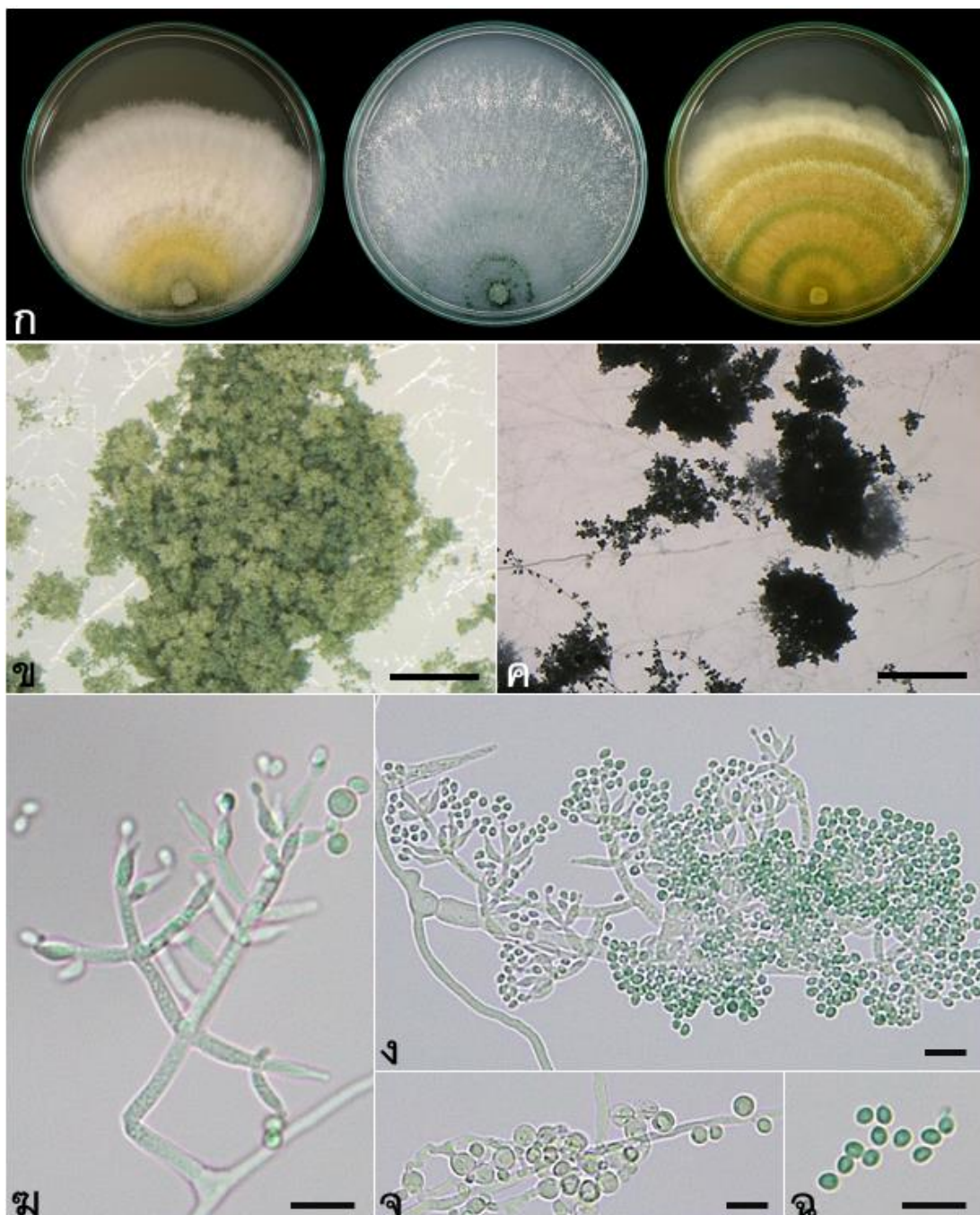
ลักษณะทางสัณฐานวิทยา: ตรงกลางโคโคนีสีเขียวเข้มแซมเหลืองเป็นวงชั้น ชั้นนอกสีขาว สร้างเส้นใยฟู เกิดการรวมตัวกันของโคโคนีเดียวเป็นกลุ่มลักษณะคล้ายเม็ดทรายขนาดเล็กจำนวนมาก สร้างรงควัตถุสีเหลืองและไม่สร้างกลิ่นบนอาหาร PDA และ CMD มีรูปแบบการแตกแขนงของโคโคนีไอพอร์แบบ Pachybasium-type และ Pyramidal-type สร้างไฟอะไลด์รูปร่างแบบ ampulliform ขนาด (5.8–)8.0–9.4(–13.8) x (2.4–)2.7–3.1(–3.5) ไมโครเมตร สร้างโคโคนีเดียวสีเขียว รูปร่างแบบ subglobose จนถึง ovoidal ขนาด (2.5–)3.0–3.2(–3.4) x (3.3–)3.5–3.7(–3.9) ไมโครเมตร คลาไมโดสปอร์รูปร่างแบบ subglobose จนถึง globose

แหล่งที่พบ: ดิน

จังหวัดที่เก็บตัวอย่าง: นครศรีธรรมราช

ไอโซเลตที่แยกได้: TriNkr 1-1, TriNkr 1-2, TriNkr 1-5 และ TriNkr 1-6

TriNkr 1-1: เป็นตัวแทนในการแสดงรายละเอียดของลักษณะทางสัณฐานวิทยา (ภาพที่ 31)



ภาพที่ 31 *Trichoderma* sp. ไอสเตรด TriNkr 1-1 (ก) ลักษณะโคโคนีอายุ 7 วัน ที่อุณหภูมิห้อง (ซ้าอาหาร PDA กลางอาหาร SNA และขวาอาหาร CMD) (ข และ ค) conical pustules บนอาหาร SNA (ง และ ฉ) โคนิโดฟอร์และไฟอะไลด์ (จ) คลาไมโดสปอร์ (ฉ) โคนิเดี่ย (สเกลบาร์ภาพ ข และ ค = 1 มิลลิเมตร ง-ฉ = 10 ไมโครเมตร)

24. *Trichoderma* sp.

Clade: Harzianum

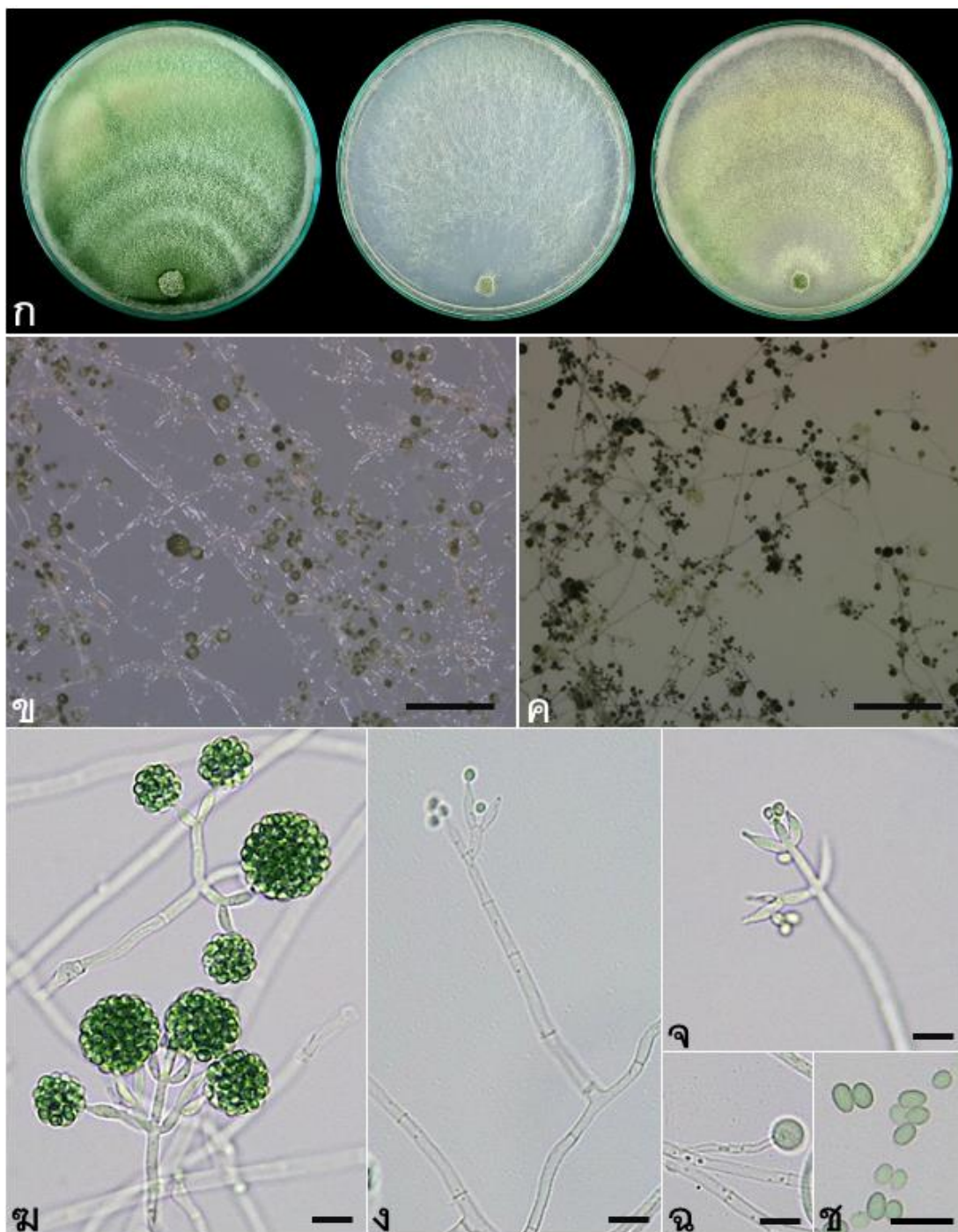
ลักษณะทางสัณฐานวิทยา: โคลนีตรงกลางสีเขียวเข้มสลับสีเขียวอ่อนเป็นวงชั้น โคนิดิโอฟอร์ถูกสร้างขึ้นจาก aerial mycelium ไม่สร้างรงควัตถุและกลั่นบนอาหารเลี้ยงเชื้อ มีรูปแบบการแตกแขนงของโคนิดิโอฟอร์แบบ Gliocladium-type หรือ Verticillium-type สร้างไฟอะไลด์รูปร่างแบบ ampulliform ขนาด (7.5–)9.7–11.1(–16.0) x (1.9–)2.4–2.8(–3.3) ไมโครเมตร สร้างโคนิเดียสีเขียว รูปร่างแบบ ellipsoidal ขนาด (2.5–)2.8–3.0(–3.6) x (3.6–)3.8–4.3(–5.0) ไมโครเมตร คลาไมโดสปอร์รูปร่างแบบ subglobose จนถึง globose

แหล่งที่พบ: ดิน

จังหวัดที่เก็บตัวอย่าง: ภูเก็ต

ไอโซเลตที่แยกได้: TriPhk 2-2

TriPhk 2-2: เป็นตัวแทนในการแสดงรายละเอียดของลักษณะทางสัณฐานวิทยา (ภาพที่ 32)



ภาพที่ 32 *Trichoderma* sp. ไอโซเลต TriPhk 2-2 (ก) ลักษณะโคโลนีอายุ 7 วัน ที่อุณหภูมิห้อง (ซ้าอาหาร PDA กลางอาหาร SNA และขวาอาหาร CMD) (ข และ ค) wet conidial heads บนอาหาร SNA (ง-จ) โคนิดิ โอฟอร์และไฟอะไลด์ (ฉ) คลาไมโดสปอร์ (ช) โคนิดิเย (สเกลบาร์ภาพ ข และ ค = 1 มิลลิเมตร ง-ช = 10 ไมโครเมตร)

25. *Trichoderma* sp.

Clade: Harzianum

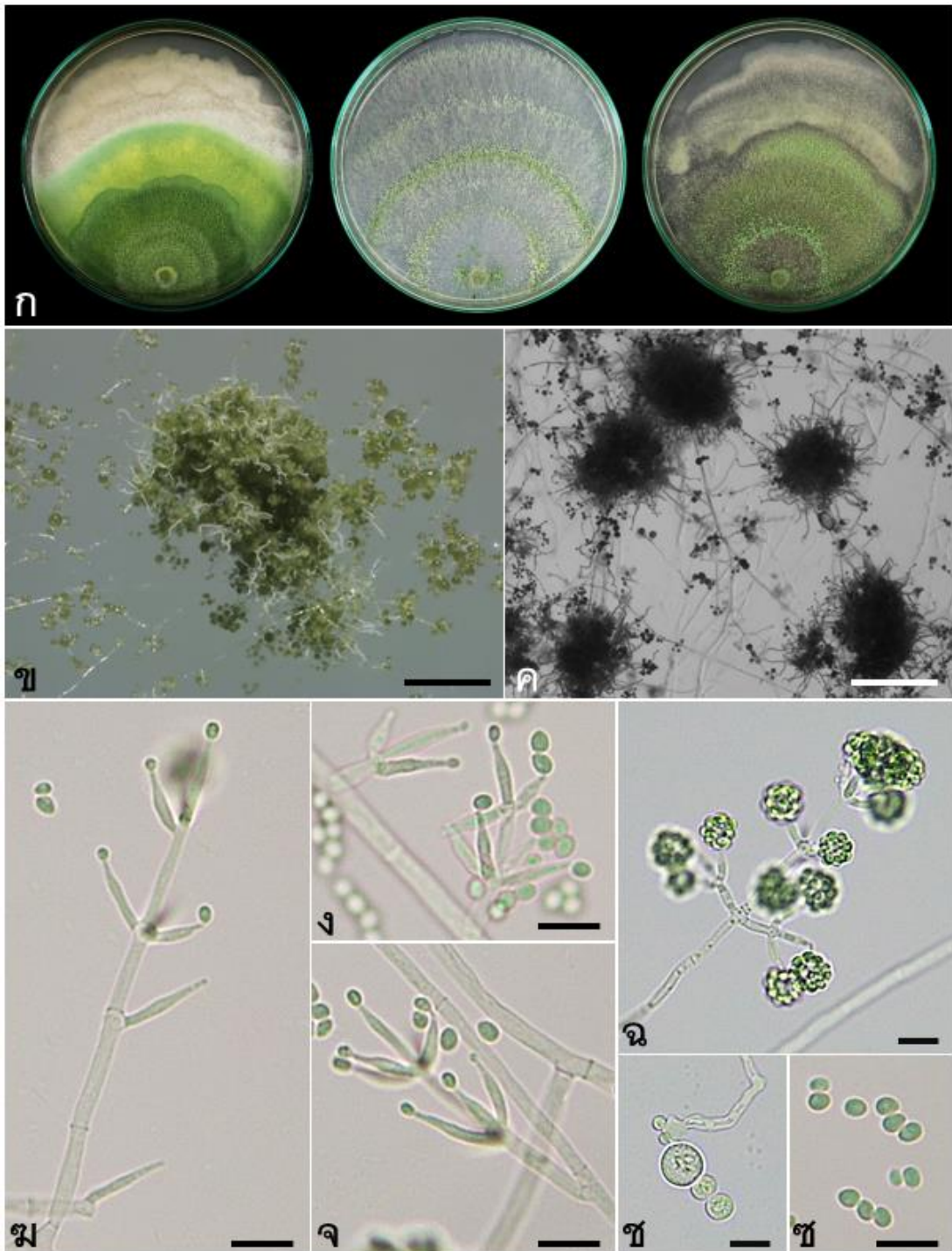
ลักษณะทางสัณฐานวิทยา: โคนิเดียมตรงกลางสีเขียวเข้มสลับสีเขียวอ่อนเหลืองเป็นวงชั้นชั้นนอกสุดสีขาว มีการรวมตัวกันของเส้นใยอย่างหนาแน่นและสร้างกลุ่มโคนิเดียมลักษณะเป็น pustule จำนวนมากและพบ sterile hairs (ไม่มีแสดงในภาพ) สร้างรงควัตถุสีเหลืองและไม่สร้างกลีบบนอาหาร PDA มีรูปแบบการแตกแขนงของโคนิเดียมแบบ Verticillium-type สร้างไฟอะไลด์รูปร่างแบบ lageniform ขนาด $(9.0-11.4-13.2(-18.7) \times (1.5-2.0-2.6(-3.5)$ ไมโครเมตร สร้างโคนิเดียมสีเขียว รูปร่างแบบ subglobose ขนาด $(2.5-2.8-3.1(-3.7) \times (3.3-3.7-4.0(-4.2)$ ไมโครเมตร คลาไมโดสปอร์รูปร่างแบบ subglobose จนถึง globose

แหล่งที่พบ: ดิน

จังหวัดที่เก็บตัวอย่าง: ตราชู และพังงา

ไอโซเลตที่แยกได้: TriPN 2-1, TriPN 2-2, TriPN 3-1 และ TriTrG 3-9

TriPN 2-2: เป็นตัวแทนในการแสดงรายละเอียดของลักษณะทางสัณฐานวิทยา (ภาพที่ 33)



ภาพที่ 33 *Trichoderma* sp. ไอโซเลต TriPN 2-2 (ก) ลักษณะโคโลนีอายุ 7 วัน ที่อุณหภูมิห้อง (ซ้าอาหาร PDA กลางอาหาร SNA และขวาอาหาร CMD) (ข และ ค) conidial pustules บนอาหาร SNA (ง-ฉ) โคินิดิโอฟอร์และไฟอะไลด์ (ช) คลาไมโดสปอร์ (ฌ) โคินิดิเีย (สเกลบาร์ภาพ ข และ ค = 1 มิลลิเมตร ฌ-ซ = 10 ไมโครเมตร)

26. *Trichoderma* sp.

Clade: Harzianum

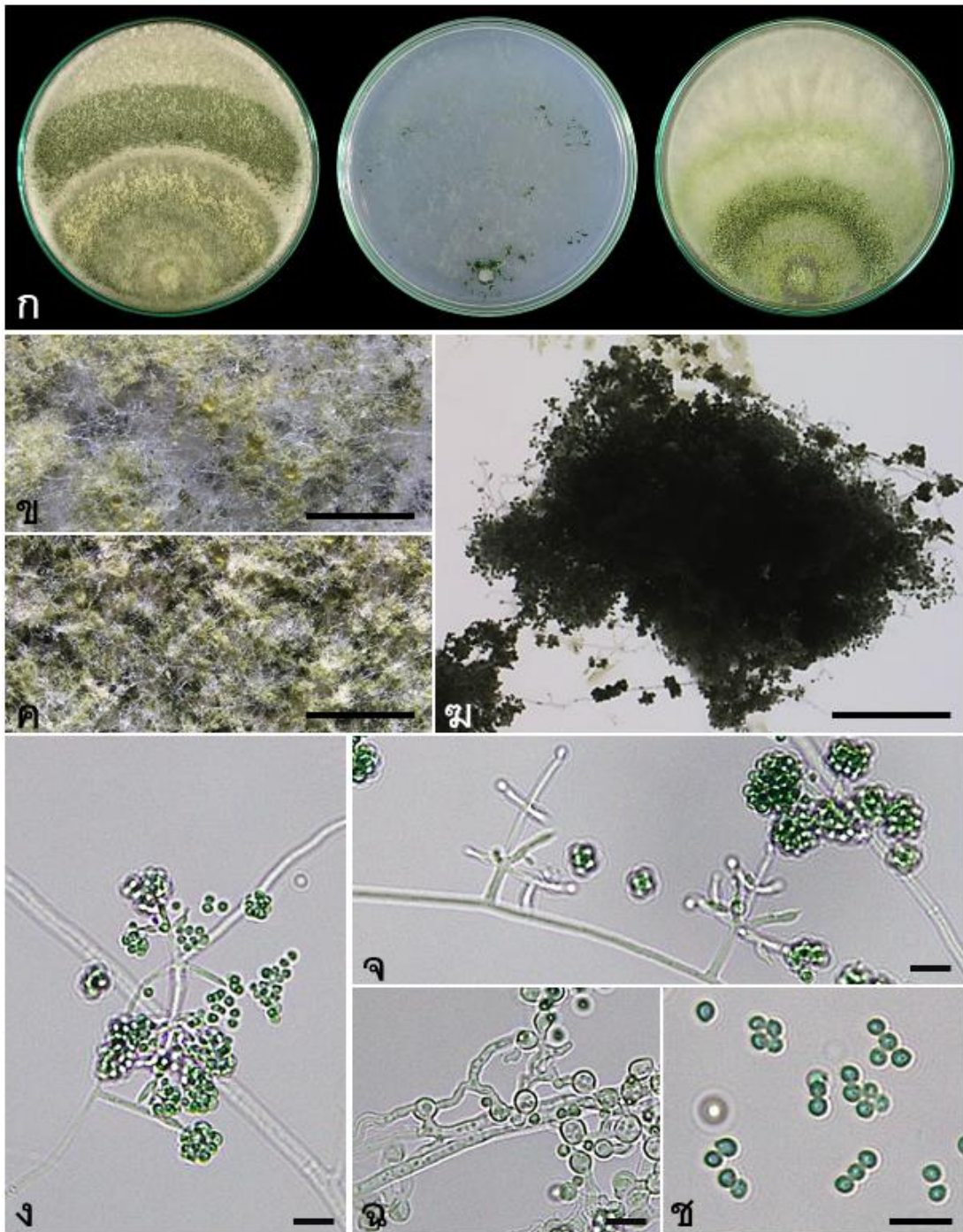
ลักษณะทางสัณฐานวิทยา: โคลินีเป็นวงชั้นสีเขียวมเทาสดับเหลืองอ่อน มีการรวมตัวกันของเส้นใยอย่างหนาแน่นและสร้างกลุ่มโคนิเดียลักษณะเป็น pustule จำนวนมากอยู่เหนืออาหารเลี้ยงเชื้อ ไม่สร้างรงควัตถุและกลิ่นบนอาหารเลี้ยงเชื้อ มีรูปแบบการแตกแขนงของโคนิดิโอฟอร์แบบ Pyramidal-type สร้างไฟอะไลด์รูปร่างแบบ ampulliform ขนาด $(5.6-7.5-8.1(-12.0) \times (2.1-2.3-2.8(-3.4))$ ไมโครเมตร สร้างโคนิเดียสีเขียว รูปร่างแบบ globose จนถึง subglobose ขนาด $(2.9-3.1-3.2(-3.5) \times (3.0-3.3-3.6(-3.8))$ ไมโครเมตร คลาไมโดสปอร์รูปร่างแบบ subglobose

แหล่งที่พบ: ดิน

จังหวัดที่เก็บตัวอย่าง: พังงา

ไอโซเลตที่แยกได้: TriPN 4-2 และ TriPN 4-3

TriPN 4-2: เป็นตัวแทนในการแสดงรายละเอียดของลักษณะทางสัณฐานวิทยา (ภาพที่ 34)



ภาพที่ 34 *Trichoderma* sp. ไอโซเลต TriPN 4-2 (ก) ลักษณะโคโลนีอายุ 7 วัน ที่อุณหภูมิห้อง (ซ้าอาหาร PDA กลางอาหาร SNA และขวาอาหาร CMD) (ข และ ค) conidiation tufts บนอาหาร CMD (ง) conidial pustules บนอาหาร SNA (จ) โคนิดิโอฟอร์ (ฉ) โคนิดิโอฟอร์และไฟอะไลด์ (ช) คลาไมโดสปอร์ (สเกลบาร์ภาพ ข-ง = 1 มิลลิเมตร ง-ช = 10 ไมโครเมตร)

27. *Trichoderma* sp.

Clade: Harzianum

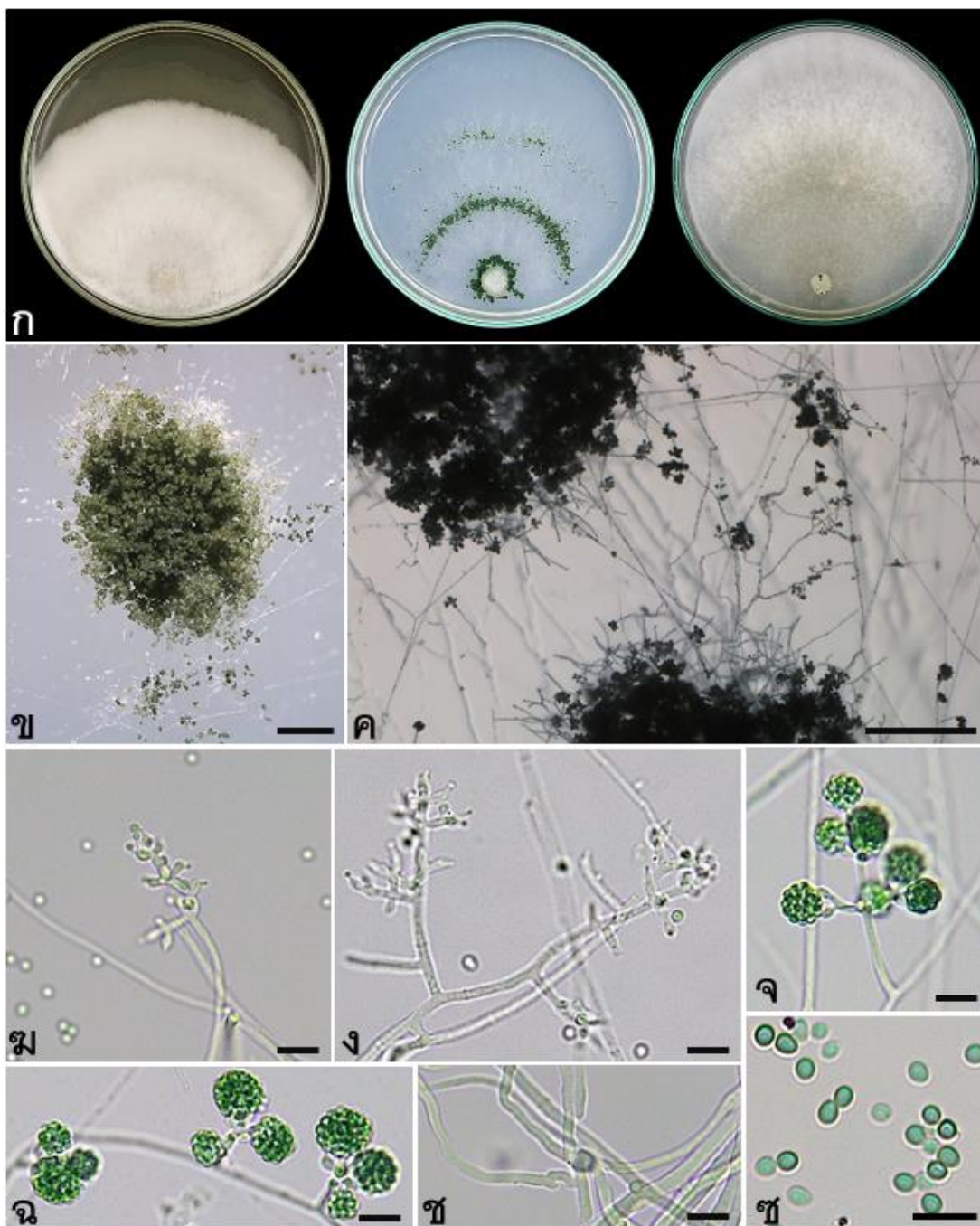
ลักษณะทางสัณฐานวิทยา: โคลนีเจริญช้าสีขาวและสร้างเส้นใยรวมกันแบบหลวม ๆ เป็นวงชั้นบริเวณรอบ ๆ inoculum มีการรวมตัวกันของเส้นใยอย่างหนาแน่นและสร้างกลุ่มโคนิเดียลักษณะเป็น pustule ไม่สร้างรงควัตถุและกลิ่นบนอาหารเลี้ยงเชื้อ มีรูปแบบการแตกแขนงของโคนิดิโอฟอร์แบบ Pyramidal-type สร้างไฟอะไลด์รูปร่างแบบ ampulliform ขนาด (4.4–)5.1–5.8(–7.0) x (2.0–)2.3–2.6(–3.0) ไมโครเมตร สร้างโคนิเดียสี่เหลี่ยมจนถึงเขี้ยวเข็ม รูปร่างแบบ globose จนถึง subglobose ขนาด (2.7–)2.9–3.0(–3.3) x (3.0–)3.2–3.3(–3.7) ไมโครเมตร คลาไมโดสปอร์รูปร่างแบบ subglobose

แหล่งที่พบ: ดิน

จังหวัดที่เก็บตัวอย่าง: พังงา

ไอโซเลตที่แยกได้: TriPN 5-7

TriPN 5-7: เป็นตัวแทนในการแสดงรายละเอียดของลักษณะทางสัณฐานวิทยา (ภาพที่ 35)



ภาพที่ 35 *Trichoderma* sp. ไอโซเลต TriPN 5-7 (ก) ลักษณะโคโลนีอายุ 7 วัน ที่อุณหภูมิห้อง (ซ้าอาหาร PDA กลางอาหาร SNA และขวาอาหาร CMD) (ข และ ค) conical pustules บนอาหาร SNA (ง และ ฉ) โคนิไดอฟอร์และไฟอะไลด์ (จ และ ฉ) โคนิไดอฟอร์ (ช) คลาไมโดสปอร์ (ซ) โคนิเดี่ย (สเกลบาร์ภาพ ข และ ค = 1 มิลลิเมตร ง-ซ = 10 ไมโครเมตร)

28. *Trichoderma* sp.

Clade: Harzianum

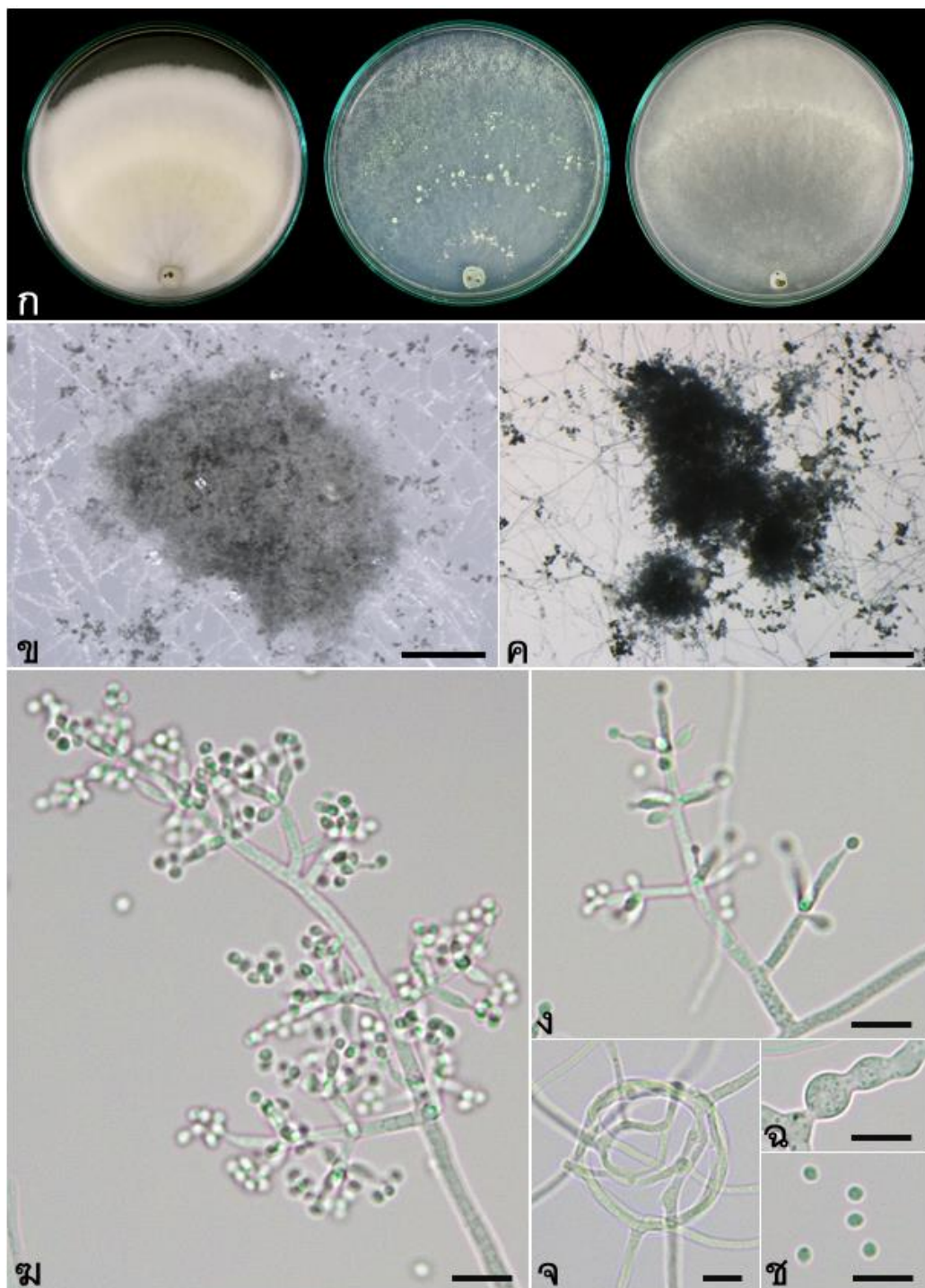
ลักษณะทางสัณฐานวิทยา: โคนิเดียมสีขาวเหลืองอ่อนเส้นใยมีลักษณะฟูเหมือนปุยฝ้ายเป็นวงชั้น มีการรวมตัวกันของเส้นใยอย่างหนาแน่นและสร้างกลุ่มโคนิเดียมลักษณะเป็น pustule ไม่สร้างรงควัตถุและกลั่นบนอาหารเลี้ยงเชื้อ มีรูปแบบการแตกแขนงของโคนิเดียมโอฟอร์แบบ Pachybasium-type สร้างไฟอะไลด์มากกว่า 4 ไฟอะไลด์ ขึ้นไปเป็นวง โดยไฟอะไลด์รูปร่างแบบ ampulliform ขนาด (4.0–)5.5–6.7(–10.0) x (1.3–)1.9–2.3(–3.0) ไมโครเมตร โคนิเดียมสีเขียว รูปร่างแบบ globose จนถึง subglobose ขนาด (2.4–)2.5–2.7(–2.9) x (2.6–)2.8–3.0(–3.5) ไมโครเมตร คลาไมโดสปอร์รูปร่างแบบ subglobose

แหล่งที่พบ: ดิน

จังหวัดที่เก็บตัวอย่าง: พัทลุง

ไอโซเลตที่แยกได้: TriPtL 1-1

TriPtL 1-1: เป็นตัวแทนในการแสดงรายละเอียดของลักษณะทางสัณฐานวิทยา (ภาพที่ 36)



ภาพที่ 36 *Trichoderma* sp. ไอโซเลต TriPtL 1-1 (ก) ลักษณะโคโลนีอายุ 7 วัน ที่อุณหภูมิห้อง (ซ้ายอาหาร PDA กลางอาหาร SNA และขวาอาหาร CMD) (ข และ ค) conidial pustules บนอาหาร SNA (ง และ ฉ) โคนิโอฟอร์และไฟอะไลด์ (จ) เส้นใยที่ขดเป็นวงกลม (ฉ) คลาไมโตสปอร์ (ช) โคนิเดีย (สเกลบาร์ภาพ ข และ ค = 1 มิลลิเมตร ฉ-ซ = 10 ไมโครเมตร)

29. *Trichoderma* sp.

Clade: Harzianum

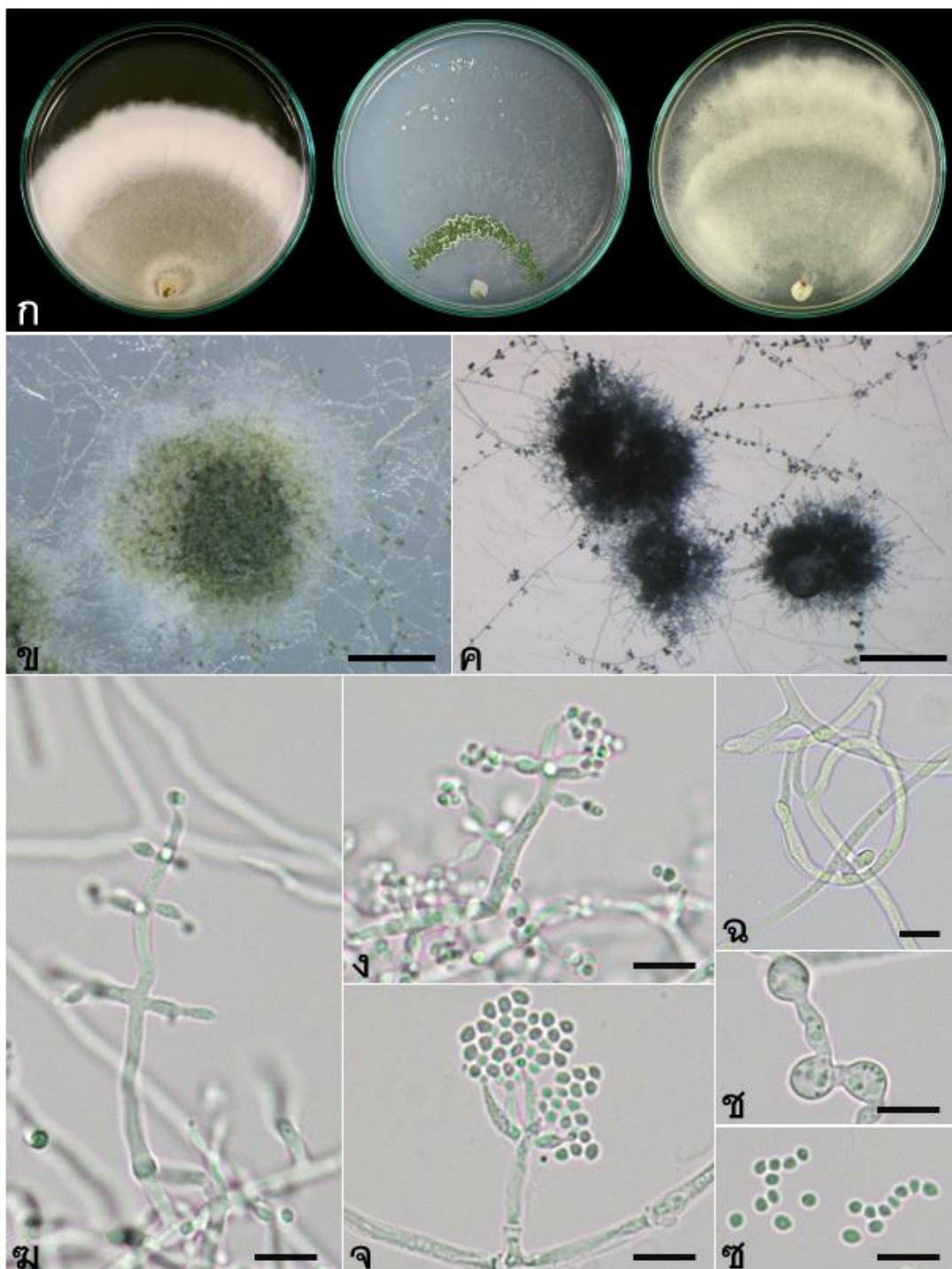
ลักษณะทางสัณฐานวิทยา: โคลโคนีเจริญเข้าสู่สีขาว บริเวณรอบ ๆ inoculum สร้างเส้นใยเจริญเรียบไปกับอาหารเลี้ยงเชื้อและบริเวณขอบโคลโคนีสร้างเส้นใยจำนวนมากพู่เหนืออาหารเลี้ยงเชื้อ มีการรวมตัวกันของเส้นใยอย่างหนาแน่นและสร้างกลุ่มโคนินทรีย์ลักษณะเป็น pustule ไม่สร้างรงควัตถุและกลิ่นบนอาหารเลี้ยงเชื้อ มีรูปแบบการแตกแขนงของโคนิดิโอฟอร์แบบ Pachybasium-type สร้างฟิอะไลด์มากกว่า 4 ฟิอะไลด์ ขึ้นไปเป็นวง โดยฟิอะไลด์รูปร่างแบบ ampulliform ขนาด (4.6–)5.3–6.6(–11.0) x (2.0–)2.3–2.6(–3.1) ไมโครเมตร โคนินทรีย์สีเขียว รูปร่างแบบ subglobose ขนาด (2.5–)2.6–2.7(–2.9) x (2.8–)2.9–3.1(–3.8) ไมโครเมตร คลาไมโดสปอร์รูปร่างแบบ subglobose

แหล่งที่พบ: ดิน

จังหวัดที่เก็บตัวอย่าง: พัทลุง

ไอโซเลตที่แยกได้: TriPtL 1-4

TriPtL 1-4: เป็นตัวแทนในการแสดงรายละเอียดของลักษณะทางสัณฐานวิทยา (ภาพที่ 37)



ภาพที่ 37 *Trichoderma* sp. ไฮโซเลต TriPtL 1-4 (ก) ลักษณะโคโลนีอายุ 7 วัน ที่อุณหภูมิห้อง (ซ้าอาหาร PDA กลางอาหาร SNA และซวาอาหาร CMD) (ข และ ค) conical pustules บนอาหาร SNA (ง-จ) โคนินดิโอฟอร์และไฟอะไลด์ (ฉ) เส้นใยที่ซดเป็นวงกลม (ช) คลาไมโดสปอร์ (ซ) โคนินเดีย (สเกลบาร์ภาพ ข และ ค = 1 มิลลิเมตร ง-ซ = 10 ไมโครเมตร)

30. *Trichoderma* sp.

Clade: Harzianum

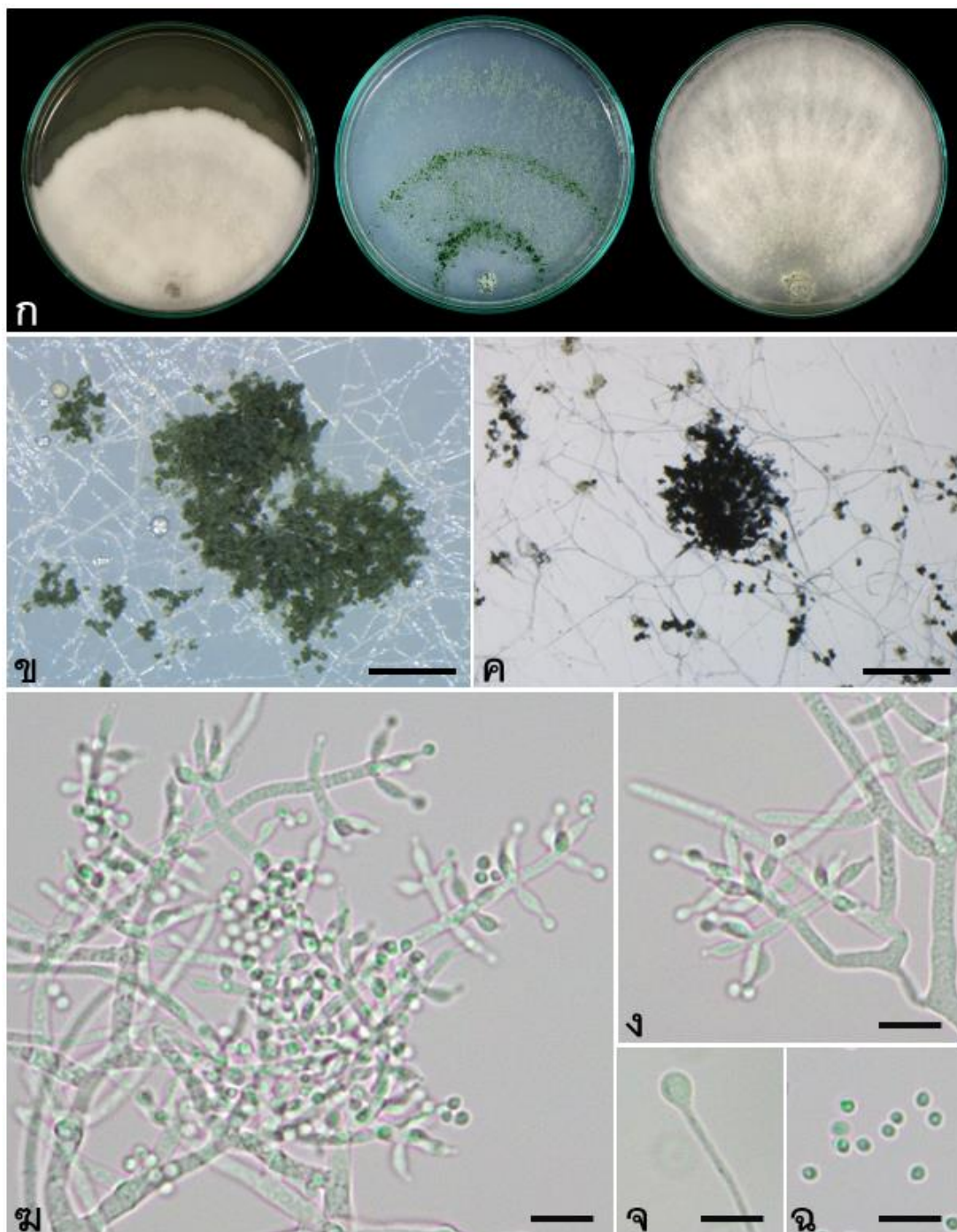
ลักษณะทางสัณฐานวิทยา: โคนินี้เจริญเข้าสีขาว สร้างเส้นใยจำนวนมากฟูเหนืออาหารเลี้ยงเชื้อ เป็นวงชั้น มีการรวมตัวกันของเส้นใยอย่างหนาแน่นและสร้างกลุ่มโคนินี้เดี่ยวลักษณะเป็น pustule บริเวณ inoculum ไม่สร้างรงควัตถุและกลิ่นบนอาหารเลี้ยงเชื้อ มีรูปแบบการแตกแขนงของ โคนินี้ดิโอฟอร์แบบ Pachybasium-type สร้างไฟอะไลต์มากกว่า 4 ไฟอะไลต์ ขึ้นไปเป็นวง โดยไฟอะไลต์รูปร่างแบบ ampulliform ขนาด (5.2-)5.9-6.4(-8.1) x (2.3-)2.4-2.6(-2.8) ไมโครเมตร โคนินี้เดี่ยวสีเขียว รูปร่างแบบ subglobose ขนาด (2.3-)2.5-2.6(-2.9) x (2.3-)2.5-2.9(-3.4) ไมโครเมตร คลาไมโดสปอร์รูปร่างแบบ subglobose

แหล่งที่พบ: ดิน

จังหวัดที่เก็บตัวอย่าง: พัทลุง

ไอโซเลตที่แยกได้: TriPtL 1-6

TriPtL 1-6: เป็นตัวแทนในการแสดงรายละเอียดของลักษณะทางสัณฐานวิทยา (ภาพที่ 38)



ภาพที่ 38 *Trichoderma* sp. ไอโซเลต TriPtL 1-6 (ก) ลักษณะโคโลนีอายุ 7 วัน ที่อุณหภูมิห้อง (ซ้าอาหาร PDA กลางอาหาร SNA และขวาอาหาร CMD) (ข และ ค) conical pustules บนอาหาร SNA (ง และ ฉ) โคนิโอฟอร์และไฟอะไลด์ (จ) คลาไมโตสปอร์ (ฉ) โคนิเดีย (สเกลบาร์ภาพ ข และ ค = 1 มิลลิเมตร ง-ฉ = 10 ไมโครเมตร)

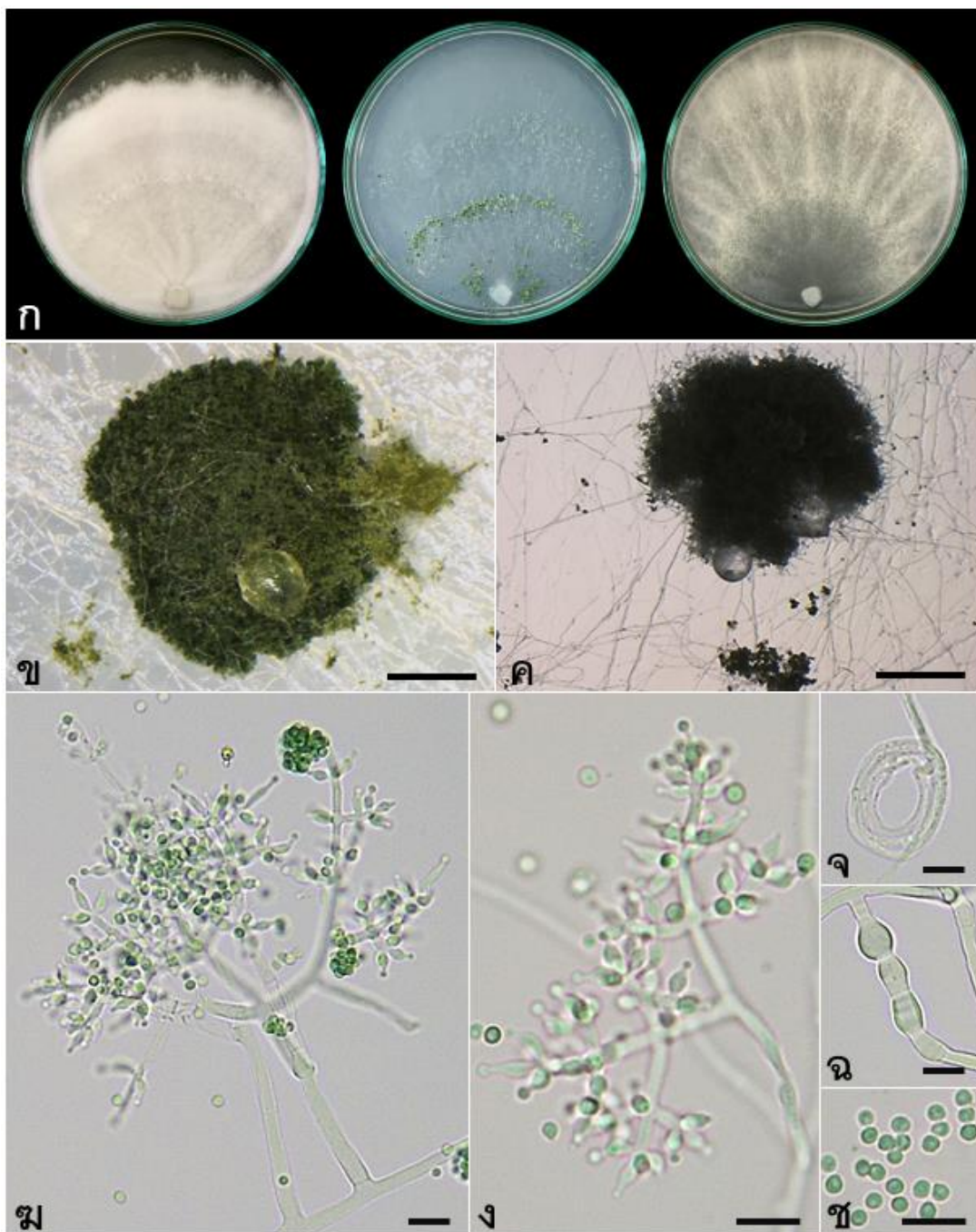
31. *Trichoderma* sp.

Clade: Harzianum

ลักษณะทางสัณฐานวิทยา: โคนินสีขาว สร้างเส้นใยจำนวนมากฟูเหนืออาหารเลี้ยงเชื้อเป็นวงชั้น มีการรวมตัวกันของเส้นใยอย่างหนาแน่นและสร้างกลุ่มโคนินเดี่ยวลักษณะเป็น pustule ไม่สร้างรงควัตถุและกลิ่นบนอาหารเลี้ยงเชื้อ มีรูปแบบการแตกแขนงของโคนินดิโอฟอร์แบบ Pachybasium-type สร้างไฟอะไลต์มากกว่า 4 ไฟอะไลต์ ขึ้นไปเป็นวง โดยไฟอะไลต์รูปร่างแบบ ampulliform ขนาด $(4.1-5.9-6.6(-11.0) \times (2.5-2.7-3.0(-3.5))$ ไมโครเมตร โคนินเดี่ยวสีเขียว รูปร่างแบบ subglobose จนถึง globose ขนาด $(3.1-3.2-3.3(-3.4) \times (3.3-3.4-3.5(-4.1))$ ไมโครเมตร คลาไมโดสปอร์รูปร่างแบบ subglobose

แหล่งที่พบ: ดิน**จังหวัดที่เก็บตัวอย่าง:** ปัตตานี**ไอโซเลตที่แยกได้:** TriPtn 1-3, TriPtn 1-6 และ TriPtn 1-12

TriPtn 1-3: เป็นตัวแทนในการแสดงรายละเอียดของลักษณะทางสัณฐานวิทยา (ภาพที่ 39)



ภาพที่ 39 *Trichoderma* sp. ไอโซเลต TriPt 1-3 (ก) ลักษณะโคโคนีอายุ 7 วัน ที่อุณหภูมิห้อง (ซ้าอาหาร PDA กลางอาหาร SNA และขวาอาหาร CMD) (ข และ ค) conical pustules บนอาหาร SNA (ง และ ฉ) โคนิโอฟอร์และไฟอะไลด์ (จ) เส้นใยที่ขดเป็นวงกลม (ฉ) คลาไมโดสปอร์ (ช) โคนิเดีย (สเกลบาร์ภาพ ข และ ค = 1 มิลลิเมตร ง-ช = 10 ไมโครเมตร)

32. *Trichoderma* sp.

Clade: Harzianum

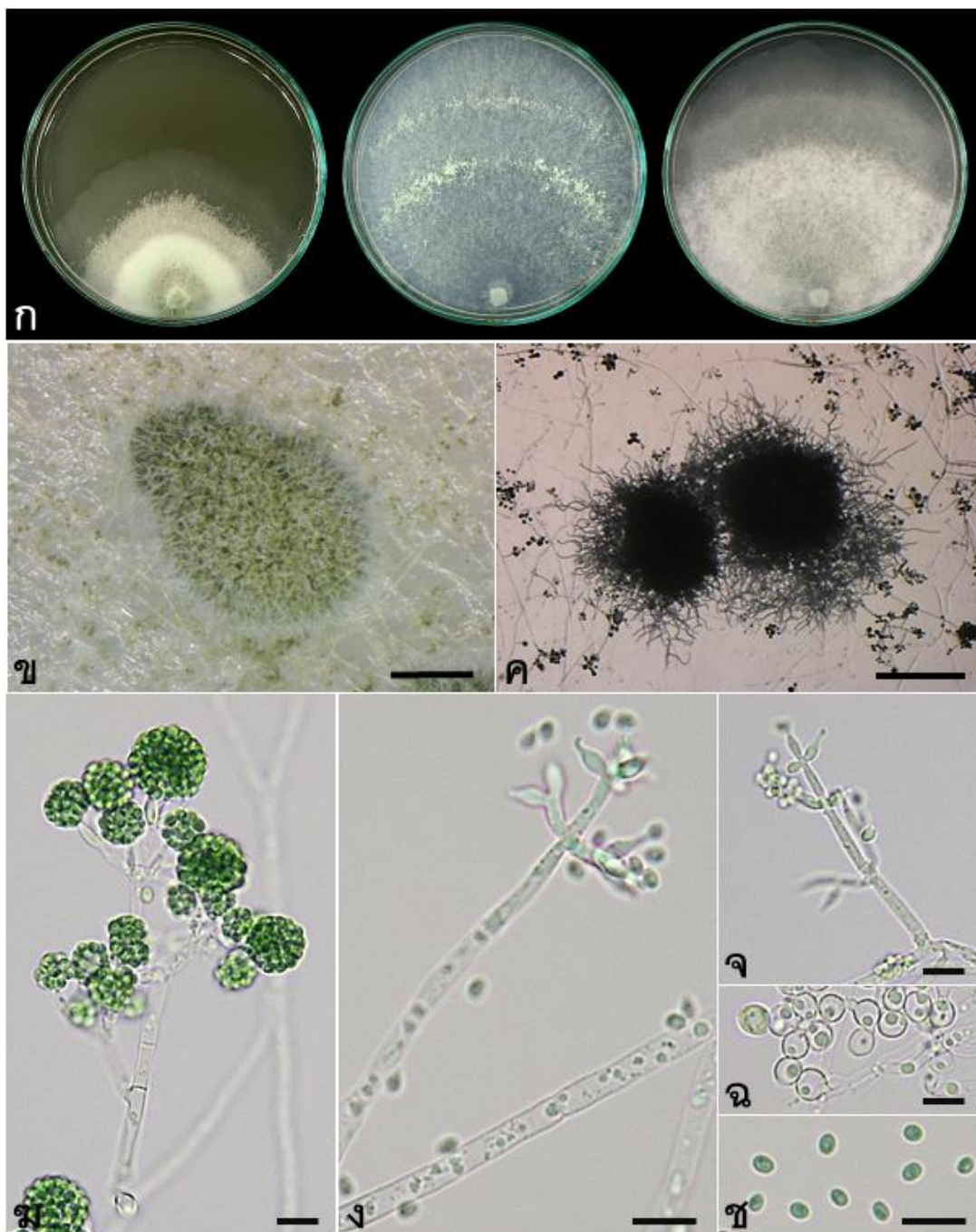
ลักษณะทางสัณฐานวิทยา: โคลนนี้เจริญช้า สีเขียวมันสร้างเส้นใยฟูบริเวณรอบ ๆ inoculum เป็นวงชั้น ขอบโคลนนี้สร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหารเลี้ยงเชื้อ มีการรวมตัวกันของเส้นใยอย่างหนาแน่น และสร้างกลุ่มโคนินเดียลักษณะเป็น pustule และพบ sterile hairs (ไม่มีแสดงในภาพ) ไม่สร้างรงควัตถุและกลั่นบนอาหารเลี้ยงเชื้อ มีรูปแบบการแตกแขนงของโคนินดิโอฟอร์แบบ Verticillium-type และ Pachybasium-type สร้างโพะไลด์รูปร่างแบบ ampulliform ขนาด (8.1–)10.2–11.3 (–15.4) x (2.2–)2.7–2.9(–3.5) ไมโครเมตร สร้างโคนินเดียสีเขียว รูปร่างแบบ ellipsoidal ขนาด (3.0–)3.1–3.4(–4.0) x (3.4–)3.7–4.1(–5.0) ไมโครเมตร คลาไมโดสปอร์รูปร่างแบบ subglobose จนถึง globose

แหล่งที่พบ: ดิน

จังหวัดที่เก็บตัวอย่าง: ปัตตานี

ไอโซเลตที่แยกได้: TriPtn 1-8 และ TriPtn 1-10

TriPtn 1-8: เป็นตัวแทนในการแสดงรายละเอียดของลักษณะทางสัณฐานวิทยา (ภาพที่ 40)



ภาพที่ 40 *Trichoderma* sp. ไอโซเลต TriPtn 1-8 (ก) ลักษณะโคโลนีอายุ 7 วัน ที่อุณหภูมิห้อง (ซ้าอาหาร PDA กลางอาหาร SNA และขวอาหาร CMD) (ข และ ค) conidial pustules บนอาหาร SNA (ข) โคินดิโอพอร์ (ง และ จ) โคินดิโอพอร์และไฟอะไลต์ (ฉ) คลาไมโดสปอร์ (ช) โคินเดีย (สเกลบาร์ภาพ ข และ ค = 1 มิลลิเมตร ซ-ซ = 10 ไมโครเมตร)

33. *Trichoderma* sp.

Clade: Strictipile

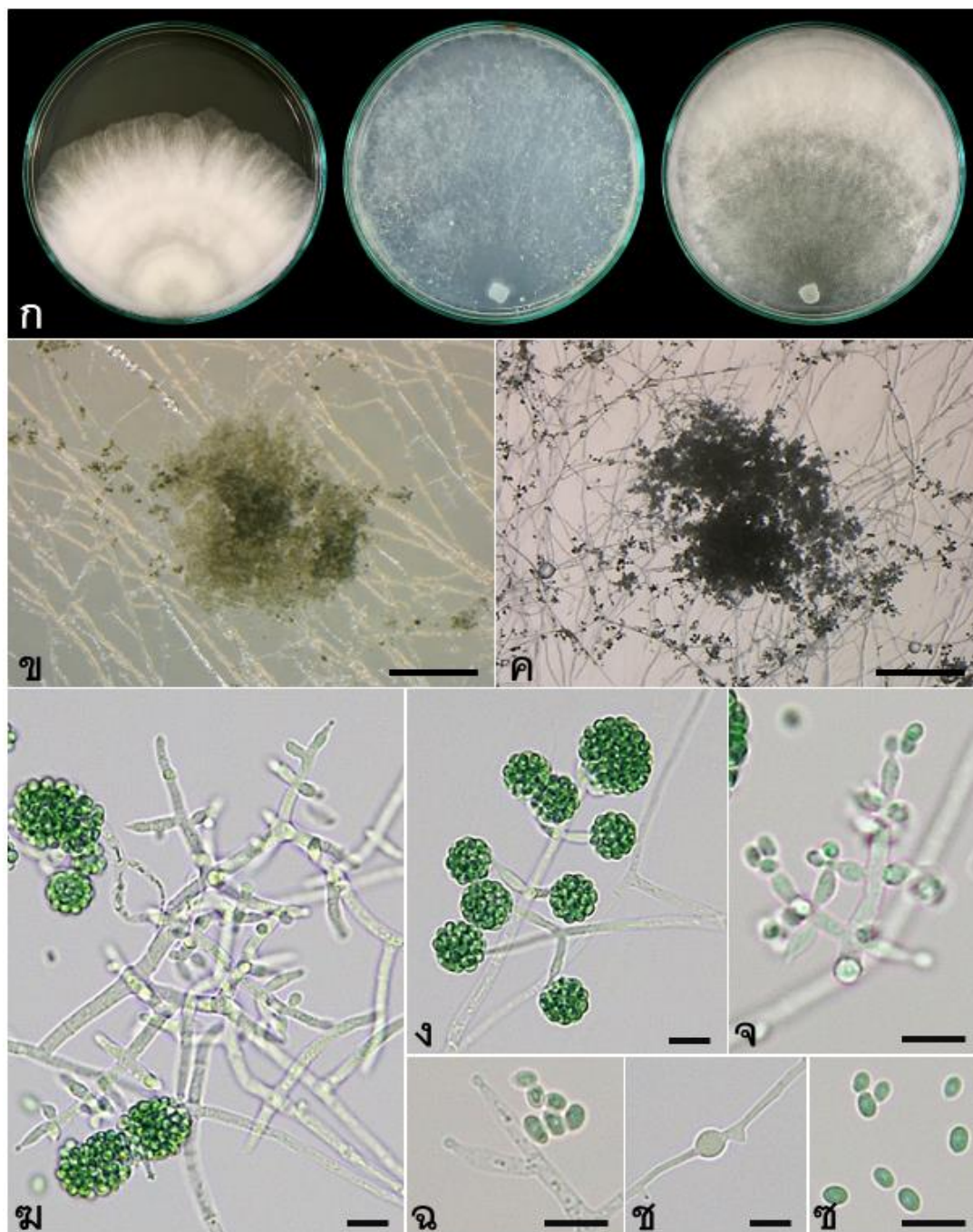
ลักษณะทางสัณฐานวิทยา: โคลนนี้เจริญช้า สีขาวและเส้นใยรวมกันแบบหลวม ๆ เป็นวงชั้น ขอบโคลนนี้มีลักษณะเป็นแฉกคล้ายกลีบดอกไม้ ไม่สร้างรงควัตถุบนอาหาร PDA และ CMD ไม่สร้างกลิ่นบนอาหารเลี้ยงเชื้อ มีรูปแบบการแตกแขนงของโคนิไดอฟอร์แบบ *Pachybasium*-type หรือ *Verticillium*-type และพบ sterile hairs (ไม่มีแสดงในภาพ) บริเวณส่วนปลายของก้านโคนิไดอฟอร์ สร้างไฟอะไลด์รูปร่างแบบ ampulliform หรือ lageniform ขนาด (7.1–)9.2–11.6 (–15.1) × (2.7–)2.9–3.2(–3.6) ไมโครเมตร สร้างโคนิเดียสีเขียวยู รูปร่างแบบ oblong จนถึง ellipsoidal ขนาด (3.2–)3.4–3.6(–3.8) × (4.2–)4.6–4.8(–5.1) ไมโครเมตร คลาไมโดสปอร์รูปร่างแบบ globose จนถึง subglobose

แหล่งที่พบ: ดิน

จังหวัดที่เก็บตัวอย่าง: ปัตตานี

ไอโซเลตที่แยกได้: TriPtn 1-2 และ TriPtn 1-13

TriPtn 1-2: เป็นตัวแทนในการแสดงรายละเอียดของลักษณะทางสัณฐานวิทยา (ภาพที่ 41)



ภาพที่ 41 *Trichoderma* sp. ไฮโซเลต TriPtN 1-2 (ก) ลักษณะโคโคนีอายุ 7 วัน ที่อุณหภูมิห้อง (ซ้าอาหาร PDA กลางอาหาร SNA และซวาอาหาร CMD) (ข และ ค) conical pustules บนอาหาร SNA (ง-ฉ) โคโคนีโอฟอร์และไฟอะไลด์ (ช) คลาไมโดสปอร์ (ซ) โคโคนีเดี่ยว (สเกลบาร์ภาพ ข และ ค = 1 มิลลิเมตร ง-ซ = 10 ไมโครเมตร)

34. *Trichoderma* sp.

Clade: Strictipile

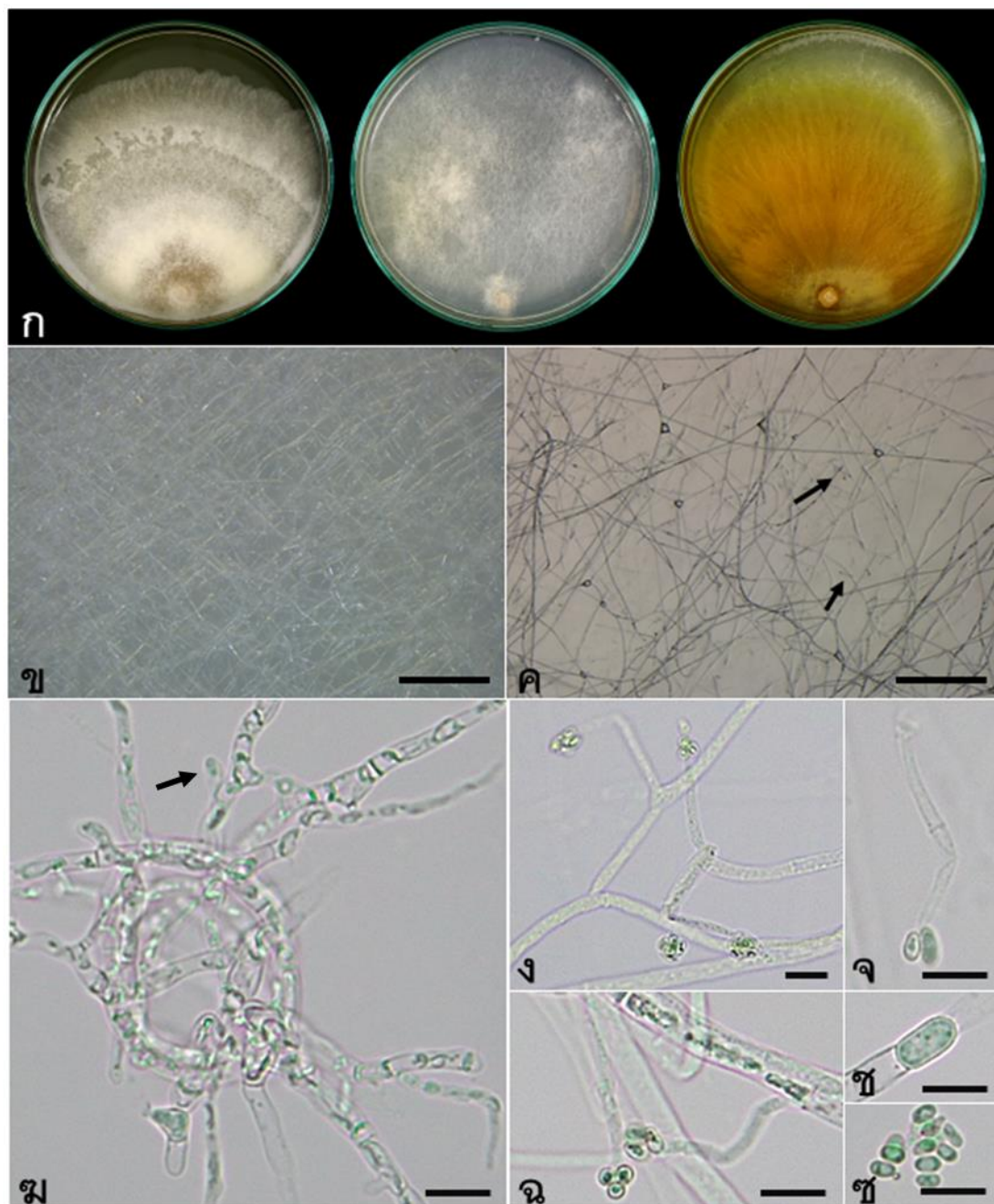
ลักษณะทางสัณฐานวิทยา: โคนิสีสีขาวและเส้นใยรวมกันแบบหลวม ๆ เป็นวงชั้น ขอบโคนิสีมีเส้นใยเจริญเรียบไปกับอาหารเลี้ยงเชื้อ สร้างรงควัตถุสีเหลืองเข้มจนถึงส้มบนอาหาร PDA และ CMD ไม่สร้างกลิ่นบนอาหารเลี้ยงเชื้อ มีรูปแบบการแตกแขนงของโคนิดีโอฟอร์แบบ Acremonium-type สร้างไฟอะไลด์รูปร่างแบบ lageniform ขนาด (12.1–)14.8–16.6(–19.3) x (2.0–)2.4–2.6(–3.5) ไมโครเมตร และพบ aphanophialides สร้างโคนิเดียสีเขียว รูปร่างแบบ ellipsoidal ขนาด (2.5–)2.7–3.0(–3.5) x (3.8–)4.4–4.7(–5.6) ไมโครเมตร พบคลาโมโดสปอร์บนอาหาร CMD

แหล่งที่พบ: ดิน

จังหวัดที่เก็บตัวอย่าง: สตูล

ไอโซเลตที่แยกได้: TriSt 1-11

TriSt 1-11: เป็นตัวแทนในการแสดงรายละเอียดของลักษณะทางสัณฐานวิทยา (ภาพที่ 42)



ภาพที่ 42 *Trichoderma* sp. ไอโซเลต TriSt 1-11 (ก) ลักษณะโคโลนีอายุ 7 วัน ที่อุณหภูมิห้อง (ซ้าอาหาร PDA กลางอาหาร SNA และขวาอาหาร CMD) (ข) เส้นใยบนอาหาร SNA (ค) ลูกศรแสดงโคนิไดอ็อฟอร์บนอาหาร SNA (ง) ลูกศรแสดง aphanophialides (ง-จ) โคนิไดอ็อฟอร์และไฟอะไลด์ (ฉ) คลาไมโดสปอร์ (ช) โคนิเดี้ย (สเกลบาร์ภาพ ข และ ค = 1 มิลลิเมตร ง-ช = 10 ไมโครเมตร)

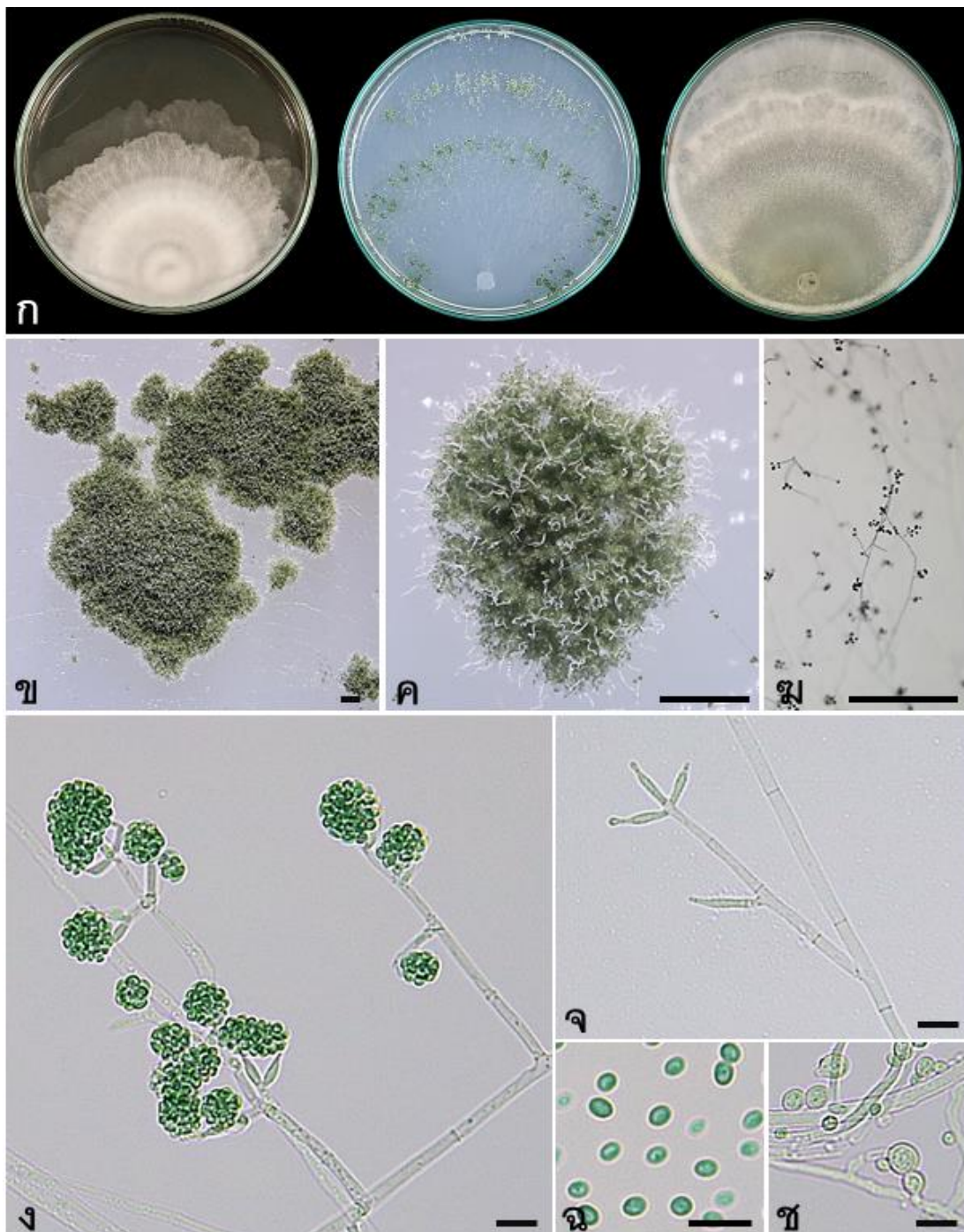
35. *Trichoderma* sp.

Clade: Strictipile

ลักษณะทางสัณฐานวิทยา: โคนิเดียมสีขาวและเส้นใยรวมกันแบบหลวม ๆ เป็นวงชั้น ขอบโคนิเดียมมีลักษณะคล้ายกลีบดอกไม้ มีการรวมตัวกันของเส้นใยอย่างหนาแน่นและสร้างกลุ่มโคนิเดียมลักษณะเป็น pustule สร้างรงควัตถุสีเหลืองอ่อนบนอาหาร PDA และ CMD ไม่สร้างกลิ่นบนอาหารเลี้ยงเชื้อ มีรูปแบบการแตกแขนงของโคนิเดียมโฟร์แบบ Verticillium-type และพบ sterile hairs เป็นแบบขดอบบริเวณส่วนปลายของก้านโคนิเดียมโฟร์ สร้างไฟอะไลด์รูปร่างแบบ ampulliform หรือ lageniform ขนาด (8.6–)9.2–11.8(–17.5) x (2.1–)2.5–2.7(–3.3) ไมโครเมตร สร้างโคนิเดียมเดี่ยว รูปร่างแบบ oblong จนถึง ellipsoidal ขนาด (2.7–)2.9–3.3(–3.6) x (4.2–)4.7–4.9(–5.6) ไมโครเมตร คลาไมโดสปอร์รูปร่างแบบ globose จนถึง subglobose

แหล่งที่พบ: ดิน**จังหวัดที่เก็บตัวอย่าง:** พังงา**ไอโซเลตที่แยกได้:** TriPN 5-1 และ TriPN 5-5

TriPN 5-1: เป็นตัวแทนในการแสดงรายละเอียดของลักษณะทางสัณฐานวิทยา (ภาพที่ 43)



ภาพที่ 43 *Trichoderma* sp. ไอโซเลต TriPN 5-1 (ก) ลักษณะโคโลนีอายุ 7 วัน ที่อุณหภูมิห้อง (ซ้ายอาหาร PDA กลางอาหาร SNA และขวาอาหาร CMD) (ข และ ค) conidial pustules และ sterile hairs บนอาหาร SNA (ฉ) โคนิดิออฟอร์บนอาหาร SNA (ง และ จ) โคนิดิออฟอร์และไฟอะไลต์ (ฉ) โคนิเดีย (ช) คลาไมโดสปอร์ (สเกลบาร์ภาพ ข-ฉ = 1 มิลลิเมตร ง-ช = 10 ไมโครเมตร)

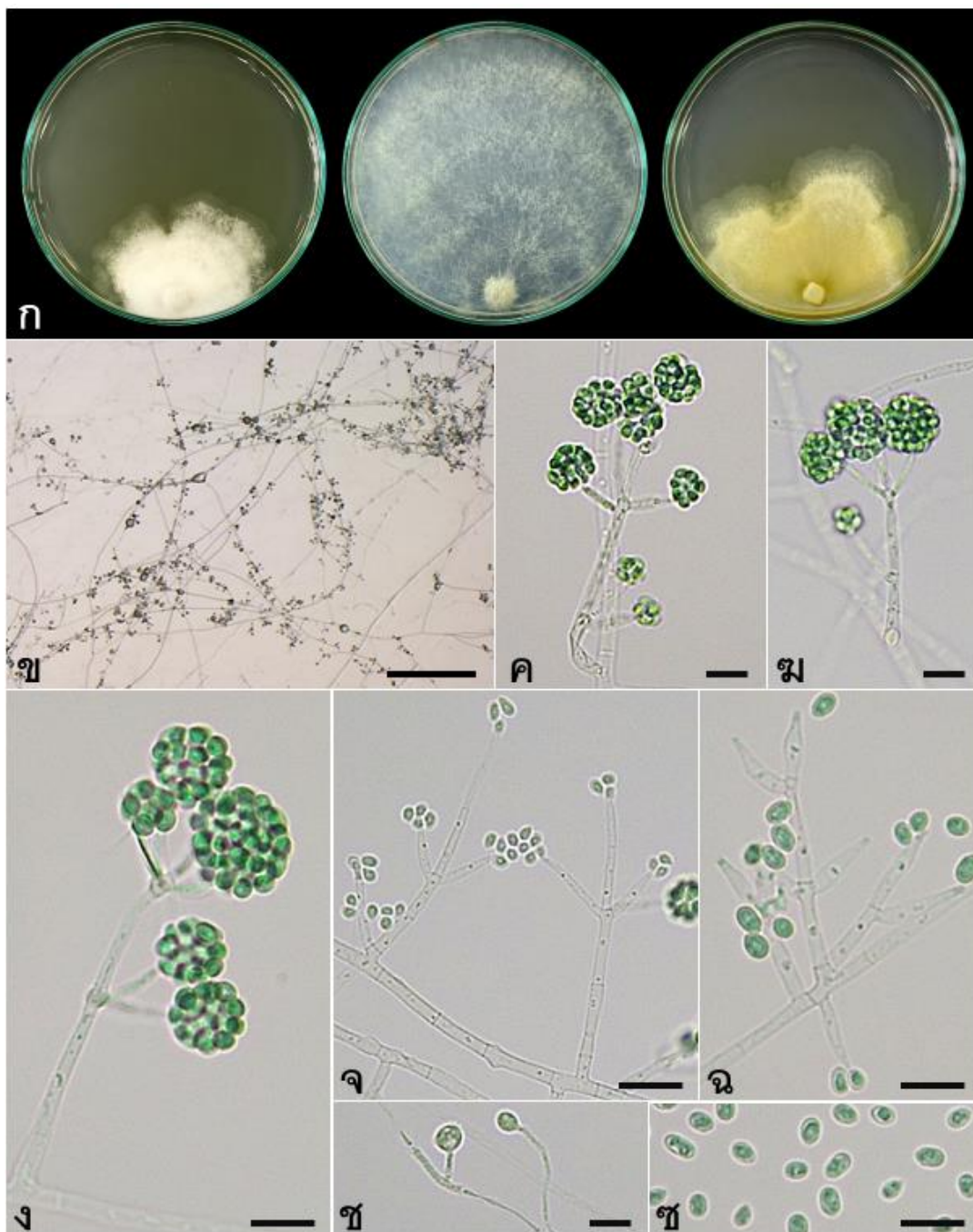
36. *Trichoderma* sp.

Clade: Strictipile

ลักษณะทางสัณฐานวิทยา: โคลนนี้เจริญช้า สีขาวและเส้นใยรวมกันแบบหลวม ๆ มีการรวมตัวกันของเส้นใยอย่างหนาแน่นและสร้างกลุ่มโคนิเดียลักษณะเป็น pustule สร้างรงควัตถุสีเหลืองบนอาหาร PDA และ CMD ไม่สร้างกลิ่นบนอาหารเลี้ยงเชื้อ มีรูปแบบการแตกแขนงของโคนิดิโอฟอร์แบบ Verticillium-type สร้างฟิอะไลด์รูปร่างแบบ lageniform ขนาด (11.3–)13.2–15.1(–23.4) x (2.2–)2.6–3.0(–4.9) ไมโครเมตร สร้างโคนิเดียสีเขียว รูปร่างแบบ oblong จนถึง ellipsoidal ขนาด (3.0–)3.3–3.5(–3.8) x (4.2–)4.4–4.8(–5.3) ไมโครเมตร คลาไมโดสปอร์รูปร่างแบบ globose จนถึง subglobose

แหล่งที่พบ: ดิน**จังหวัดที่เก็บตัวอย่าง:** ปัตตานี**ไอโซเลตที่แยกได้:** TriPtn 1-4

TriPtn 1-4: เป็นตัวแทนในการแสดงรายละเอียดของลักษณะทางสัณฐานวิทยา (ภาพที่ 44)



ภาพที่ 44 *Trichoderma* sp. ไอโซเลต TriPtn 1-4 (ก) ลักษณะโคโลนีอายุ 7 วัน ที่อุณหภูมิห้อง (ซ้ายอาหาร PDA กลางอาหาร SNA และขวาอาหาร CMD) (ข) โคนดิโอฟอร์บนอาหาร SNA (ค-ง) โคนดิโอฟอร์ (จ และ ฉ) โคนดิโอฟอร์และไฟอะไลต์ (ช) คลาไมโดสปอร์ (ซ) โคนิเดียม (สเกล-บาร์ภาพ ข = 1 มิลลิเมตร ค-ซ = 10 ไมโครเมตร)

37. *Trichoderma* sp.

Clade: Strictipile

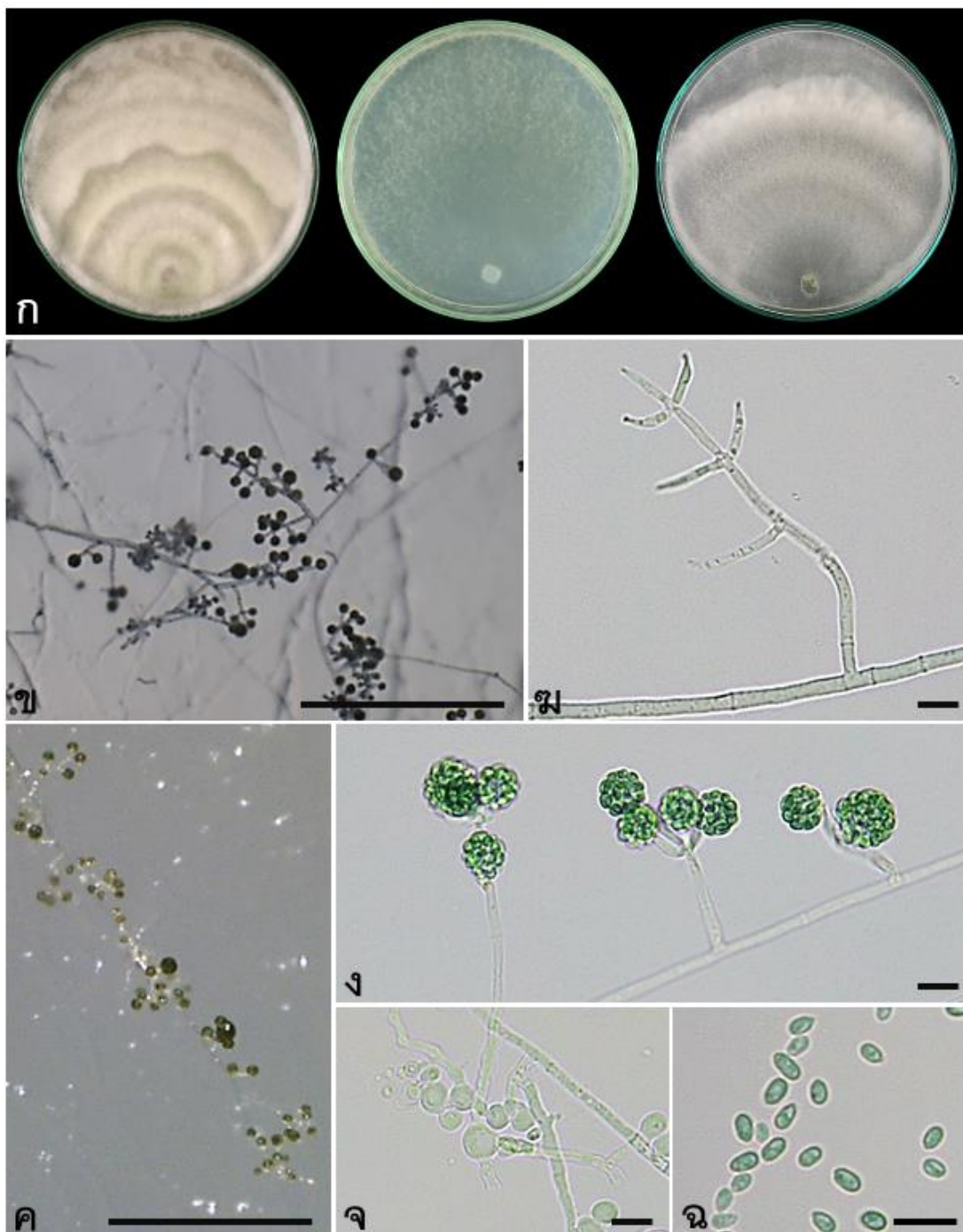
ลักษณะทางสัณฐานวิทยา: โคลนีสีขาวและเส้นใยรวมกันแบบหลวม ๆ เป็นวงชั้นรูปคลื่น สร้างรงควัตถุสีเหลืองบนอาหาร PDA ไม่สร้างกลิ่นบนอาหารเลี้ยงเชื้อ มีรูปแบบการแตกแขนงของโคนิดิโอฟอร์แบบ Verticillium-type สร้างไฟอะไลด์รูปร่างแบบ lageniform ขนาด (9.5–)11.2–12.0(–15.2) x (2.1–)2.4–2.8(–3.5) ไมโครเมตร สร้างโคนิเดียสีเขียว รูปร่างแบบ oblong ขนาด (2.9–)3.4–3.6(–4.2) x (4.5–)4.9–5.3(–5.8) ไมโครเมตร คลาไมโดสปอร์รูปร่างแบบ globose จนถึง subglobose

แหล่งที่พบ: ดิน

จังหวัดที่เก็บตัวอย่าง: สตูล

ไอโซเลตที่แยกได้: TriSt 3-3

TriSt 3-3: เป็นตัวแทนในการแสดงรายละเอียดของลักษณะทางสัณฐานวิทยา (ภาพที่ 45)



ภาพที่ 45 *Trichoderma* sp. ไอโซเลต TriSt 3-3 (ก) ลักษณะโคโลนีอายุ 7 วัน ที่อุณหภูมิห้อง (ซ้ายอาหาร PDA กลางอาหาร SNA และขวาอาหาร CMD) (ข และ ค) โคินิไดโอฟอร์บนอาหาร SNA (ง) โคินิไดโอฟอร์และไฟอะไลต์ (ง) โคินิไดโอฟอร์ (จ) คลาไมโดสปอร์ (ฉ) โคินิเดีย (สเกลบาร์ภาพ ข และ ค = 1 มิลลิเมตร ฉ-ช = 10 ไมโครเมตร)

38. *Trichoderma* sp.

Clade: Viride

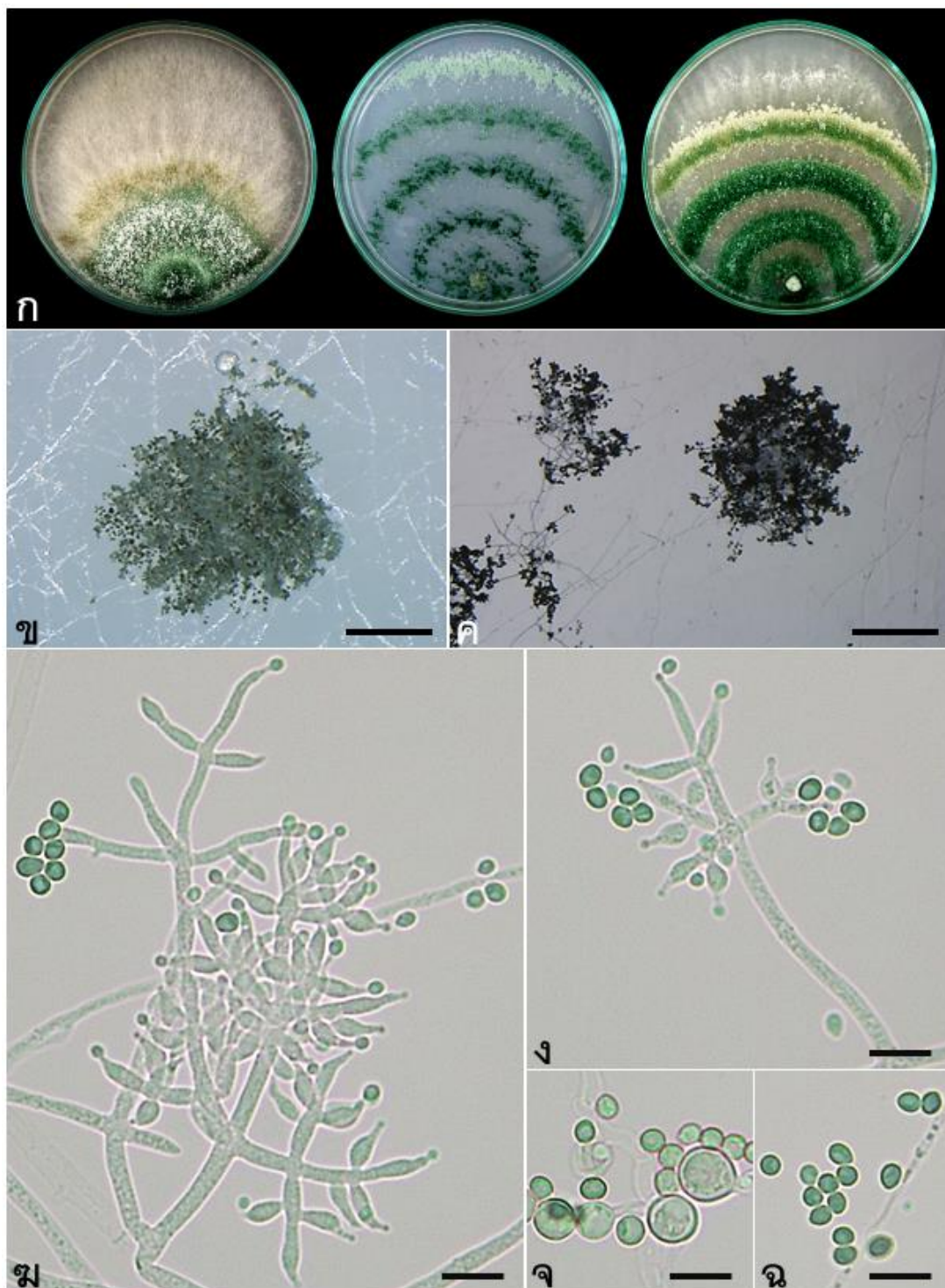
ลักษณะทางสัณฐานวิทยา: โคลนีตรงกลางสีเขียวเข้มแซมขาวสลับสีเขียวอ่อนอมเหลืองส่วนขอบโคลนีสีขาว มีการรวมตัวกันของเส้นใยอย่างหนาแน่นและสร้างกลุ่มโคนิเดียลักษณะเป็น pustule ไม่สร้างรงควัตถุนอาหารเลี้ยงเชื้อ สร้างกลิ่นคล้ายมะพร้าวบนอาหารเลี้ยงเชื้อ มีรูปแบบการแตกแขนงของโคนิดิโอฟอร์แบบ Pyramidal-type สร้างไฟอะไลด์รูปร่างแบบ ampulliform ขนาด (3.5–)6.4–7.2(–10.4) x (2.3–)2.6–3.0(–3.5) ไมโครเมตร สร้างโคนิเดียสีเขียว รูปร่างแบบ subglobose จนถึง ovoidal ขนาด (2.6–)2.8–3.0(–3.5) x (3.1–)3.2–3.4(–3.8) ไมโครเมตร คลาไมโดสปอร์รูปร่างแบบ subglobose จนถึง globose

แหล่งที่พบ: ดิน

จังหวัดที่เก็บตัวอย่าง: กระบี่ ตรัง นราธิวาส และยะลา

ไอโซเลตที่แยกได้: TriKrb 1-2, TriKrb 1-3, TriNr 1-1, TriNr 1-2, TriNr 1-3, TriNr 1-5, TriTrG 3-1, TriTrG 3-2, TriTrG 3-3, TriTrG 3-4, TriTrG 3-5, TriTrG 3-6, TriTrG 3-7, TriTrG 3-8, TriTrG 3-11 และ TriYI 1-5

TriKrb 1-3: เป็นตัวแทนในการแสดงรายละเอียดของลักษณะทางสัณฐานวิทยา (ภาพที่ 46)



ภาพที่ 46 *Trichoderma* sp. ไฮโซเลต TriKrb 1-3 (ก) ลักษณะโคโลนีอายุ 7 วัน ที่อุณหภูมิห้อง (ซ้าอาหาร PDA กลางอาหาร SNA และซวาอาหาร CMD) (ข) conidial pustules บนอาหาร SNA (ค) conidial pustules และ conidiation tufts บนอาหาร SNA (ง) โคนดิโอฟอร์และไฟอะไลด์ (จ) คลาไมโดสปอร์ (ฉ) โคนเดีย (สเกลบาร์ภาพ ข และ ค = 1 มิลลิเมตร ฉ-ฉ = 10 ไมโครเมตร)

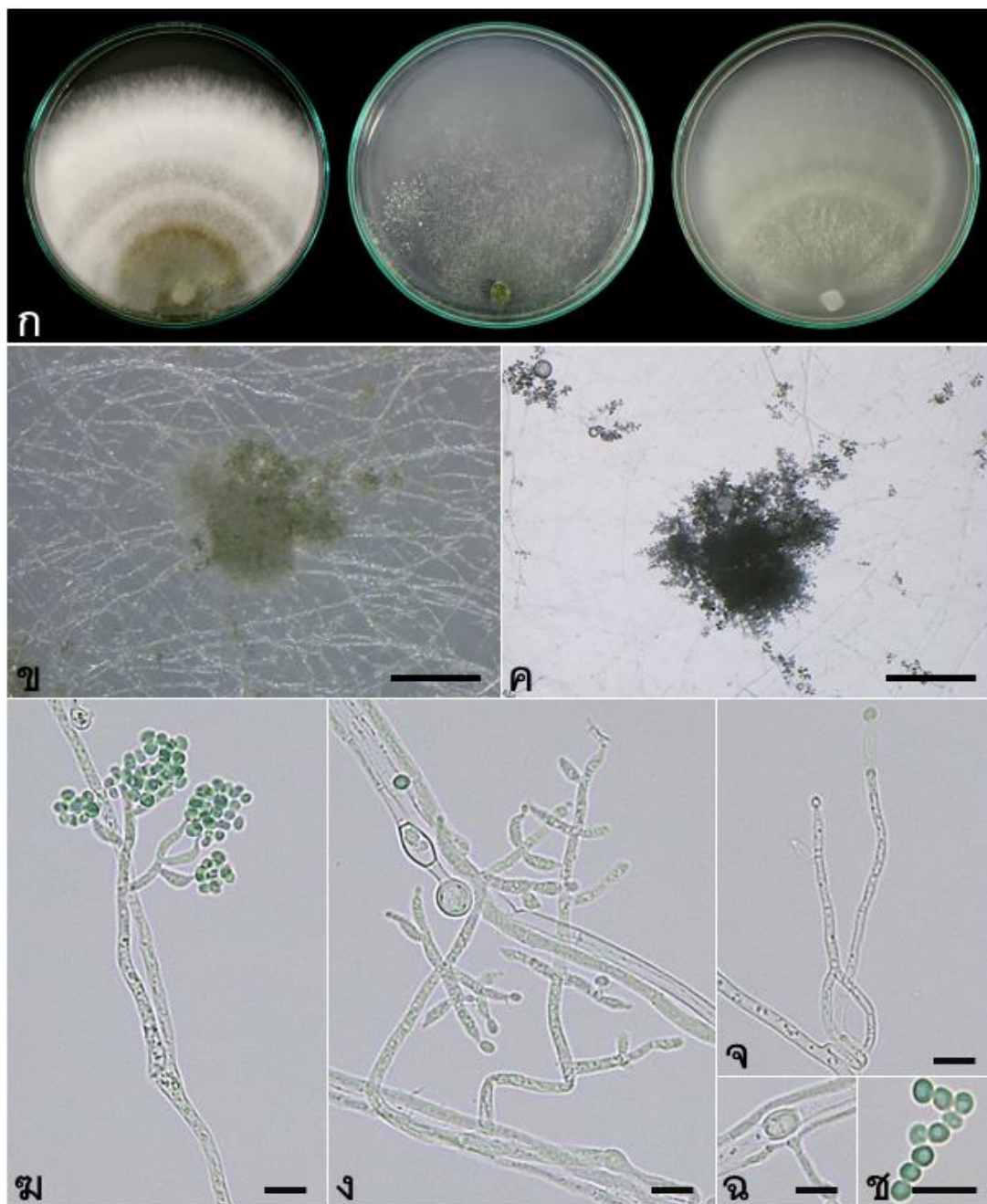
39. *Trichoderma* sp.

Clade: Viride

ลักษณะทางสัณฐานวิทยา: โคลนีสีขาว บริเวณรอบ ๆ inoculum สร้างเส้นใยเจริญเรียบไปกับอาหารเลี้ยงเชื้อเป็นวงชั้นและบริเวณขอบโคลนีส่งสร้างเส้นใยจำนวนมากพู่เหนืออาหารเลี้ยงเชื้อ มีการรวมตัวกันของเส้นใยอย่างหนาแน่นและสร้างกลุ่มโคนิเดียลักษณะเป็น pustule ไม่สร้างรงควัตถุและสร้างกลิ่นคล้ายไวน์บนอาหารเลี้ยงเชื้อ มีรูปแบบการแตกแขนงของโคนิดิโอฟอร์แบบ Pyramidal-type และ Acremonium-type ไฟอะไลด์รูปร่างแบบ ampulliform หรือ lageniform ขนาด (5.4–)6.6–8.7(–14.0) x (2.2–)2.4–2.8(–3.9) ไมโครเมตร โคนิเดียสีเขียว รูปร่างแบบ subglobose ขนาด (3.1–)3.5–3.9(–4.7) x (4.2–)4.3–4.5(–5.5) ไมโครเมตร คลาไมโดสปอร์ รูปร่างแบบ subglobose จนถึง globose

แหล่งที่พบ: ดิน**จังหวัดที่เก็บตัวอย่าง:** นราธิวาส**ไอโซเลตที่แยกได้:** TriNr 1-4

TriNr 1-4: เป็นตัวแทนในการแสดงรายละเอียดของลักษณะทางสัณฐานวิทยา (ภาพที่ 47)



ภาพที่ 47 *Trichoderma* sp. ไอโซเลต TriNr 1-4 (ก) ลักษณะโคโลนีอายุ 7 วัน ที่อุณหภูมิห้อง (ซ้าอาหาร PDA กลางอาหาร SNA และซวาอาหาร CMD) (ข และ ค) conidial pustules บนอาหาร SNA (ง-จ) โคนินดิโอฟอร์และไฟอะไลด์ (ฉ) คลาไมโดสปอร์ (ช) โคนินเดีย (สเกลบาร์ภาพ ข และ ค = 1 มิลลิเมตร ง-ช = 10 ไมโครเมตร)

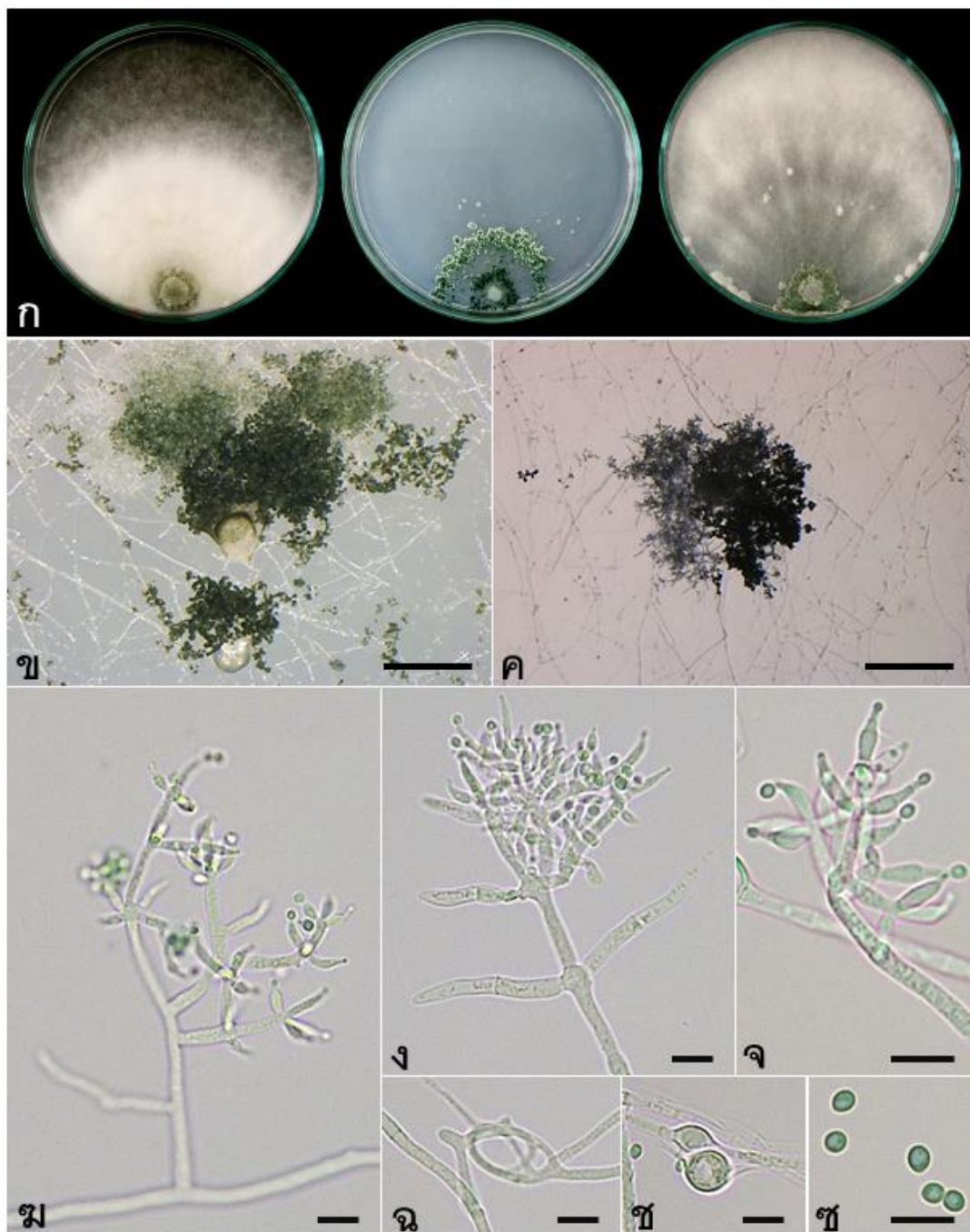
40. *Trichoderma* sp.

Clade: Viride

ลักษณะทางสัณฐานวิทยา: โคลนีสีขาว บริเวณ inoculum สีเขียวเข้มหม่น สร้างเส้นใยเจริญเรียบไปกับอาหารเลี้ยงเชื้อเป็นวงชั้นและบริเวณรอบนอกวงชั้น โคลนีส่งสร้างเส้นใยจำนวนมากฟูเหนืออาหารเลี้ยงเชื้อ มีการรวมตัวของเส้นใยอย่างหนาแน่นและสร้างกลุ่มโคนิเดียลักษณะเป็น pustule บริเวณ inoculum ไม่สร้างรงควัตถุและกลิ่นบนอาหารเลี้ยงเชื้อ มีรูปแบบการแตกแขนงของโคนิดีโอฟอร์แบบ Pyramidal-type และ Pachybasium-type รูปร่างแบบ ampulliform ขนาด (5.2–)6.4–7.9(–13.4) x (2.9–)3.1–3.3(–3.7) ไมโครเมตร โคนิเดียสีเขียว รูปร่างแบบ globose จนถึง subglobose ขนาด (3.4–)3.6–3.9(–4.2) x (4.0–)4.2–4.4(–4.9) ไมโครเมตร คลาไมโดสปอร์ รูปร่างแบบ subglobose จนถึง globose

แหล่งที่พบ: ดิน**จังหวัดที่เก็บตัวอย่าง:** ยะลา**ไอโซเลตที่แยกได้:** TriYI 1-6, TriYI 1-9, TriYI 1-10 และ TriYI 1-11

TriYI 1-6: เป็นตัวแทนในการแสดงรายละเอียดของลักษณะทางสัณฐานวิทยา (ภาพที่ 48)



ภาพที่ 48 *Trichoderma* sp. ไอโซเลต TriYI 1-6 (ก) ลักษณะโคโลนีอายุ 7 วัน ที่อุณหภูมิห้อง (ซ้าอาหาร PDA กลางอาหาร SNA และซวาอาหาร CMD) (ข และ ค) conidial pustules บนอาหาร SNA (ฌ-จ) โคินิดิโอฟอร์และไฟอะไลด์ (ฉ) เส้นใยที่ขดเป็นวงกลม (ซ) คลาไมโดสปอร์ (ซ) โคินิดี (สเกลบาร์ภาพ ข และ ค = 1 มิลลิเมตร ฌ-ซ = 10 ไมโครเมตร)

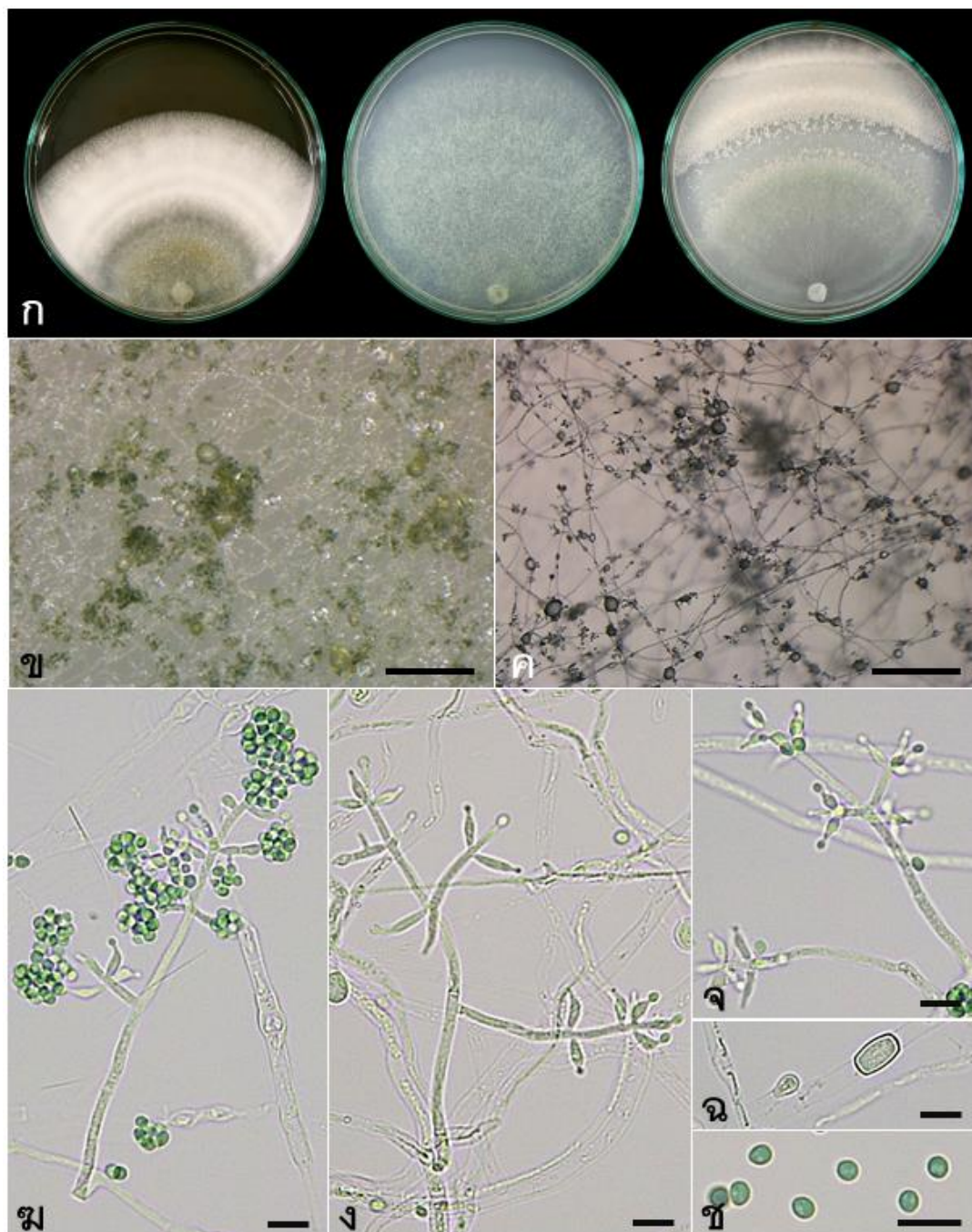
41. *Trichoderma* sp.

Clade: Viride

ลักษณะทางสัณฐานวิทยา: โคลนีสีขาวเจริญช้า บริเวณรอบ ๆ inoculum สร้างเส้นใยเจริญเรียบไปกับอาหารเลี้ยงเชื้อเห็นเป็นวงชั้นและบริเวณขอบโคลนีสร้างเส้นใยจำนวนมากฟูเหนืออาหารเลี้ยงเชื้อ มีการรวมตัวกันของเส้นใยอย่างหนาแน่นและสร้างกลุ่มโคนิเดียลักษณะเป็น pustule ไม่สร้างรงควัตถุและสร้างกลิ่นคล้ายไวน์บนอาหารเลี้ยงเชื้อ มีรูปแบบการแตกแขนงของโคนิดีโอฟอร์แบบ Pyramidal-type และ Pachybasium-type สร้างไฟอะไลด์รูปร่างแบบ ampulliform ขนาด (5.6–)6.3–8.5(–11.5) x (2.6–)2.8–3.2(–4.1) ไมโครเมตร โคนิเดียสี่เหลี่ยมรูปร่างแบบ subglobose ขนาด (3.6–)3.8–4.1(–4.7) x (4.1–)4.5–4.7(–5.6) ไมโครเมตร คลาไมโดสปอร์รูปร่างแบบ subglobose จนถึง globose

แหล่งที่พบ: ดิน**จังหวัดที่เก็บตัวอย่าง:** ยะลา**ไอโซเลตที่แยกได้:** TriYI 1-8

TriYI 1-8: เป็นตัวแทนในการแสดงรายละเอียดของลักษณะทางสัณฐานวิทยา (ภาพที่ 49)



ภาพที่ 49 *Trichoderma* sp. ไอโซเลต TriYI 1-8 (ก) ลักษณะโคโลนีอายุ 7 วัน ที่อุณหภูมิห้อง (ซ้าอาหาร PDA กลางอาหาร SNA และซวาอาหาร CMD) (ข) conical pustules บนอาหาร SNA (ค) โคนดิโอฟอร์บนอาหาร SNA (ง-จ) โคนดิโอฟอร์และไฟอะไลด์ (ฉ) คลาไมโดสปอร์ (ช) โคนเดีย (สเกลบาร์ภาพ ข และ ค = 1 มิลลิเมตร ง-ช = 10 ไมโครเมตร)

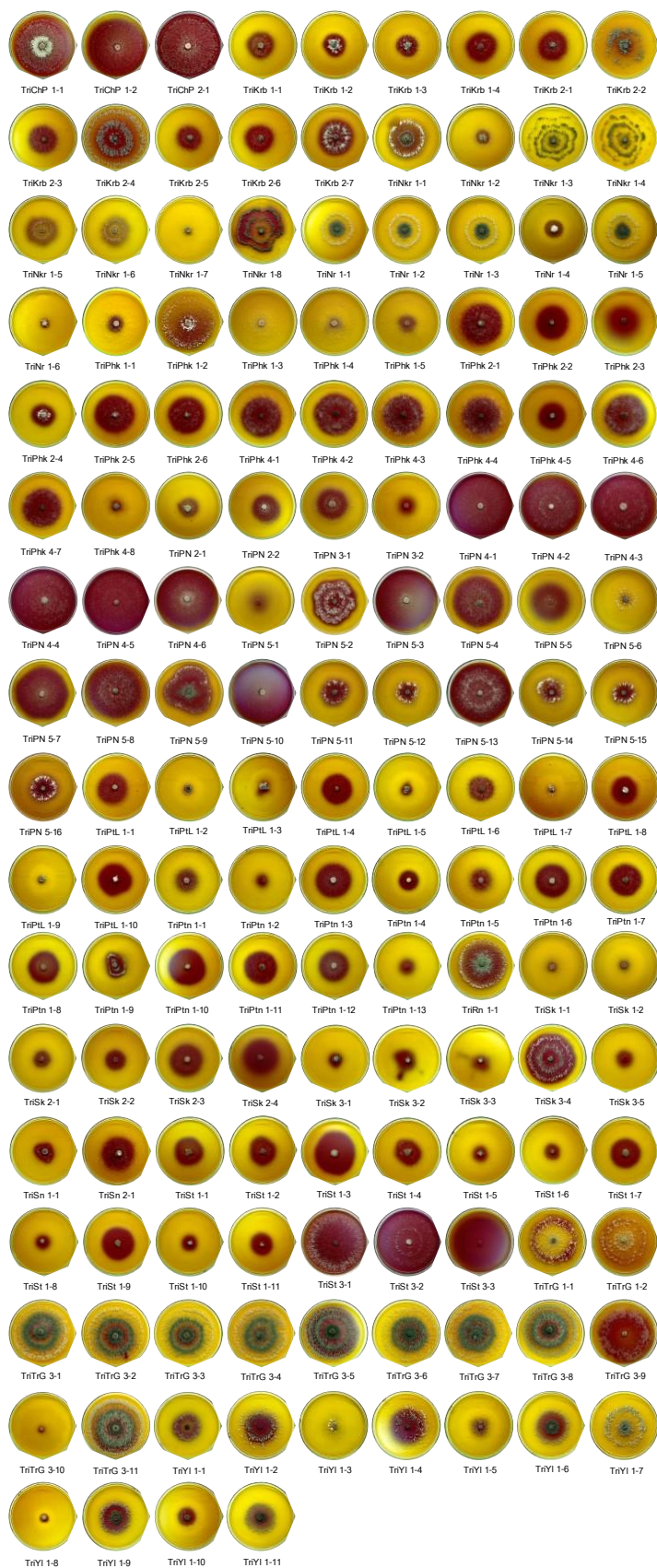
จากลักษณะทางสัณฐานวิทยาของรา *Trichoderma* species พบว่าส่วนใหญ่ไม่สร้างรงควัตถุและกลิ่นบนอาหารเลี้ยงเชื้อ มีรูปแบบการแตกแขนงของก้านโคนิดีโอฟอร์แบบ Pyramidal-type และ Pachybasium-type โดยพบทั้ง 2 แบบควบคู่กันในแต่ละชนิด และโคนิเดียรูปร่างแบบ subglobose จนถึง globose และพบคลาไมโดสปอร์

การทดสอบการสร้างเอนไซม์ไคติเนสเบื้องต้น

จากการทดสอบการสร้างเอนไซม์ไคติเนสเบื้องต้นของรา *Trichoderma* species ทั้ง 148 ไอโซเลต พบว่าราทั้งหมดสามารถสร้างเอนไซม์ไคติเนสบนอาหาร chitinase detection medium โดยเกิดการเปลี่ยนสีของอาหารจากสีเหลืองกลายเป็นสีม่วง (ภาพที่ 50) ซึ่งมีช่วงเวลาเริ่มสร้างเอนไซม์ไคติเนสที่ต่างกัน ได้แก่ เริ่มสร้างในวันที่ 2 จำนวน 1 ไอโซเลต วันที่ 3 จำนวน 73 ไอโซเลต วันที่ 4 จำนวน 45 ไอโซเลต วันที่ 5 จำนวน 20 ไอโซเลต วันที่ 6 จำนวน 5 ไอโซเลต วันที่ 7 จำนวน 1 ไอโซเลต และวันที่ 13 จำนวน 3 ไอโซเลต (ตารางที่ 8)

ผลการทดสอบการสร้างเอนไซม์ไคติเนสเบื้องต้นของรา *Trichoderma* species ด้วย gel diffusion method บนอาหาร chitinase detection medium ซึ่งเป็นวิธีการที่ใช้ตรวจสอบว่ามีการสร้างหรือไม่สร้างเอนไซม์ไคติเนสแต่ไม่สามารถวัดปริมาณเอนไซม์ไคติเนสได้ โดยเมื่อรามีการสร้างเอนไซม์ไคติเนส ส่งผลให้อาหารเกิดการเปลี่ยนสีจากสีเหลืองเป็นสีม่วง เนื่องจากไคติเนสถูกย่อยด้วยเอนไซม์ไคติเนสกลายเป็น N-acetyl glucosamine ก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของค่า pH จากภาวะเป็นกรดไปสู่ภาวะเป็นด่าง และเกิดการเปลี่ยนสีของสีย้อม (bromocresol purple) จากสีเหลืองเป็นสีม่วงบริเวณที่มีการย่อยไคติเนสรอบ ๆ โคนิเดีย สอดคล้องกับรายงานของ Agrawal และ Kotasthane (2012) ได้รายงานว่าร่า *T. asperellum*, *T. hamatum* และ *T. harzianum* สามารถสร้างเอนไซม์ไคติเนสบนอาหาร chitinase detection medium ได้

จากผลการทดลองทั้งหมดสามารถสรุปลักษณะทางสัณฐานวิทยาและการสร้างเอนไซม์ไคติเนสของรา *Trichoderma* species ที่แยกได้ทั้งหมด ดังตารางที่ 9



ภาพที่ 50 ภา *Trichoderma* species ที่สร้างเอนไซม์ไคตินเนสบนอาหาร chitinase detection medium

ตารางที่ 8 ภา *Trichoderma* species ที่เริ่มสร้างเอนไซม์โคติเนสในช่วง 1-14 วัน

วันที่	ไอโซเลต	ภาพที่
1	-	
2	TriYI 1-8	51
3	TriChP 1-1, TriChP 1-2, TriChP 2-1, TriKrb 1-1, TriKrb 1-2, TriKrb 1-3, TriKrb 1-4, TriKrb 2-1, TriKrb 2-3, TriKrb 2-5, TriKrb 2-6, TriNr 1-4, TriPhk 1-1, TriPhk 1-3, TriPhk 1-4, TriPhk 1-5, TriPhk 2-1, TriPhk 2-2, TriPhk 2-4, TriPhk 2-5, TriPhk 2-6, TriPhk 4-1, TriPhk 4-2, TriPhk 4-3, TriPhk 4-4, TriPhk 4-5, TriPhk 4-6, TriPhk 4-7, TriPhk 4-8, TriPN 2-1, TriPN 2-2, TriPN 3-1, TriPtL 1-1, TriPtL 1-2, TriPtL 1-3, TriPtL 1-4, TriPtL 1-5, TriPtL 1-6, TriPtL 1-7, TriPtL 1-8, TriPtL 1-9, TriPtn 1-1, TriPtn 1-2, TriPtn 1-3, TriPtn 1-4, TriPtn 1-5, TriPtn 1-6, TriPtn 1-7, TriPtn 1-8, TriPtn 1-10, TriPtn 1-11, TriPtn 1-12, TriPtn 1-13, TriSk 1-1, TriSk 1-2, TriSk 2-1, TriSk 2-2, TriSk 2-3, TriSk 2-4, TriSn 2-1, TriSt 1-1, TriSt 1-2, TriSt 1-3, TriSt 1-4, TriSt 1-5, TriSt 1-6, TriSt 1-7, TriSt 1-8, TriSt 1-9, TriSt 1-10, TriSt 1-11, TriYI 1-5 และ TriYI 1-10	51
4	TriKrb 2-7, TriNkr 1-2, TriNkr 1-5, TriNkr 1-6, TriNr 1-1, TriNr 1-2, TriNr 1-3, TriNr 1-5, TriPhk 1-2, TriPN 3-2, TriPN 4-1, TriPN 4-2, TriPN 4-3, TriPN 4-4, TriPN 4-5, TriPN 4-6, TriPN 5-1, TriPN 5-3, TriPN 5-4, TriPN 5-5, TriPN 5-6, TriPN 5-7, TriPN 5-8, TriPN 5-9, TriPN 5-10, TriPN 5-11, TriPN 5-12, TriPN 5-13, TriPN 5-14, TriPN 5-15, TriPN 5-16, TriPtL 1-10, TriPtn 1-9, TriRn 1-1, TriSk 3-5, TriSn 1-1, TriSt 3-1, TriSt 3-2, TriSt 3-3, TriTrG 3-9, TriYI 1-3, TriYI 1-6, TriYI 1-7, TriYI 1-9 และ TriYI 1-11	51
5	TriKrb 2-2, TriKrb 2-4, TriNkr 1-1, TriNkr 1-7, TriNr 1-6, TriPN 5-2, TriSK 3-1, TriSK 3-2, TriSK 3-3, TriSK 3-4, TriTrG 3-1, TriTrG 3-2, TriTrG 3-3, TriTrG 3-4, TriTrG 3-5, TriTrG 3-6, TriTrG 3-7, TriTrG 3-8, TriTrG 3-11 และ TriYI 1-1	51
6	TriTrG 1-1, TriTrG 1-2, TriTrG 3-10, TriYI 1-2 และ TriYI 1-4	51
7	TriPhk 2-3	51
8	-	
9	-	
10	-	
11	-	
12	-	
13	TriNkr 1-3, TriNkr 1-4 และ TriNkr 1-8	51
14	-	

หมายเหตุ: - คือ ไม่มีไอโซเลตที่สร้างเอนไซม์โคติเนส

ตารางที่ 9 ลักษณะวา *Trichoderma* species และการสร้างเอนไซม์โคติเนส

species	Conidiophores type	รูปร่างของโพะไลด์	ขนาดของโพะไลด์	รูปร่างของโคนิเดีย	ขนาดของโคนิเดีย	คลาโมโดสปอร์	สร้างกลินบนอาหาร	สร้างรงควัตถุบนอาหาร	สร้างเอนไซม์โคติเนสบนอาหารทดสอบ	ภาพที่
<i>T. afarasin</i>	Pyramidal-type	ampulliform	(4.2-)4.5-5.5(-8.0) x (2.2-)2.7-3.2(-5.5)	globose ถึง subglobose	(2.2-)2.5-3.0(-3.2) x (2.2-)2.5-3.2(-3.7)	พบ	กลินอ่อน ๆ	สีเหลือง	สร้าง	9
<i>T. amazonicum</i>	Pachybasium-type	ampulliform	(3.3-)4.8-6.7(-10.2) x (2.3-)2.7-3.0(-3.7)	subglobose ถึง ellipsoidal	(1.7-)2.2-2.7(-3.0) x (2.0-)2.5-3.2(-3.5)	พบ	ไม่สร้าง	ไม่สร้าง	สร้าง	10
<i>T. atroviride</i>	Pyramidal-type	ampulliform หรือ lageniform	(4.2-)6.0-9.7(-15.0) x (1.8-)2.5-3.5(-4.8)	globose ถึง subglobose	(2.2-)2.7-3.5(-4.0) x (2.7-)3.2-3.7(-4.7)	พบ	คล้ายมะพร้าว	ไม่สร้าง	สร้าง	11
<i>T. brevicompactum</i>	Pachybasium-type/ Pyramidal-type	ampulliform หรือ lageniform	(3.7-)4.7-6.7(-15.0) x (2.5-)3.0-3.7(-4.5)	subglobose ถึง ovoidal	(2.0-)2.2-2.7(-3.0) x (2.2-)2.7-3.0(-3.7)	พบ	ไม่สร้าง	ไม่สร้าง	สร้าง	12
<i>T. camerunense</i>	Pyramidal-type	ampulliform	(3.2-)3.7-5.7(-7.2) x (2.0-)2.5-3.2(-3.5)	subglobose ถึง ovoidal	(2.2-)2.5-3.0(-3.2) x (2.2-)2.5-3.2(-4.0)	พบ	กลินอ่อน ๆ	ไม่สร้าง	สร้าง	13
<i>T. erinaceus</i>	Pyramidal-type	ampulliform หรือ lageniform	(4.0-)5.7-9.0(-14.5) x (1.7-)2.5-3.5(-4.2)	ellipsoidal	(2.2-)2.7-3.2(-3.7) x (3.0-)3.5-4.0(-5.0)	พบ	คล้ายมะพร้าว	ไม่สร้าง	สร้าง	14
<i>T. hamatum</i>	Pachybasium-type	ampulliform	(3.7-)5.0-7.2(-10.7) x (2.2-)3.2-4.0(-5.5)	ellipsoidal	(2.0-)2.5-3.0(-3.5) x (3.0-)3.7-4.2(-5.7)	พบ	ไม่สร้าง	ไม่สร้าง	สร้าง	15
<i>T. koningiopsis</i>	Pyramidal-type	lageniform	(3.5-)5.5-9.2(-16.0) x (2.0-)2.7-3.5(-4.5)	ellipsoidal	(2.0-)2.5-3.0(-3.5) x (3.0-)3.5-4.0(-6.2)	พบ	ไม่สร้าง	ไม่สร้าง	สร้าง	16
<i>T. lentiforme</i>	Pyramidal-type	lageniform	(3.0-)4.2-6.5(-12.2) x (2.2-)3.0-4.0(-5.0)	globose ถึง subglobose	(1.7-)2.5-2.7(-3.2) x (2.0-)2.5-3.2(-3.7)	พบ	ไม่สร้าง	ไม่สร้าง	สร้าง	17
<i>T. lentinulae</i>	Pyramidal-type	ampulliform	(3.5-)4.0-6.0(-6.5) x (2.0-)2.5-3.0(-3.5)	ovoidal ถึง globose	(1.5-)2.0-2.5(-3.0) x (2.0-)2.5-3.0(-3.5)	พบ	ไม่สร้าง	ไม่สร้าง	สร้าง	18
<i>T. longibrachiatum</i>	Longibrachiatum-type	cylindrical จนถึง lageniform และพบ intercalary phialides	(3.5-)5.5-10.0(-17.2) x (1.0-)2.2-3.2(-4.5)	ellipsoidal	(2.0-)2.5-3.0(-4.0) x (2.0-)3.5-4.5(-6.2)	พบ	ไม่สร้าง	สีเหลือง	สร้าง	19
<i>T. parareesei</i>	Longibrachiatum-type	ampulliform หรือ lageniform และพบ intercalary phialides	(4.5-)6.0-8.7(-11.0) x (2.0-)2.2-3.2(-3.8)	ellipsoidal หรือ oblong	(2.5-)2.8-3.0(-3.5) x (3.3-)4.0-4.5(-6.2)	พบ	ไม่สร้าง	สีเหลือง	สร้าง	20

ตารางที่ 9 (ต่อ)

species	Conidiophores type	รูปร่างของโพะไลต์	ขนาดของโพะไลต์	รูปร่างของโคนิเดียม	ขนาดของโคนิเดียม	คลาไมโดสปอร์	สร้างกลินบนอาหาร	สร้างรงควัตถุบนอาหาร	สร้างเอนไซม์โคโคเนสบนอาหารทดสอบ	ภาพที่
<i>T. spirale</i>	Pachybasium-type	cylindrical หรือ lageniform	(3.5-)4.2-6.7(-14.0) x (2.7-)3.2-4.2(-5.0)	ellipsoidal	(1.5-)2.0-2.7(-3.5) x (3.0-)3.7-4.2(-5.0)	พบ	ไม่สร้าง	สีเหลือง	สร้าง	21
<i>T. taiwanense</i>	Verticillium-type	ampulliform	(5.2-)7.0-10.2(-13.2) x (2.2-)2.5-3.2(-3.5)	ellipsoidal	(2.5-)2.7-3.2(-3.5) x (3.5-)3.7-4.2(-4.7)	พบ	ไม่สร้าง	ไม่สร้าง	สร้าง	22
<i>T. tomentosum</i>	Pachybasium-type	ampulliform	(3.7-)4.2-6.2(-10.2) x (2.7-)3.0-3.7(-4.0)	ellipsoidal	(1.5-)2.0-2.5(-2.7) x (2.5-)3.0-3.7(-4.0)	พบ	ไม่สร้าง	ไม่สร้าง	สร้าง	23
<i>T. virens</i>	Gliocladium-type	ampulliform ถึง lageniform	(5.5-)8.7-9.2(-15.0) x (2.5-)3.5-4.5(-5.0)	subglobose ถึง ellipsoidal /ovoidal	(2.5-)3.5-4.2(-4.7) x (3.6-)4.0-5.2(-6.5)	พบ	ไม่สร้าง	ไม่สร้าง	สร้าง	24
<i>Trichoderma</i> sp.	Pachybasium-type/ Pyramidal-type	ampulliform หรือ lageniform	(6.0-)8.0-10.5(-13.1) x (2.0-)2.6-3.2(-3.5)	globose ถึง subglobose	(2.6-)2.8-3.2(-4.0) x (2.7-)3.2-3.4(-4.2)	พบ	ไม่สร้าง	ไม่สร้าง	สร้าง	25
<i>Trichoderma</i> sp.	Pyramidal-type	ampulliform	(5.0-)6.5-7.5(-10.0) x (2.0-)2.3-2.6(-3.3)	globose ถึง subglobose	(2.7-)2.9-3.1(-3.6) x (2.7-)3.2-3.4(-4.2)	พบ	ไม่สร้าง	ไม่สร้าง	สร้าง	26
<i>Trichoderma</i> sp.	Pyramidal-type	lageniform	(6.3-)7.5-8.1(-10.2) x (2.1-)2.3-2.6(-3.2)	globose ถึง subglobose	(2.3-)2.7-2.9(-3.2) x (3.1-)3.3-3.5(-3.7)	พบ	ไม่สร้าง	ไม่สร้าง	สร้าง	27
<i>Trichoderma</i> sp.	Pyramidal-type	ampulliform	(5.6-)6.7-7.6(-10.7) x (1.8-)2.2-2.4(-3.0)	globose ถึง subglobose	(2.4-)2.7-2.9(-3.4) x (3.1-)3.3-3.6(-4.1)	พบ	ไม่สร้าง	ไม่สร้าง	สร้าง	28
<i>Trichoderma</i> sp.	Pyramidal-type	lageniform	(5.6-)7.5-9.0(-15.2) x (1.5-)1.8-2.4(-2.7)	subglobose	(2.4-)2.6-2.9(-3.1) x (2.7-)3.2-3.5(-4.0)	พบ	ไม่สร้าง	ไม่สร้าง	สร้าง	29
<i>Trichoderma</i> sp.	Pyramidal-type	ampulliform	(4.5-)6.7-7.2(-10.0) x (1.8-)2.5-2.7(-3.3)	globose ถึง subglobose	(2.5-)2.6-2.8(-3.1) x (2.7-)2.8-3.1(-3.6)	พบ	ไม่สร้าง	ไม่สร้าง	สร้าง	30
<i>Trichoderma</i> sp.	Pachybasium-type/ Pyramidal-type	ampulliform	(5.8-)8.0-9.4(-13.8) x (2.4-)2.7-3.1(-3.5)	subglobose ถึง ovoidal	(2.5-)3.0-3.2(-3.4) x (3.3-)3.5-3.7(-3.9)	พบ	ไม่สร้าง	สีเหลือง	สร้าง	31
<i>Trichoderma</i> sp.	Gliocladium-type/ Verticillium-type	ampulliform	(7.5-)9.7-11.1(-16.0) x (1.9-)2.4-2.8(-3.3)	ellipsoidal	(2.5-)2.8-3.0(-3.6) x (3.6-)3.8-4.3(-5.0)	พบ	ไม่สร้าง	ไม่สร้าง	สร้าง	32
<i>Trichoderma</i> sp.	Verticillium-type	lageniform	(9.0-)11.4-13.2(-18.7) x (1.5-)2.0-2.6(-3.5)	subglobose	(2.5-)2.8-3.1(-3.7) x (3.3-)3.7-4.0(-4.2)	พบ	ไม่สร้าง	สีเหลือง	สร้าง	33

ตารางที่ 9 (ต่อ)

species	Conidiophores type	รูปร่างของโพะไลด์	ขนาดของโพะไลด์	รูปร่างของโคนิเดีย	ขนาดของโคนิเดีย	คลาไมโดสปอร์	สร้างกลินบนอาหาร	สร้างรงควัตถุบนอาหาร	สร้างเอนไซม์โคคิเนสบนอาหารทดสอบ	ภาพที่
<i>Trichoderma</i> sp.	Pyramidal-type	ampulliform	(5.6-)7.5-8.1(-12.0) x (2.1-)2.3-2.8(-3.4)	globose ถึง subglobose	(2.9-)3.1-3.2(-3.5) x (3.0-)3.3-3.6(-3.8)	พบ	ไม่สร้าง	ไม่สร้าง	สร้าง	34
<i>Trichoderma</i> sp.	Pyramidal-type	ampulliform	(4.4-)5.1-5.8(-7.0) x (2.0-)2.3-2.6(-3.0)	globose ถึง subglobose	(2.7-)2.9-3.0(-3.3) x (3.0-)3.2-3.3(-3.7)	พบ	ไม่สร้าง	ไม่สร้าง	สร้าง	35
<i>Trichoderma</i> sp.	Pachybasium-type	ampulliform	(4.0-)5.5-6.7(-10.0) x (1.3-)1.9-2.3(-3.0)	globose ถึง subglobose	(2.4-)2.5-2.7(-2.9) x (2.6-)2.8-3.0(-3.5)	พบ	ไม่สร้าง	ไม่สร้าง	สร้าง	36
<i>Trichoderma</i> sp.	Pachybasium-type	ampulliform	(4.6-)5.3-6.6(-11.0) x (2.0-)2.3-2.6(-3.1)	subglobose	(2.5-)2.6-2.7(-2.9) x (2.8-)2.9-3.1(-3.8)	พบ	ไม่สร้าง	ไม่สร้าง	สร้าง	37
<i>Trichoderma</i> sp.	Pachybasium-type	ampulliform	(5.2-)5.9-6.4(-8.1) x (2.3-)2.4-2.6(-2.8)	subglobose	(2.3-)2.5-2.6(-2.9) x (2.3-)2.5-2.9(-3.4)	พบ	ไม่สร้าง	ไม่สร้าง	สร้าง	38
<i>Trichoderma</i> sp.	Pachybasium-type	ampulliform	(4.1-)5.9-6.6(-11.0) x (2.5-)2.7-3.0(-3.5)	globose ถึง subglobose	(3.1-)3.2-3.3(-3.4) x (3.3-)3.4-3.5(-4.1)	พบ	ไม่สร้าง	ไม่สร้าง	สร้าง	39
<i>Trichoderma</i> sp.	Pachybasium-type/ Verticillium-type	ampulliform	(8.1-)10.2-11.3(-15.4) x (2.2-)2.7-2.9(-3.5)	ellipsoidal	(3.0-)3.1-3.4(-4.0) x (3.4-)3.7-4.1(-5.0)	พบ	ไม่สร้าง	ไม่สร้าง	สร้าง	40
<i>Trichoderma</i> sp.	Pachybasium-type/ Verticillium-type	ampulliform หรือ lageniform	(7.1-)9.2-11.6(-15.1) x (2.7-)2.9-3.2(-3.6)	ellipsoidal ถึง oblong	(3.2-)3.4-3.6(-3.8) x (4.2-)4.6-4.8(-5.1)	พบ	ไม่สร้าง	ไม่สร้าง	สร้าง	41
<i>Trichoderma</i> sp.	Acremonium-type	lageniform และพบ aphanophialides	(12.1-)14.8-16.6(-19.3) x (2.0-)2.4-2.6(-3.5)	ellipsoidal	(2.5-)2.7-3.0(-3.5) x (3.8-)4.4-4.7(-5.6)	พบ	ไม่สร้าง	สีเหลืองเข้มถึง ส้ม	สร้าง	42
<i>Trichoderma</i> sp.	Verticillium-type	ampulliform หรือ lageniform	(8.6-)9.2-11.8(-17.5) x (2.1-)2.5-2.7(-3.3)	ellipsoidal ถึง oblong	(2.7-)2.9-3.3(-3.6) x (4.2-)4.7-4.9(-5.6)	พบ	ไม่สร้าง	สีเหลืองอ่อน	สร้าง	43
<i>Trichoderma</i> sp.	Verticillium-type	lageniform	(11.3-)13.2-15.1(-23.4) x (2.2-)2.6-3.0(-4.9)	ellipsoidal ถึง oblong	(3.0-)3.3-3.5(-3.8) x (4.2-)4.4-4.8(-5.3)	พบ	ไม่สร้าง	สีเหลือง	สร้าง	44
<i>Trichoderma</i> sp.	Verticillium-type	lageniform	(9.5-)11.2-12.0(-15.2) x (2.1-)2.4-2.8(-3.5)	oblong	(2.9-)3.4-3.6(-4.2) x (4.5-)4.9-5.3(-5.8)	พบ	ไม่สร้าง	สีเหลือง	สร้าง	45
<i>Trichoderma</i> sp.	Pyramidal-type	ampulliform	(3.5-)6.4-7.2(-10.4) x (2.3-)2.6-3.0(-3.5)	subglobose ถึง ovoidal	(2.6-)2.8-3.0(-3.5) x (3.1-)3.2-3.4(-3.8)	พบ	คล้ายมะพร้าว	ไม่สร้าง	สร้าง	46

ตารางที่ 9 (ต่อ)

species	Conidiophores type	รูปร่างของฟองไลต์	ขนาดของฟองไลต์	รูปร่างของโคนิเดีย	ขนาดของโคนิเดีย	คลาไมโดสปอร์	สร้างกลิ่นบนอาหาร	สร้างรงควัตถุบนอาหาร	สร้างเอนไซม์โคติเนสบนอาหารทดสอบ	ภาพที่
<i>Trichoderma</i> sp.	Acremonium-type/ Pyramidal-type	ampulliform หรือ lageniform	(5.4-)6.6-8.7(-14.0) x (2.2-)2.4-2.8(-3.9)	subglobose	(3.1-)3.5-3.9(-4.7) x (4.2-)4.3-4.5(-5.5)	พบ	คล้ายไวน์	ไม่สร้าง	สร้าง	47
<i>Trichoderma</i> sp.	Pachybasium-type/ Pyramidal-type	ampulliform	(5.2-)6.4-7.9(-13.4) x (2.9-)3.1-3.3(-3.7)	globose ถึง subglobose	(3.4-)3.6-3.9(-4.2) x (4.0-)4.2-4.4(-4.9)	พบ	ไม่สร้าง	ไม่สร้าง	สร้าง	48
<i>Trichoderma</i> sp.	Pachybasium-type /Pyramidal-type	ampulliform	(5.6-)6.3-8.5(-11.5) x (2.6-)2.8-3.2(-4.1)	subglobose	(3.6-)3.8-4.1(-4.7) x (4.1-)4.5-4.7(-5.6)	พบ	คล้ายไวน์	ไม่สร้าง	สร้าง	49

บทที่ 4 สรุปผลและข้อเสนอแนะ

จากตัวอย่างรา *Trichoderma* species ที่แยกได้จากตัวอย่างดินทั้ง 14 จังหวัด ภาคใต้ จำนวน 148 ไอโซเลต แบ่งออกเป็น 6 clade และสามารถระบุชนิดได้ 16 ชนิด โดยอาศัย ลักษณะทางสัณฐานวิทยาควบคู่กับลักษณะทางชีวโมเลกุล ได้แก่ *T. afarasin* (4 ไอโซเลต), *T. amazonicum* (1 ไอโซเลต), *T. atroviride* (8 ไอโซเลต), *T. brevicompactum* (9 ไอโซเลต), *T. camerunense* (2 ไอโซเลต), *T. erinaceus* (8 ไอโซเลต), *T. hamatum* (1 ไอโซเลต), *T. koningiopsis* (9 ไอโซเลต), *T. lentiforme* (11 ไอโซเลต), *T. lentinulae* (1 ไอโซเลต), *T. longibrachiatum* (1 ไอโซเลต), *T. parareesei* (4 ไอโซเลต), *T. spirale* (7 ไอโซเลต), *T. taiwanense* (1 ไอโซเลต), *T. tomentosum* (8 ไอโซเลต) และ *T. virens* (10 ไอโซเลต) และไม่สามารถระบุชนิด จำนวน 63 ไอโซเลต โดยแบ่งเป็นราใน Harzianum clade จำนวน 34 ไอโซเลต Strictipile clade จำนวน 7 ไอโซเลต และ Viride clade จำนวน 22 ไอโซเลต

รา *Trichoderma* species ที่พบมากที่สุดคือ *T. lentiforme* (7.4%) และรองลงมา คือ *T. virens* (6.8%), *T. brevicompactum* และ *T. koningiopsis* พบปริมาณเท่ากัน (6.1%) ส่วน รา *T. amazonicum*, *T. hamatum*, *T. lentinulae*, *T. longibrachiatum* และ *T. taiwanense* พบ น้อยที่สุดชนิดละ 1 ไอโซเลต คิดเป็นร้อยละ 0.7 ของเชื้อทั้งหมดที่แยกได้ใน 148 ไอโซเลต

รา *Trichoderma* species ที่แยกได้ทุกไอโซเลตสามารถสร้างเอนไซม์โคติเนสบน อาหารทดสอบได้ และพบว่ารา *T. afarasin*, *T. brevicompactum*, *T. camerunense*, *T. erinaceus*, *T. koningiopsis*, *T. lentiforme*, *T. parareesei*, *T. taiwanense* และ *T. tomentosum* มีรายงานการ ใช้เป็นจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในต่างประเทศแต่ยังไม่เคยมีรายงานในประเทศไทย ส่วนรา *T. lentinulae* และ *T. amazonicum* ยังไม่เคยมีรายงานการใช้เป็นราปฏิปักษ์ทั้งในประเทศไทยและต่างประเทศ นอกจากนี้ยังมีรา *Trichoderma* species ที่ยังไม่สามารถระบุชนิดได้ ซึ่งอาจเป็นชนิดใหม่

รา *Trichoderma* species ที่แยกได้ทุกไอโซเลตสามารถนำไปศึกษาคุณสมบัติ การยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคพืชเพื่อคัดเลือกเป็นจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ต่อไป ส่วน *Trichoderma* species ที่ ยังระบุชนิดไม่ได้ควรนำไปศึกษาต่อ โดยเพิ่มตำแหน่งยีนให้มากกว่า 1 ตำแหน่ง เช่น ตำแหน่งยีน RNA polymerase II subunit B (*rpb2*) และ ATP citrate lyase (*ac1*) เพื่อใช้ในการระบุชนิด

เอกสารอ้างอิง

- จิระเดช แจ่มสว่าง. 2563. ไตรโคเดอร์มา: เชื้อราปฏิชีวนะควบคุมโรคพืช. เพชรเกษมการพิมพ์. 566 หน้า.
- จิระเดช แจ่มสว่าง วรณวิไล อินทนู และ ถวัลย์ คุ่มช้าง. 2544. ประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma harzianum* สูตรสำเร็จต่าง ๆ ในการควบคุมโรคโคนเน่าของถั่วฝักยาวที่เกิดจากเชื้อรา *Sclerotium rolfsii*. การประชุมทางวิชาการประจำปีของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 39 พืชศาสตร์ การส่งเสริมการเกษตร และการสื่อสารการเกษตร กรุงเทพฯ ประเทศไทย หน้า 236–242.
- Agrawal, T. and Kotasthane, A. S. 2012. Chitinolytic assay of indigenous *Trichoderma* isolates collected from different geographical locations of Chhattisgarh in Central India. a SpringerPlus 1: 73.
- Atanasova, L., Jaklitsch, W. M., Zelazowska, K. M., Kubicek, C. P. and Druzhinina, I. S. 2010. Clonal species *Trichoderma parareesei* sp. nov. likely resembles the ancestor of the cellulase producer *Hypocrea jecorina/T. reesei*. Appl. Environ. Microbiol. 76: 7259–7267.
- Baek, J. M., Howell, C. R. and Kenerley, C. M. 1999. The role of extracellular chitinase from *Trichoderma virens* Gv29-8 in the biocontrol of *Rhizoctonia solani*. Curr. Genet. 35: 41–50.
- Berg, G., Zachow, C., Lottmann, J., Götz, M., Costa, R. and Smalla, K. 2005. Impact of soil type and plant species on fungi antagonistic to *Verticillium dahlia*. Appl. Environ. Microbiol. 71: 4203–4213.
- Bissett, J. 1991. A revision of the genus *Trichoderma*. II. Infrageneric classification. Can. J. Bot. 69: 2357–2372.
- Bissett, J., Gams, W., Jaklitsch, W. and Samuels, G. J. 2015. Accepted *Trichoderma* names in the year 2015. IMA Fungus. 6: 263–295.
- Błaszczyk, L., Siwulski, M., Sobieralski, K., Lisiecka, J. and Jedryczka, M. 2014. *Trichoderma* spp. – application and prospects for use in organic farming and industry. Journal of plant protection research. 15: 309–317.

- Carbone, L. and Kohn, M. L. 1999. A method for designing primer sets for speciation studies in filamentous ascomycetes. *Mycologia*. 91: 553–556.
- Chaverri, P. and Samuels, G. J. 2004. *Hypocrea/Trichoderma* (Ascomycota, Hypocreales, Hypocreaceae): species with green ascospores. *Studies in Mycology*. 48: 1–116.
- Chaverri, P., Gazis, R. O. and Samuels, G. J. 2011. *Trichoderma amazonicum*, a new endophytic species on *Hevea brasiliensis* and *H. guianensis* from the Amazon basin. *Mycologia*. 103: 139–151.
- Chaverri, P., Rocha, B. F., Jaklitsch, W. M., Gazis, R., Degenkolb, T. and Samuels, G. J. 2015. Systematics of *Trichoderma Harzianum* species complex and the reidentification of commercial biocontrol strains. *Mycologia*. 107: 558–590.
- Chen, K. and Zhuang, W. Y. 2016. *Trichoderma shennongjianum* and *Trichoderma tibetense*, two new soil-inhabiting species in the Strictipile clade. *Mycoscience* 57: 311–319.
- Chen, K. and Zhuang, W. Y. 2017. Seven new species of *Trichoderma* from soil in China. *Mycosystema*. 36: 1441–1462.
- Chet, I. 1987. *Innovative Approaches to Plant Disease Control*. Wiley-Interscience. New York. 372 p.
- Contreras-Cornejo, A. H., Macías-Rodríguez, L. I., del-Val. E. and Larsen, J. 2016. Ecological functions of *Trichoderma* spp. and their secondary metabolites in rhizosphere: interactions with plants. *FEMS Microbiology Ecology* 92: fiw036.
- Ding, M. Y., Chen, W., Ma, X. C., Lv, W. B., Jiang, S. Q., Yu, Y. N., Rahimi, M. J., Gao, R. W., Zhao, Z., Cai, F. and Druzhinina, I. S. 2020. Emerging salt marshes as a source of *Trichoderma arenarium* sp. nov. and other fungal bioeffectors for biosaline agriculture. *Journal of Applied Microbiology* 1364–5072.
- Druzhinina, I. S., Kopchinskiy, G. A., Komon, M., Bissett, J. Szakacs, G. and Kubicek, C. P. 2005. An oligonucleotide barcode for species identification in *Trichoderma* and *Hypocrea*. *Fungal Genetics and Biology* 42: 813–828.
- Druzhinina, I. S., Seidl-Seiboth, V. and Herrera-Estrella, A. 2011. *Trichoderma*: the genomics of opportunistic success. *Nat. Rev. Microbiol.* 9: 749–59.

- Du Plessis, I. L., Druzhinina, I. S., Atanasova, L., Yarden, O. and Jacobs, K. 2018. The diversity of *Trichoderma* species from soil in South Africa, with five new additions. *Mycologia* 110: 559–583.
- El-Katatny, M. H. A., Somitsch, W., Robra, K. H., El-Katatny, M. S. and Gübitz, G. 2000. Production of chitinase and b-1,3-glucanase by *Trichoderma harzianum* for control of the phytopathogenic fungus *Sclerotium rolfsii*. *Food technology and biotechnology* 38: 173–180.
- Gams, W. and Bisset, J. 1998. Morphology and identification of *Trichoderma*. *Trichoderma & Gliocladium*. Vol. 1: 3–34.
- Gazis, R. and Chaverri, P. 2010. Diversity of fungal endophytes in leaves and stems of wild rubber trees (*Hevea brasiliensis*) in Peru. *Fungal Ecology* 3: 240–254.
- Grosch, R., Lottmann, J., Rehn, V. N. C., Rehn, K. G., Mendonça-Hagler, L., Smalla, K. and Berg, G. 2007. Analysis of antagonistic interactions between *Trichoderma* and *Hypocrea*. *Fungal Genet. Biol.* 42: 813–828.
- Gu, X., Wang, R., Sun, Q., Wu, B. and Sun, J. Z. 2020. Four new species of *Trichoderma* in the Harzianum clade from northern China. *MycKeys* 73: 109–132.
- Harman, G. E., Howell, C. R. and Viterbo, A. 2004. *Trichoderma* species opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nat. Rev. Microbiol.* 2: 43–56.
- Harman, G. E. and Petzoldt, R. 2004. Interactions between *Trichoderma harzianum* strain T22 and maize inbred line Mo17 and effects of these interactions on diseases caused by *Pythium ultimum* and *Colletotrichum graminicola*. *Phytopathology* 94: 147–53.
- Hermosa, M. R., Keck, E., Chamorro, I., Rubio, B., Sanz, L., Vizcaino, J. A., Grondona, I. and Monte, E. 2004. Genetic diversity shown in *Trichoderma* biocontrol isolates. *Mycol. Res.* 108: 897–906.
- Howell, C. R. 2002. Cotton seedling preemergence damping-off incited by *Rhizopus oryzae* and *Pythium* spp. and its biological control with *Trichoderma* spp. *Phytopathology* 92: 177–180.

- Howell, C. R., Hanson, L. E., Stipanovic, R. D. and Puckhaber, L. S. 2000. Induction of terpenoid synthesis in cotton roots and control of *Rhizoctonia solani* by seed treatment with *Trichoderma virens*. *Phytopathology* 90: 248–252.
- Hoyos-Carvajal, L., Orduz, S. and Bissett, J. 2009. Genetic and metabolic biodiversity of *Trichoderma* from Colombia and adjacent neotropic regions. *Fungal Genet. Biol.* 46: 615–631.
- Inbar, J., Abramsky, M., Cohen, A. and Chet, I. 1994. Plant growth under commercial conditions. *Europ. J. Plant Pathol.* 100: 337–346.
- Inglis, P. W., Mello, S. C. M., Martins, I., Silva, J. B. T., Macêdo, K., Sifuentes, D. N. and Valadares-Inglis, M. C. 2020. *Trichoderma* from Brazilian garlic and onion crop soils and description of two new species: *Trichoderma azevedoi* and *Trichoderma peberdyi*. *PLoS ONE* 15(3): e0228485.
- Jaklitsch, W. M. and Voglmayr, H. 2014. Biodiversity of *Trichoderma* (*Hypocreaceae*) in Southern Europe and Macaronesia. *Studies in Mycology.* 80: 1–87.
- Jaklitsch, W. M., Komon, M., Kubicek, C. P. and Druzhinina, I. S. 2005. *Hypocrea voglmayrii* sp. nov. from the Austrian Alps represents a new phylogenetic clade in *Hypocrea/Trichoderma*. *Mycologia* 97: 1365–1378.
- Jaklitsch, W. M. 2009. European species of *Hypocrea* Part I. *Studies in Mycology.* 63: 1–91.
- Jaklitsch, W. M. 2011. European species of *Hypocrea* Part II: species with hyaline ascospores. *Fungal Diversity.* 48: 1–250.
- Khatri, K. D., Tiwari, N. D. and Bariya, S. H. 2017. Chitinolytic efficacy and secretion of cell wall-degrading enzymes from *Trichoderma* spp. in response to phytopathological fungi. *Applied Biology & Biotechnology* 5: 1–8.
- Kim, K. and Ji, S. H. 2001. Effect of Chitin Sources on Production of Chitinase and Chitosanase by *Streptomyces griseus* HUT 6037. *Biotechnol. Bioprocess Eng.* 6: 18–24.
- Kubicek, C. P. and Harman, G. E. 1998. *Trichoderma* and *Gliocladium*: basic biology, taxonomy and genetics. CRC Press. 1: 1–300.

- Kubicek, C. P., Bissett, J., Druzhinina, I. S., Kullnig-Gradinger, C. and Szakacs, G. 2003. Genetic and metabolic diversity of *Trichoderma*: A case study on South-East Asian isolates. *Fungal Genet. Biol.* 38: 310–319.
- Kumar, K., Amaresan, N., Bhagat, S., Madhuri, K. and Srivastava, R. C. 2012. Isolation and Characterization of *Trichoderma* spp. for Antagonistic Activity Against Root Rot and Foliar Pathogens. *Indian J Microbiol* 52: 137–144.
- Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C., and Tamura, K. 2018. MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution* 35: 1547–1549.
- Liu, Y. J., Whelen, S. and Hall, B. D. 1999. Phylogenetic relationships among Ascomycetes: Evidence from an RNA polymerase II subunit. *Mol. Biol. Evol.* 16: 1799–1808.
- Loc, H. N., Huy, D. N., Quang, T. H., Lan, T. T. and Ha, T. T. T. 2020. Characterization and antifungal activity of extracellular chitinase from a biocontrol fungus, *Trichoderma asperellum* PQ34. *Mycology*. 11: 38–48.
- Metcalf, D. D. and Wilson, C. R. 2001. The process of antagonism of *Sclerotium cepivorum* in white rot affected onion roots by *Trichoderma koningii*. *Plant Pathol.* 50: 249–257
- Michal, O., Masdlena, S. and Grzegorz, B. 2015. Molecular identification of *Trichoderma* Strains collected to develop plant growth-promoting and biocontrol agents. *Horticultural Research*. 23: 75–86
- Monte, E. 2001. Understanding *Trichoderma*: between biotechnology and microbial ecology. *Int. Microbiol.* 4: 1–4.
- Montoya, V. Q., Meirelles, A. L., Chaverri, P. and Rodrigues, A. 2016. Unraveling *Trichoderma* species in the attine ant environment: description of three new taxa. *Antonie van Leeuwenhoek* 109: 633–651.
- Mukherjee, P. K., Horwitz, B. A. and Herrera-Estrella, A. 2013. *Trichoderma* research in the genome era. *Annu. Rev. Phytopathol.* 51: 105–29.

- Neuhof, T., Dieckman, R., Druzhinina, I. S., Kubicek, C. P. and von Döhren, H. 2007. Intact-cell MALDI-TOF mass spectrometry analysis of peptaibol formation by the genus *Trichoderma/Hypocrea*: Can molecular phylogeny of species predict peptaibol structures? *Microbiology* 153: 3417–3437.
- Nuankaew, K., Sotome, K., Lumyong, S. and Boonlue, S. 2018. *Trichoderma polyalthiae* sp. nov., an endophytic fungus from *Polyalthia debilis*. *Phytotaxa* 371: 273–282.
- Omann, M. R., Lehner, S. and Escobar-Rodriguez, C. 2012. The seven-transmembrane receptor Gpr1 governs processes relevant for the antagonistic interaction of *Trichoderma atroviride* with its host. *Microbiology*. 158: 107–18.
- Pal, K. K. and Gardener, B. M. 2006. Biological control of plant pathogens. The Plant Health Instructor DOI: 10.1094/PHI-A-2006-1117-02. APSnet. 25 p.
- Persoon, C. H. 1794. *Disposita methodica fungorum*. Romer's Neues Mag. Bot. 1:81–128.
- Qiao, M., Du, X., Zhang, Z., Xu, J. P. and Yu, Z. F. 2018. Three new species of soil-inhabiting *Trichoderma* from Southwest China. *Myckeys* 44: 63–80.
- Qin, W. T. and Zhuang, W. Y. 2016. Four new species of *Trichoderma* with hyaline ascospores from central China. *Mycol Progress* 15: 811–825.
- Qin, W. T. and Zhuang, W. Y. 2016. Seven wood-inhabiting new species of the genus *Trichoderma* (fungi, Ascomycota) in Viride clade. *Scientific Reports* 6:27074.
- Qin, W. T. and Zhuang, W. Y. 2016. Two new hyaline-ascospored species of *Trichoderma* and their phylogenetic positions. *Mycologia* 108: 205–214.
- Qin, W. T. and Zhuang, W. Y. 2017. Seven new species of *Trichoderma* (Hypocreales) in the *Harzianum* and *Strictiplie* clades. *Phytotaxa* 305: 121–139.
- Rahman, A., Begum, F. M., Rahman, M., Bari, A. M., Ilias, M. N. G. and Alam, F. M. 2011. Isolation and identification of *Trichoderma* species from different habitats and their use for bioconversion of solid waste. *Turk J Biol* 35: 183–194.
- Riddell, R. W. 1950. Permanent stained mycological preparations obtained by slide culture. *Mycologia* 42: 265–270.
- Rodríguez, M. C. H., Evans, H. C., de Abreu, L. M., de Macedo, D. M., Ndacnou, M. K., Bekele, K. B. and Barreto, B. W. 2021. New species and records of *Trichoderma*

- isolated as mycoparasites and endophytes from cultivated and wild coffee in Africa. *Scientific Reports* 11:5671.
- Sahai, A. S. and Manocha, M. S. 1993. Chitinase of fungi and plants: Their involvement in morphogenesis and host-parasite interaction. *Microbiol* 11: 317–338.
- Saitoh, K. I., Togashi, K. and Arie, T. 2006. A simple method for a mini-preparation of fungal DNA. *Journal of General Plant Pathology* 72: 348–350.
- Samuels, G. J., Dodd, S. L., Lu S. B., Petrini, O., Schroers, J. H. and Druzhinina, I. S. 2006. The *Trichoderma koningii* aggregate species. *Studies in Mycology*. 56: 67–133.
- Samuels, G. J. and Hebbbar, K. P. 2015. *Trichoderma* identification and agricultural applications. The American Phytopathological Society. 1–196.
- Sander, R. E. 2012. Aseptic Laboratory Techniques: Plating Methods. *Journal of Visualized Experiments* 63: 1–18.
- Santos, C., Paterson, R. R. M., Venâncio, A. and Lima, N. 2010. Filamentous fungal characterizations by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry. *J. Appl. Microbiol.* 52: 2112–2125.
- Sivasithamparam, K. and Ghisalberti, E. L. 1998. Secondary metabolism in *Trichoderma* and *Gliocladium*. In: Kubicek, C. P. and Harman, G. E. (Eds). *Trichoderma and Gliocladium*. London: Taylor and Francis 1: 139–191.
- Stewart, A. and Hill, R. 2014. Applications of *Trichoderma* in plant growth promotion. In: Gupta V.K., Schmoll M., Herrera-Estrella A., Upadhyay R.S., Druzhinina I. S., Tuohy M.G. (Eds.), *Biotechnology and biology of Trichoderma*. Elsevier, Amsterdam, pp. 415–428.
- Sun, J., Pei, Y., Li, E., Li, W., hyde, D. K., Yin, W. B. and Liu, X. 2016. A new species of *Trichoderma hypoxylon* harbours abundant secondary metabolites. *Scientific Reports*.
- Tedersoo, L., Ramírez, S. S., Kõljalg, U., Bahram, M., Döring, M., Schigel, D., May, T., Ryberg, M. and Abarenkov, K. 2018. High-level classification of the Fungi and a tool for evolutionary ecological analyses. *Fungal Diversity* 90: 135–159.

- Tomah, A. A., Alamer, I. S. A., Li, B. and Zhang, J. Z. 2020. A new species of *Trichoderma* and gliotoxin role: A new observation in enhancing biocontrol potential of *T. virens* against *Phytophthora capsici* on chili pepper. *Biological Control* 145, 104261.
- Urbina-Salazar, R. A., Inca-Torres, R. A., Falcon-García, G., Carbonero-Aguilar, P., Rodríguez-Morgado, B. Campo, A. J., Parrado, J. and Bautista, J. 2018. Chitinase Production by *Trichoderma harzianum* Grown on a Chitin-Rich Mushroom Byproduct Formulated Medium. *Waste and Biomass Valorization* 10: 1–9
- Velázquez-Robledo, R., Contreras-Cornejo, H. and Macías-Rodríguez, L. I. 2011. Role of the 4-phosphopantetheinyl transferase of *Trichoderma virens* in secondary metabolism, and induction of plant defense responses. *Mol. Plant. Microbe Interact.* 24: 1459–71.
- Weindling, R. 1932. *Trichoderma lignorum* as a parasite of other soil fungi. *Phytopathology* 22: 837–845.
- Weindling, R. 1941. Experimental consideration of the mold toxin of *Gliocladium* and *Trichoderma*. *Phytopathology* 31: 991–1003
- White, T. J., Bruns, T., Lee, S. and Taylor, J. L. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications* 38: 315–322.
- Zeng, Z. Q. Zheng, H. D., Wang, X. C., Wei S. L. and Zhuang, W. Y. 2020. Ascomycetes from the Qilian Mountains, China-Hypocreales. *Mycology* 71: 119–137.
- Zeng, Z. Q. and Zhuang, W. Y. 2019. Two new species and a new Chinese record of Hypocreaceae as evidenced by morphological and molecular data. *Mycobiology* 47, 3: 280–291.
- Zhang, Y. B. and Zhuang, W. Y. 2017. Four new species of *Trichoderma* with hyaline ascospores from southwest China. *Mycosphere*. 8: 1914–1929.
- Zhang, Y. B. and Zhuang, W. Y. 2018. New species of *Trichoderma* in the Harzianum, Longibrachiatum and Viride clades. *Phytotaxa* 379, 2: 131–142.

- Zhu, Z. X., Xu, H. X., Zhuang, W. Y. and Li, Y. 2017. Two new green-spored species of *Trichoderma* (Sordariomycetes, Ascomycota) and their phylogenetic positions. *Myckeys* 26: 61–75.
- Zhu, Z. X., Zhuang, W. Y. and Li, Y. 2018. A new species of the Longibrachiatum Clade of *Trichoderma* (Hypocreaceae) from Northeast China. *Nova Hedwigia* 106: 441–453.

