บทที่ 4

ผลการทดลอง

การเก็บรวบรวมลูกแป้ง

ได้ลูกแป้งทั้งหมด 52 ตัวอย่าง จากสถานที่ 52 แห่ง ลูกแป้งที่ได้นี้เป็นลูกแป้งที่ทำกันระดับอุตสาหกรรมในครัวเรือน และได้จากที่ใช้ในโรงงานอุตสาหกรรมผลิตอาหารประเภทปรุงรส และโรงงานอุตสาหกรรมผลิตแอลกอฮอล์ แบ่งลูกแป้งได้เป็น 3 ชนิด คือ ลูกแป้งเหล้า 20 ตัวอย่าง ลูกแป้งข้าวหมัก 30 ตัวอย่าง และส่าน้ำส้ม 2 ตัวอย่าง โดยได้ลูกแป้งจากภาคเหนือรวม 9 ตัวอย่าง เป็นลูกแป้งข้าวหมัก 4 ตัวอย่าง ลูกแป้งเหล้า 5 ตัวอย่าง จากภาคกลางรวม 23 ตัวอย่าง เป็นลูกแป้งข้าวหมัก 16 ตัวอย่าง ลูกแป้งเหล้า 6 ตัวอย่าง และลูกแป้งน้ำส้ม 1 ตัวอย่าง จากภาคตะวันออกเฉียงเหนือ 12 ตัวอย่าง เป็นลูกแป้งข้าวหมัก 7 ตัวอย่าง ลูกแป้งเหล้า 5 ตัวอย่าง จากภาคใต้ 8 ตัวอย่าง เป็นลูกแป้งข้าวหมัก 3 ตัวอย่าง ลูกแป้งเหล้า 4 ตัวอย่าง และลูกแป้งน้ำส้ม 1 ตัวอย่าง ตัวอย่างลูกแป้งชนิดต่าง ๆ แสดงไว้ในรูปที่ 1

การแยกเชื้อจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในลูกแป้งและการจำแนกเชื้อรา

เมื่อประมาณ 24 ชม. ของการบ่มเชื้อ สังเกตเห็นเชื้อราบางชนิดเจริญเติบโตให้สายใยและสร้างอับสปอร์ แต่บางชนิดก็ยังมีการเจริญไม่เต็มที่ จึงแยกเชื้อที่สังเกตเห็นมีการสร้างอับสปอร์แล้ว และสังเกตการเจริญต่อไปอีกเรื่อย ๆ จนครบ 96 ชม.

จากการศึกษาลักษณะโดยละเอียดแล้ว พบว่าเชื้อราที่สร้างสายใยที่พบในลูกแป้งทั้งหมดที่ทำการศึกษา มีอยู่ 5 กลุ่ม คือ เชื้อ <u>Rhizopus</u> <u>sp.</u> <u>Aspergillus</u> <u>sp.</u>

Amylomyces sp. Mucor sp. และ Absidia sp. ดังแสดงไว้ในรูปที่ 2 เชื้อราดังกล่าวส่วนใหญ่จัดอยู่ใน Class Phycomycetes และDeuteromycetes พวก Phycomycetes คือ เชื้อราที่สร้างสายใยชนิดไม่มีผนังกั้น และสร้างสปอร์แบบไม่ใช้เพศชนิดเป็นอับสปอร์ ส่วนพวกDeuteromycetesนั้นเป็นเชื้อราที่สร้างสายใยชนิดมีผนังกั้น และสร้างสปอร์แบบไม่ใช้เพศเท่านั้น ลักษณะของสปอร์แบบไม่ใช้เพศดังกล่าวมีได้หลายชนิด เช่น conidiospore เป็นต้น

จากตารางที่ 1 แสดงแหล่งที่ได้ลูกแป้ง ชนิดของลูกแป้ง และชนิดของเชื้อราที่สร้างสายใยซึ่งแยกได้จากลูกแป้ง 52 ตัวอย่าง รวมได้ Rhizopus sp.จำนวน 11 สายพันธุ์ Aspergillus sp. จำนวน 17 สายพันธุ์ Amylomyces sp. จำนวน 44 สายพันธุ์ Mucor sp. จำนวน 6 สายพันธุ์ และ Absidia sp.จำนวน 1 สายพันธุ์ นอกจากนี้ยังพบแบคทีเรียพวก bacillus และยีสต์บ้าง แต่ไม่ได้ทำการตรวจเชื้อว่าเป็นชนิดใด จากตารางที่ 1 แสดงให้เห็นว่าในตัวอย่างลูกแป้งจากภาคเหนือ แยกได้เชื้อ Aspergillus sp. จำนวน 4 สายพันธุ์ (As_1-As_4) เชื้อ Amylomyces sp. จำนวน 9 สายพันธุ์ (A_1-A_9) และเชื้อ Mucor sp. จำนวน 1 สายพันธุ์ (M_1) จากตัวอย่างลูกแป้งในภาคกลาง แยกได้เชื้อ Rhizrpus sp. จำนวน 8 สายพันธุ์ (R_8 R_3 R_7 R_{10} R_4 R_2 R_5 และ R_9) เชื้อ Aspergillus sp. จำนวน 7 สายพันธุ์ (As_5 - As_{11}) เชื้อ Amylomyces sp. จำนวน 18 สายพันธุ์ (A_{10}-A_{27}) เชื้อ Mucor sp. จำนวน 3 สายพันธุ์ (M_2-M_4) และพบเชื้อ Absidia sp. จำนวน 1 สายพันธุ์ (Ab_1) จากตัวอย่างลูกแป้งในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ แยกได้เชื้อ Rhizopus sp. จำนวน 1 สายพันธุ์ (R_1) เชื้อ Aspergillus sp. จำนวน 6 สายพันธุ์ (As_{12}-As_{17}) เชื้อ Amylomyces sp. จำนวน 17 สายพันธุ์ (A_{28}-A_{37}) เชื้อ Mucor sp. จำนวน 2 สายพันธุ์ (M_5-M_6) ตัวอย่างลูกแป้งจากภาคใต้ แยกได้เชื้อ Rhizopus sp. จำนวน 2 สายพันธุ์ เชื้อ Amylomyces sp. จำนวน 7 สายพันธุ์

หอสมุดกลาง
จุฬาลงกรณมหาวิทยาลัย

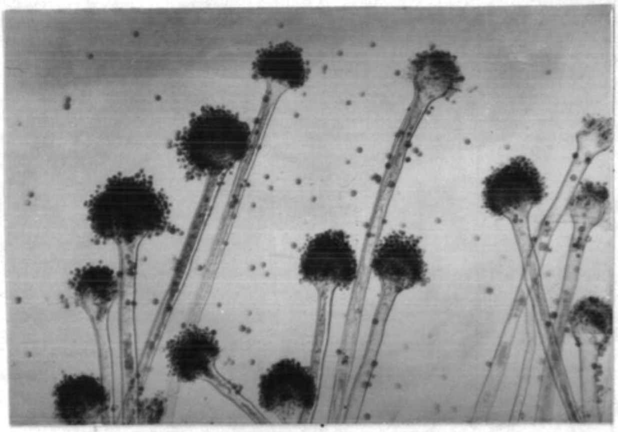
เชื้อหมักน้ำส้ม

ลูกแป้งเหล้า

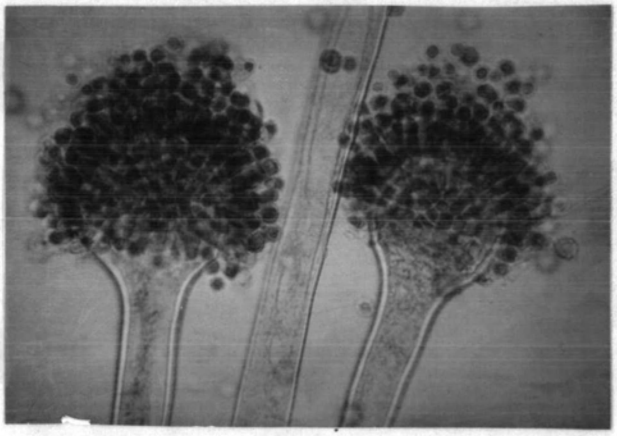
ลูกแป้งข้าวหมัก

เชื้อหมักเหล้า

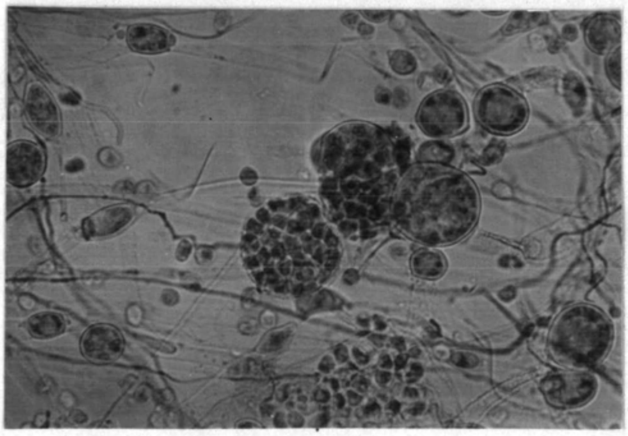
รูปที่ 1 ตัวอย่าง ลูกแป้ง หรือเชื้อหมักชนิดต่าง ๆ



Aspergillus sp.

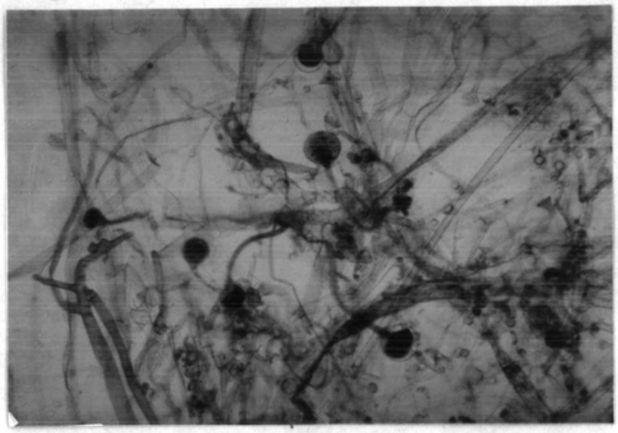


Aspergillus sp.

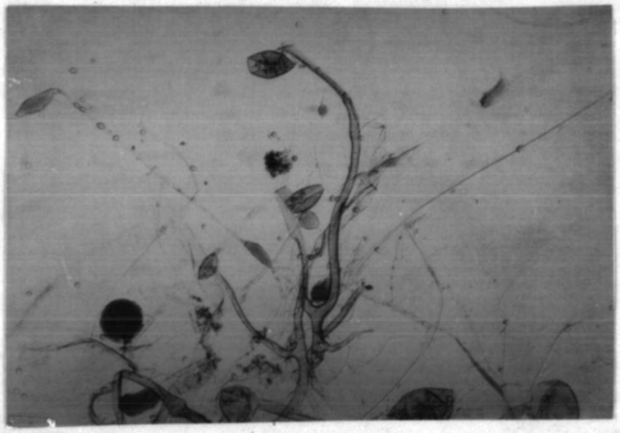


Amylomyces sp.

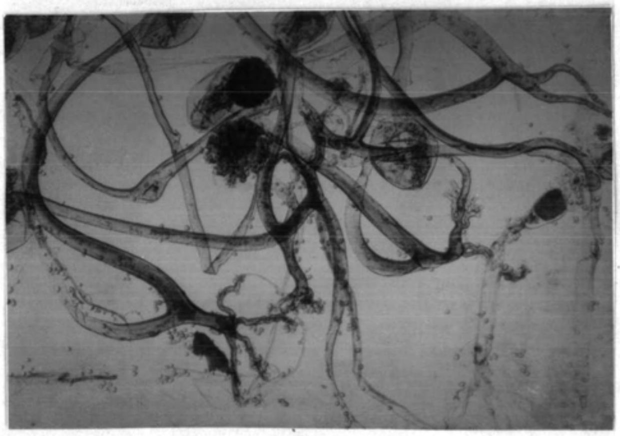
รูปที่ 2 ราที่สร้างสายใย แยกได้จากลูกแป้ง



Mucor sp.



Rhizopus oryzae



Rhizopus oryzae

รูปที่ 2 ราที่สร้างสายใย แยกได้จากลูกแป้ง

ตารางที่ 1 แสดงแหล่งที่มาของลูกแป้ง ชนิดของลูกแป้ง และสกุลของราที่สร้างสายใย แยกได้จากลูกแป้งทั้ง 3 ชนิด บนอาหารแข็ง PDA*

ลำดับที่	แหล่งที่ได้ลูกแป้ง	ชนิดของลูกแป้ง	สกุลของราที่สร้างสายใย	ชื่อย่อของสายพันธุ์
	ภาคเหนือ			
1	เชียงใหม่	ข้าวหมัก	*Amylomyces sp.*	A_1
			Aspergillus sp.	As_1
2	กำแพงเพชร	เหล้า	*Amylomyces sp.*	A_2
3	ลำปาง (1)	เหล้า	*Amylomyces sp.*	A_3
4	ลำปาง (2)	ข้าวหมัก	*Amylomyces sp.*	A_4
			Aspergillus sp.	As_2
5	แม่ฮ่องสอน	เหล้า	*Amylomyces sp.*	A_5
6	น่าน	เหล้า	*Amylomyces sp.*	A_6
7	พิษณุโลก (1)	เหล้า	*Amylomyces sp.*	A_7
8	พิษณุโลก (2)	ข้าวหมัก	*Amylomyces sp.*	A_8
			Aspergillus sp.	As_3
			Mucor sp.	M_1
9	พิษณุโลก (3)	ข้าวหมัก	*Amylomyces sp.*	A_9
			Aspergillus sp.	As_4

* potato dextrose agar

ตารางที่ 1 (ต่อ)

ลำดับที่	แหล่งที่ได้ลูกแป้ง	ชนิดของลูกแป้ง	สกุลของราที่สร้างสายใย	ชื่อย่อของสายพันธุ์
	ภาคกลาง			
10	อ่างทอง	ข้าวหมัก	*Amylomyces sp.*	A_{10}
11	กรุงเทพ (ลาดยาว 1)	ข้าวหมัก	*Amylomyces sp.*	A_{11}
12	กรุงเทพ (ลาดยาว 2)	เหล้า	*Amylomyces sp.*	A_{12}
13	กรุงเทพ (จักรวรรดิ์)	ข้าวหมัก	*Rhizopus oryzae*	R_8**
14	กรุงเทพ (ชายทะเลจันทร์เพ็ญ1)	เหล้า	*Amylomyces sp.*	A_{13}
15	กรุงเทพ (ชายทะเลจันทร์เพ็ญ2)	น้ำส้ม	*Mucor sp.*	M_2
			Absidia sp.	Ab_1
16	กรุงเทพ (ตลาดสมเด็จฯ)	ข้าวหมัก	*Amylomyces sp.*	A_{14}
			Aspergillus sp.	As_5
17	กาญจนบุรี (1)	ข้าวหมัก	*Rhizopus oryzae*	R_3**
			Aspergillus sp.	As_6
18	กาญจนบุรี (2)	ข้าวหมัก	*Amylomyces sp.*	A_{15}
			Aspergillus sp.	As_7
19	นครปฐม	ข้าวหมัก	*Amylomyces sp.*	A_{16}
			Rhizopus oryzae	R_7**
20	นครสวรรค์ (1)	ข้าวหมัก	*Amylomyces sp.*	A_{17}
21	นกรสวรรค์ (2)	ข้าวหมัก	*Amylomyces sp.*	A_{18}
			Aspergillus sp.	As_8
			Mucor sp.	M_3

** สายพันธุ์ที่นำมาใช้ในการทดลอง

ตารางที่ 1 (ต่อ)

ลำดับที่	แหล่งที่ได้ลูกแป้ง	ชนิดของลูกแป้ง	สกุลของราที่สร้างสายใย	ชื่อของสายพันธุ์
	ภาคกลาง (ต่อ)			
22	นนทบุรี (1)	ข้าวหมัก	*Amylomyces* sp.	A_{19}
			Aspergillus sp.	As_9
23	นนทบุรี (2) (โรงงานสุรา)	เหล้า	*Rhizopus oryzae*	R_{10}**
24	นนทบุรี (3) (โรงงานอุตสาหกรรมอาหาร)	เหล้า	*Amylomyces* sp.	A_{20}
			Mucor sp.	M_4
25	ปทุมธานี (วัดไผ่ล้อม)	ข้าวหมัก	*Rhizopus oryzae*	R_4**
			Amylomyces sp.	A_{21}
26	ราชบุรี (บ้านโป่ง)	ข้าวหมัก	*Amylomyces* sp.	A_{22}
			Aspergillus sp.	As_{10}
27	ราชบุรี (โพธาราม 1)	ข้าวหมัก	*Amylomyces* sp.	A_{23}
			Rhizopus oryzae	R_2**
28	ราชบุรี (โพธาราม 2)	ข้าวหมัก	*Amylomyces* sp.	A_{24}
29	ราชบุรี (โพธาราม 3)	ข้าวหมัก	*Amylomyces* sp.	A_{25}
			Aspergillus sp.	As_{11}
30	สมุทรสาคร (อ้อมน้อย)	ข้าวหมัก	*Rhizopus oryzae*	R_5**
31	สุพรรณบุรี (1) (บางระจัน)	เหล้า	*Amylomyces* sp.	A_{26}
32	สุพรรณบุรี (2)	เหล้า	*Amylomyces* sp.	A_{27}
			Rhizopus microsporus?	R_9**

** สายพันธุ์ที่นำมาใช้ในการทดลอง

ตารางที่ 1 (ต่อ)

ลำดับที่	แหล่งที่ได้ลูกแป้ง	ชนิดของลูกแป้ง	สกุลของราที่สร้างสายใย	ชื่อย่อของสายพันธุ์
	ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ			
33	บุรีรัมย์ (1)	ข้าวหมัก	*Amylomyces sp.*	A_{28}
			Aspergillus sp.	As_{12}
34	บุรีรัมย์ (2)	เหล้า	*Amylomyces sp.*	A_{29}
35	ชัยภูมิ	ข้าวหมัก	*Aspergillus sp.*	As_{13}
36	กาฬสินธุ์	ข้าวหมัก	*Amylomyces sp.*	A_{30}
37	ขอนแก่น	ข้าวหมัก	*Amylomyces sp.*	A_{31}
			Aspergillus sp.	As_{14}
38	เลย	เหล้า	*Amylomyces sp.*	A_{32}
			Mucor sp.	M_5
39	นครพนม	เหล้า	*Amylomyces sp.*	A_{33}
40	ร้อยเอ็ด (1)	ข้าวหมัก	*Amylomyces sp.*	A_{34}
			Aspergillus sp.	As_{15}
41	ร้อยเอ็ด (2)	ข้าวหมัก	*Amylomyces sp.*	A_{35}
			Aspergillus sp.	As_{16}
42	สุรินทร์ (1)	ข้าวหมัก	*Amylomyces sp.*	A_{36}
43	สุรินทร์ (2)	เหล้า	*Amylomyces sp.*	A_{37}
			Mucor sp.	M_6
			Aspergillus sp.	As_{17}
44	อุดร	เหล้า	*Rhizopus oryzae*	R_1**

** สายพันธุ์ที่นำมาใช้ในการทดลอง

ตารางที่ 1 (ต่อ)

ลำดับที่	แหล่งที่ได้ลูกแป้ง	ชนิดของลูกแป้ง	สกุลของราที่สร้างสายใย	ชื่อย่อของสายพันธุ์
	ภาคใต้			
45	ชุมพร	ข้าวหมัก	*Amylomyces* sp.	A_{38}
46	นครศรีธรรมราช	เหล้า	*Amylomyces* sp.	A_{39}
			Rhizopus oryzae	R_{11}**
47	เพชรบุรี (1)	ข้าวหมัก	*Amylomyces* sp.	A_{40}
48	เพชรบุรี (2)	น้ำส้ม	*Amylomyces* sp.	A_{41}
49	สงขลา	เหล้า	*Amylomyces* sp.	A_{42}
50	สุราษฎร์ธานี (สมุย 1)	เหล้า	*Rhizopus oryzae*	R_6**
51	สุราษฎร์ธานี (สมุย 2)	ข้าวหมัก	*Amylomyces* sp.	A_{43}
52	ยะลา	เหล้า	*Amylomyces* sp.	A_{44}

** สายพันธุ์ที่นำมาใช้ในการทดลอง

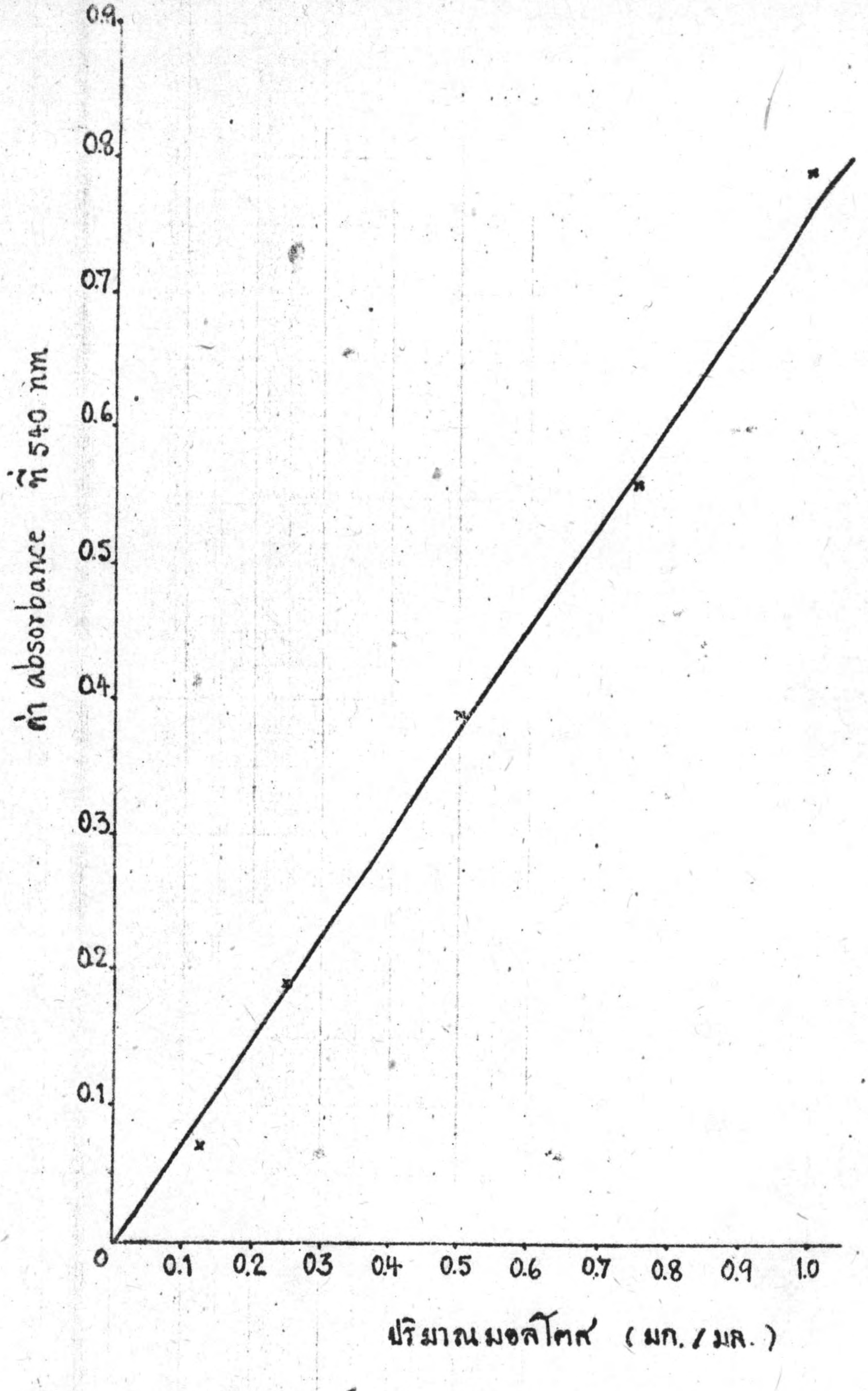
Rhizopus sp. จำนวน 11 สายพันธุ์ ที่นำมาใช้ในการทดลองได้ถูกจำแนกถึงสกุล โดย Identification Services Commonwealth Mycological Institute (England)

การตรวจหาปริมาณรีดิวซิงชูการ์ทั้งหมดเพื่อใช้คัดสายพันธุ์

เชื้อ Rhizopus sp. ทั้งหมดจำนวน 11 สายพันธุ์ ได้แก่ R_1 R_2 R_3 R_4 R_5 R_6 R_7 R_8 R_9 R_{10} และ R_{11} ให้รีดิวซิงชูการ์ปริมาณแตกต่างกัน ในช่วงระยะเวลาต่าง ๆ กันของการบ่มเชื้อ จากตารางที่ 4 พบว่าปริมาณรีดิวซิงชูการ์เพิ่มขึ้นสูงสุดในวันที่ 4 ของการบ่มเชื้อ และในวันที่ 6 8 และ 10 ของการบ่มเชื้อ ปริมาณรีดิวซิงชูการ์ลดลงเป็นลำดับ สายพันธุ์ที่ดีที่สุดคือ R_8 และรองลงมาคือ R_3 ซึ่งให้ปริมาณรีดิวซิงชูการ์สูงสุด ในวันที่ 4 เท่ากับ 1.66 มก.และ 1.59 มก. ตามลำดับ จากกราฟที่ 2 แสดงให้เห็นว่า สายพันธุ์ที่ให้ความสามารถของแอมีเลสสูง 6 สายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ R_8 R_3 R_9 R_2 R_5 และ R_7 ตามลำดับ

ตารางที่ 2 แสดงปริมาณมอลโตส (มก.) และค่า absorbance ที่วัดได้ที่ 540 nm เมื่อใช้มอลโตส 0.125 0.25 0.5 0.75 และ 1.0 มก./มล.

ปริมาณมอลโตส (มก./มล.)	ค่า absorbance ที่ 540 nm
0.125	0.052
0.250	0.190
0.500	0.390
0.750	0.550
1.000	0.790



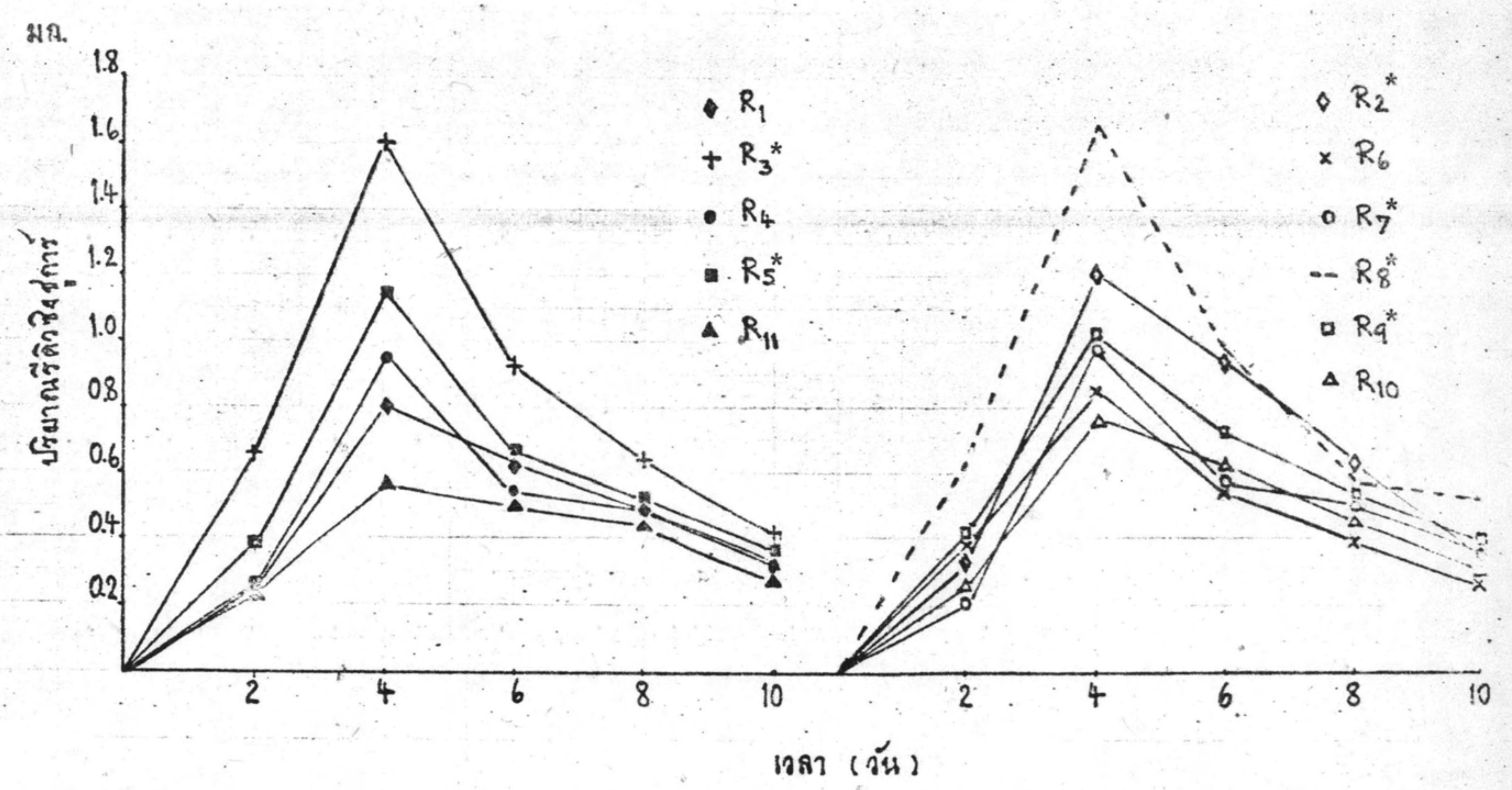
กราฟที่ 1 กราฟมาตรฐานรีดิวซิงซูการ์ โดยวิธีของ Bernfeld (1951) ใช้ความเข้มข้นของมอลโตส 0.125 0.25 0.50 0.75 และ 1.0 มก./มล. วัดค่า absorbance ที่ 540 nm

ตารางที่ 3 แสดงค่า absorbance ที่ 540 nm. ซึ่งได้จากการหมักข้าวเหนียว 20 กรัม กับรา Rhizopus sp. จำนวน 11 สายพันธุ์ โดยใช้จำนวนสปอร์เท่ากับ 5.0×10^6 สปอร์/มล. ตรวจผลในระยะเวลา 2 4 6 8 และ 10 วัน

ชื่อยอสายพันธุ์	ค่า absorbance (ที่ 540 nm)				
	2 วัน	4 วัน	6 วัน	8 วัน	10 วัน
R_1	0.185	0.620	0.480	0.380	0.240
R_2	0.250	0.920	0.720	0.480	0.285
R_3	0.500	1.230	0.710	0.490	0.320
R_4	0.190	0.725	0.418	0.370	0.240
R_5	0.290	0.880	0.500	0.400	0.270
R_6	0.300	0.640	0.420	0.300	0.200
R_7	0.155	0.750	0.440	0.390	0.270
R_8	0.486	1.280	0.750	0.440	0.400
R_9	0.310	0.840	0.550	0.410	0.290
R_{10}	0.190	0.580	0.470	0.420	0.220
R_{11}	0.180	0.430	0.400	0.350	0.210

ตารางที่ 4 แสดงปริมาณรีดิวซิงชูการ์ทั้งหมดเป็น มก. ที่ได้จากการหมักข้าวเหนียว20 กรัม กับรา *Rhizopus* sp.11สายพันธุ์ ด้วยจำนวนสปอร์5.0 X 10^6 สปอร์/มล. ตรวจผลในระยะเวลา 2 4 6 8 และ 10 วัน

ชื่อย่อสายพันธุ์	ปริมาณรีดิวซิงชูการ์ทั้งหมด (มก.)				
	2 วัน	4 วัน	6 วัน	8 วัน	10 วัน
	0.240	0.810	0.630	0.500	0.320
R_2	0.330	1.200	0.940	0.630	0.365
R_3	0.655	1.590	0.930	0.640	0.420
R_4	0.250	0.950	0.550	0.490	0.320
R_5	0.380	1.150	0.655	0.525	0.360
R_6	0.385	0.840	0.550	0.395	0.265
R_7	0.205	0.980	0.580	0.510	0.360
R_8	0.635	1.660	0.980	0.580	0.525
R_9	0.410	1.100	0.720	0.540	0.380
R_{10}	0.250	0.760	0.615	0.550	0.290
R_{11}	0.240	0.565	0.525	0.460	0.280



กราฟที่ 2 แสดงปริมาณรีดิวซิงชูการ์ ทั้งหมดเป็น มก./มล. ที่ได้จากการหมักข้าวเหนียว 20 ก. กับรา Rhizopus sp. จำนวน 11 สายพันธุ์ ด้วยจำนวนสปอร์ $20 \times 25 \times 10^4$ สปอร์/มล. เป็นเวลา 2 4 6 8 และ 10 วัน ตามลำดับ

*สายพันธุ์ที่นำไปใช้ในการทดลอง

การศึกษาเกี่ยวกับการเจริญเติบโต และช่วงระยะเวลาในการสร้างสปอร์ของเชื้อรา Rhizopus sp.

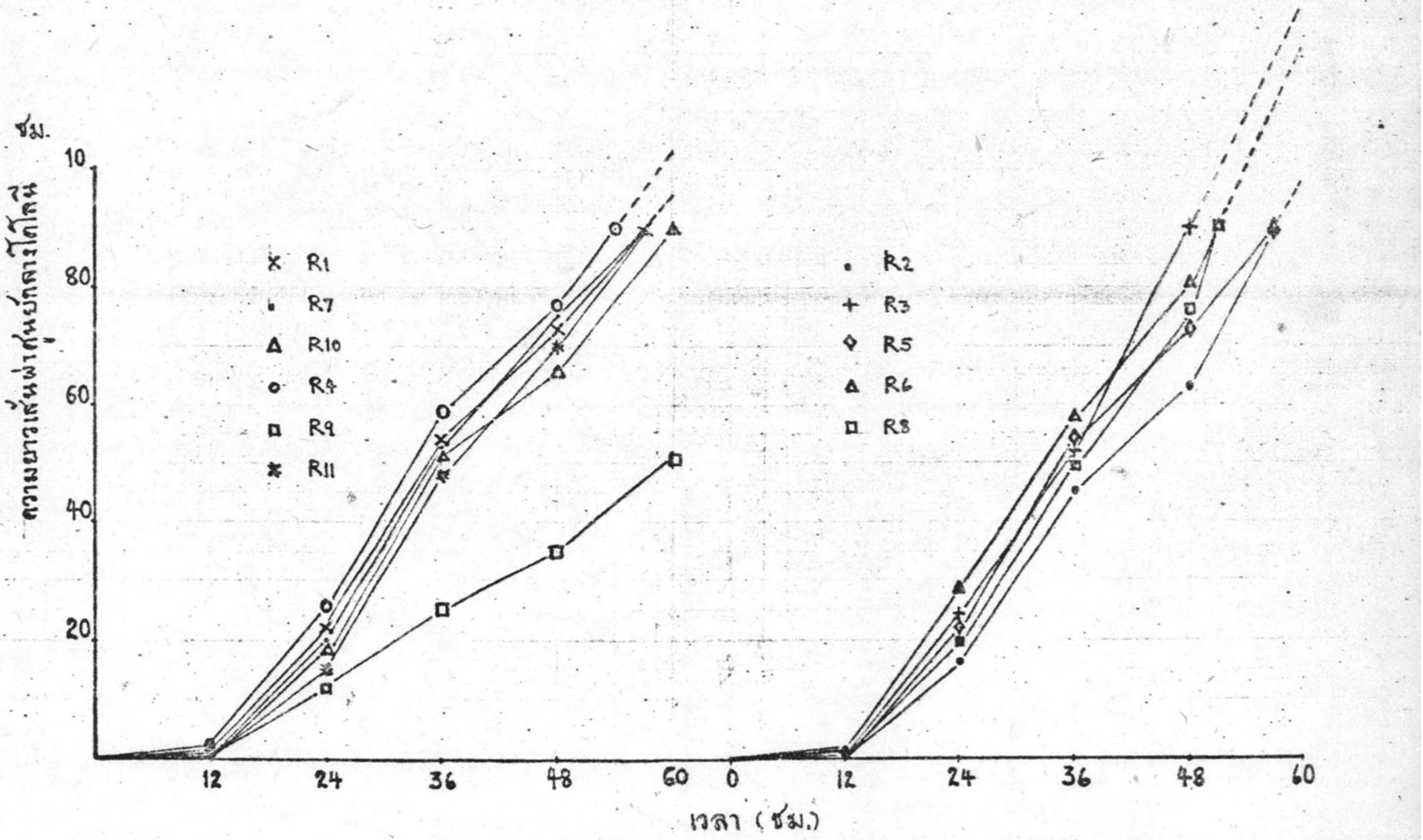
เริ่มสังเกตเห็นการเจริญของราใน 12 ชม. หลังจากการบ่มเชื้อ บางสายพันธุ์วัดความยาวของเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีได้ แต่บางสายพันธุ์ยังวัดความยาวของเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีไม่ได้ จากตารางที่ 5 สายพันธุ์ R_1 R_4 และ R_6 เริ่มมีการเจริญเติบโตเร็วกว่าสายพันธุ์อื่น ๆ คือใน 12 ชม. หลังจากการบ่มเชื้อ ความยาวของเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของสายพันธุ์ R_1 R_4 และ R_6 เท่ากับ 0.1 0.2 และ 0.2 ซม. ตามลำดับ ส่วนสายพันธุ์อื่น ๆ ยังวัดความยาวของเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีไม่ได้ ในชม.ที่ 15 วัดความยาวของเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีได้ทุกสายพันธุ์ ในชม.ที่ 18 หลังจากการบ่มเชื้อ เริ่มสังเกตเห็นมีการสร้างอับสปอร์ในสายพันธุ์ R_1 R_3 R_4 R_5 R_6 R_7 R_{10} และ R_{11} ส่วนสายพันธุ์ R_2 R_8 และ R_9 สร้างอับสปอร์ในชม.ที่ 21 หลังจากการบ่มเชื้อ สีของอับสปอร์ของทุกสายพันธุ์เริ่มเปลี่ยนเป็นสีเทาใน ชม.ที่ 24 หลังจากการบ่มเชื้อ และเปลี่ยนเป็นสีดำใน ชม.ที่ 27 หลังจากการบ่มเชื้อ หลังจากนี้ความยาวของเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีก็เพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ ด้วยอัตราไม่เท่ากัน จากกราฟที่ 3 สังเกตเห็นการเจริญเติบโตของ Rhizopus sp. ทั้ง 11 สายพันธุ์ไม่เท่ากัน สายพันธุ์ R_9 มีการเจริญเติบโตช้าที่สุด สายพันธุ์อื่น ๆ มีการเจริญเติบโตใกล้เคียงกัน สายพันธุ์ R_3 มีการเจริญเติบโตดีกว่าทุกสายพันธุ์ โดยที่เจริญเต็มจานเลี้ยงเชื้อในเวลา 48 ชม. หลังจากบ่มเชื้อ สายพันธุ์ R_6 และ R_8 เจริญเต็มจานเลี้ยงเชื้อในเวลา 51 ชม. หลังจากบ่มเชื้อ สายพันธุ์ R_4 เจริญเต็มจานเลี้ยงเชื้อในเวลา 54 ชม. หลังจากบ่มเชื้อ และสายพันธุ์ R_1 R_2 R_5 R_7 เจริญเต็มจานเลี้ยงเชื้อในเวลา 57 ชม. หลังจากบ่มเชื้อ สายพันธุ์ R_{10} R_{11} เจริญเต็มจานเลี้ยงเชื้อในเวลา 60 ชม. หลังจากบ่มเชื้อ สายพันธุ์ R_8 เจริญเติบโตช้าที่สุดมีความกว้างของโคโลนีเพียง 5.1 ซม. ในเวลา 60 ชม. หลังจากบ่มเชื้อ

ตารางที่ 5 การเจริญเติบโตแบบเส้นตรง (linear growth) โดยวัดความกว้างของโคโลนี และแสดงช่วงเวลาที่พบการสร้างอับสปอร์ รวมทั้งการเปลี่ยนแปลงสีของอับสปอร์ของรา*Rhizopus* sp. จำนวน 11 สายพันธุ์ เมื่อเลี้ยงบนอาหารแป้งข้าวจ้าว

เวลาที่วัดการเจริญเติบโต (ชั่วโมง)	ความกว้างของโคโลนี (ซม.)										
	ชื่อสายพันธุ์										
	R_1	R_2	R_3	R_4	R_5	R_6	R_7	R_8	R_9	R_{10}	R_{11}
1-11	ยังไม่มีการเพิ่มความกว้างของโคโลนี										
12	0.1	+	+	0.2	+	0.2	+	+	+	+	+
15	0.5	0.2	0.3	0.6	0.3	0.6	0.2	0.2	0.1	0.3	0.3
18	△1.0	0.6	△1.2	△1.2	△0.9	△1.1	△0.8	0.6	0.5	△0.7	△0.8
21	2.1	△1.5	2.0	2.4	2.2	2.0	1.9	△1.7	△1.1	1.8	1.0
24*	2.2	1.6	2.4	2.5	2.2	2.8	1.9	1.9	1.2	2.0	1.5
27**	3.2	3.0	2.8	3.7	3.5	3.0	3.0	2.2	1.7	2.5	2.4
30**	3.7	4.0	3.7	4.6	4.0	4.0	4.0	3.7	2.0	4.0	3.9
33**	4.9	4.1	4.6	5.2	4.6	4.5	4.8	4.1	2.3	4.5	4.7
36**	5.4	4.5	5.2	5.9	5.3	5.8	5.3	5.0	2.5	5.1	4.8
39**	5.9	4.9	5.8	6.3	6.1	5.9	5.8	5.7	2.8	5.7	5.9
42**	6.4	5.7	6.2	7.0	6.5	6.3	6.7	6.6	3.1	5.9	6.1
45**	7.3	6.1	7.3	7.5	7.0	7.5	7.2	7.1	3.2	6.2	6.4
48**	7.3	6.3	9.0	7.7	7.3	8.0	7.5	7.5	3.5	6.6	7.0
51**	7.6	7.0	9.0	8.0	7.5	9.0	7.7	9.0	3.8	7.0	7.2
54**	8.3	7.9	9.0	9.0	8.5	9.0	8.2	9.0	4.5	7.7	8.2
57**	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0	4.7	8.5	9.0
60**	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0	5.1	9.0	9.0

\+ มีการงอกแต่ยังวัดความกว้างของโคโลนีไม่ได้ △ เริ่มสร้างอับสปอร์

* สีอับสปอร์เปลี่ยนเป็นสีเทา ** สีอับสปอร์เปลี่ยนเป็นสีดำ



<u>กราฟที่ 3</u> การเจริญเติบโตของ <u>Rhizopus</u> <u>sp.</u> 11 สายพันธุ์ เมื่อเลี้ยงในอาหารแป้งข้าวจ้าว วัดความยาวของเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีทุก 3 ชม. จนถึง ชม. ที่ 60 ที่อุณหภูมิ 30 ± 2°ซ.
(------- = เจริญเต็มจานเลี้ยงเชื้อก่อน 60 ชม.)

การเปรียบเทียบปริมาณรีคิวซิงชูการ์ทั้งหมดที่สร้างโดยสายพันธุ์ R_3 และ R_8 เมื่อปลูกเชื้อด้วยจำนวนสปอร์ต่างกัน

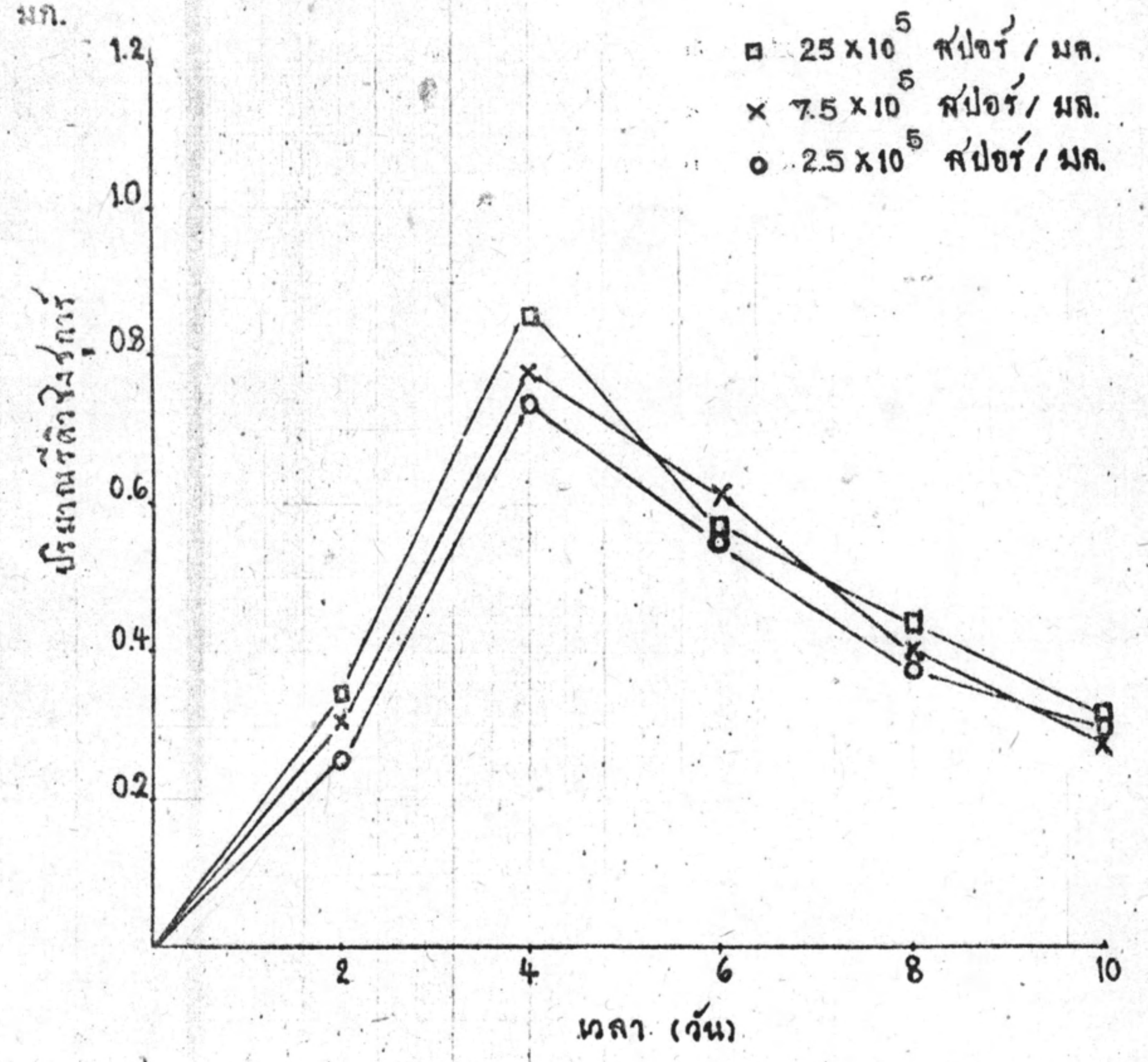
จากตารางที่ 6 แสดงให้เห็นว่ารีคิวซิงชูการ์ทั้งหมดที่สร้างโดยราทั้ง 2 สายพันธุ์ เมื่อปลูกเชื้อด้วยสปอร์จำนวนมาก มีปริมาณมากกว่ารีคิวซิงชูการ์ทั้งหมดที่สร้างเมื่อปลูกเชื้อด้วยสปอร์จำนวนน้อยในเวลา 2 และ 4 วันของการบ่มเชื้อ แต่ปริมาณรีคิวซิงชูการ์ทั้งหมดที่สร้างในเวลา 6 8 และ 10 วันหลังการบ่มเชื้อใกล้เคียงกัน ถึงแม้ว่าจะปลูกเชื้อด้วยจำนวนสปอร์ต่างกัน ในวันที่ 2 และวันที่ 4 ของการบ่มเชื้อ เมื่อปลูกเชื้อ *R. oryzae* สายพันธุ์ R_3 ด้วยจำนวนสปอร์ 25 x 10^5 สปอร์/มล. จะได้รีคิวซิงชูการ์ปริมาณมากกว่า เมื่อปลูกเชื้อด้วยจำนวนสปอร์ 7.5 x 10^5 สปอร์/มล. และ 2.5 x 10^5 สปอร์/มล. ตามลำดับ และในทำนองเดียวกัน ในวันที่ 2 และวันที่ 4 ของการบ่มเชื้อ เมื่อปลูกเชื้อ *R. oryzae* สายพันธุ์ R_8 ด้วยจำนวนสปอร์25 x 10^5 สปอร์/มล. จะได้รีคิวซิงชูการ์ปริมาณมากกว่าเมื่อปลูกเชื้อด้วยจำนวนสปอร์ 5.0 x 10^5 สปอร์/มล. และ 2.5 x 10^5 สปอร์/มล. ตามลำดับ

จากกราฟที่ 4 และกราฟที่ 5 แสดงให้เห็นว่าปริมาณรีคิวซิงชูการ์ซึ่งสร้างโดยสายพันธุ์ R_3 และ R_8 สูงสุด ในวันที่ 4 แล้วลดลงในวันที่ 6 8 และ 10ตามลำดับ

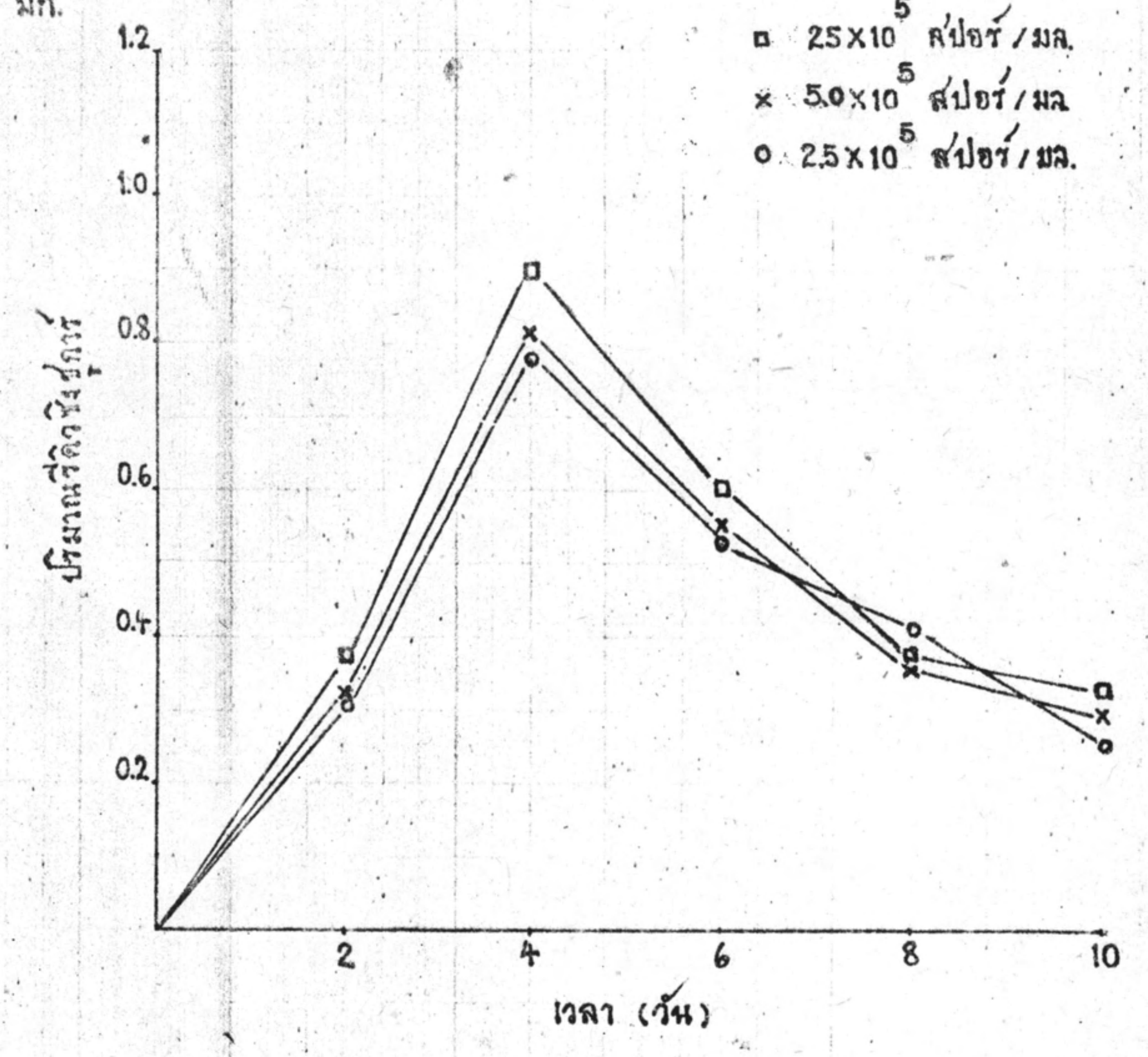
ตารางที่ 6 ปริมาณรีดิวซิงชูการ์ทั้งหมดวัดเป็น มก./มล. ที่สร้างโดย R. oryzae สายพันธุ์ R_3 และ R_8 ที่หมักในข้าวเหนียว 20 กรัม โดยใส่สปอร์จำนวนต่าง ๆ กัน ตรวจผลในเวลา 2 4 6 8 และ 10 วัน

เวลาที่ตรวจผล (วัน)	ปริมาณรีดิวซิงชูการ์ (มก./มล.) ของสายพันธุ์ R_3		
	จำนวนสปอร์ที่ใช้ปลูกเชื้อ = 2.5×10^5 สปอร์/มล.	จำนวนสปอร์ที่ใช้ปลูกเชื้อ = 7.5×10^5 สปอร์/มล.	จำนวนสปอร์ที่ใช้ปลูกเชื้อ = 25×10^5 สปอร์/มล.
2	0.250	0.305	0.340
4	0.740	0.780	0.850
6	0.550	0.610	0.570
8	0.380	0.400	0.440
10	0.300	0.280	0.320

เวลาที่ตรวจผล (วัน)	ปริมาณรีดิวซิงชูการ์ (มก./มล.) ของสายพันธุ์ R_8		
	จำนวนสปอร์ที่ใช้ปลูกเชื้อ = 2.5×10^5 สปอร์/มล.	จำนวนสปอร์ที่ใช้ปลูกเชื้อ = 5.0×10^5 สปอร์/มล.	จำนวนสปอร์ที่ใช้ปลูกเชื้อ = 25×10^5 สปอร์/มล.
2	0.315	0.320	0.375
4	0.780	0.815	0.900
6	0.530	0.550	0.600
8	0.420	0.360	0.380
10	0.260	0.290	0.330



<u>กราฟที่ 4</u> แสดงปริมาณรีดิวซิงชูการ์ ทั้งหมดวัดเป็น มก./มล. ที่สร้างโดย *R. oryzae* สายพันธุ์ R3 ในเวลา 2 4 6 8 และ 10 วัน เมื่อปลูกเชื้อด้วยจำนวนสปอร์แตกต่างกัน



<u>กราฟที่ 5</u> แสดงปริมาณรีดิวซิงซูการ์ทั้งหมดวัดเป็น มก./มล. ที่สร้างโดย <u>R. oryzae</u> สายพันธุ์ R_8 ในเวลา 2 4 6 8 และ 10 วัน เมื่อปลูกเชื้อด้วยจำนวนสปอร์แตกต่างกัน

ตารางที่ 7 ปริมาณรีดิวซิงชูการ์ที่เพิ่มขึ้นหลังจากนึ่งฆ่าเชื้ออาหารเลี้ยงเชื้อด้วยหม้ออบความดัน ที่อุณหภูมิ 121° ซ. ความดัน 10 ปอนด์ต่อตารางนิ้วนาน 15 นาที

ชนิดและปริมาณสารประกอบ	ค่า absorbance ที่ 540nm.	ปริมาณรีดิวซิงชูการ์ (มก./มล.)
1 % ซูโครส	0.003	0.005
3 % ซูโครส	0.025	0.040
5 % แป้งข้าวจ้าว	0	0
5 % แป้งข้าวเหนียว	0.013	0.020
2 % กลูโคส	0	0

จากตารางที่ 7 แสดงให้เห็นว่าสารประเภทโพลี่แซคคาไรด์และไดแซคคาไรด์บางชนิดถูก ย่อยสลายให้เป็นสารที่มีโมเลกุลเล็กลง และเป็นรีดิวซิงชูการ์ได้ด้วยความร้อนและความดัน จะเห็นว่าน้ำตาลซูโครสซึ่งเป็นไดแซคคาไรด์ถูกย่อยสลายบางส่วนด้วยความร้อนและความดัน แล้วได้รีดิวซิงชูการ์ เมื่อความเข้มข้นของซูโครสมากขึ้น ก็จะถูกย่อยสลายได้รีดิวซิงชูการ์มากขึ้น ซูโครส 1% ถูกย่อยสลายได้รีดิวซิงชูการ์ 0.005 มก./มล. ซูโครส 3% ถูกย่อยสลายได้รีดิวซิงชูการ์ 0.040 มก./มล. แป้งข้าวจ้าว 5% ไม่มีส่วนถูกย่อยสลาย แป้งข้าวเหนียว 5% ถูกย่อยสลายได้รีดิวซิงชูการ์ 0.020 มก./มล. ส่วนกลูโคสซึ่งเป็นรีดิวซิงชูการ์ไม่ถูกย่อยสลายได้ต่อไปอีก

<u>การศึกษาสูตรอาหารที่กระตุ้นให้เชื้อราสร้างสปอร์จำนวนมาก</u>

ก. <u>แหล่งคาร์บอน</u> จากตารางที่ 8 และกราฟที่ 7 แสดงให้เห็นว่าสูตรอาหารที่ 3 ซึ่งประกอบด้วย แป้งข้าวจ้าว 5% กับ กลูโคส 2% และสูตรอาหารที่ 5 ซึ่งประกอบด้วย แป้งข้าวจ้าว 5% กับ ซูโครส 3% ให้ผลดีที่สุด ทำให้เชื้อราสร้างสปอร์จำนวนมากใกล้เคียงกัน เชื้อราสร้างสปอร์บนสูตรอาหารที่ 1 ซึ่งประกอบด้วย แป้งข้าวจ้าว 5% บนสูตรอาหารที่ 2 ซึ่งประกอบด้วย แป้งข้าวจ้าว 3% แป้งข้าวเหนียว 2% และบนสูตรอาหารที่ 4 ซึ่งประกอบด้วยแป้งข้าวจ้าว 5% ซูโครส 1% มีจำนวนใกล้เคียงกัน เชื้อราสร้างสปอร์จำนวนสูงสุดบนสูตรอาหารที่ 3 4 และ 5 ในวันที่ 4 ของการบ่มเชื้อ และจำนวนสปอร์ลดลง ในวันที่ 5 และ 6 ของการบ่มเชื้อ เชื้อราสร้างสปอร์จำนวนสูงสุดบนสูตรอาหารที่ 1 และ 2 ในวันที่ 5 ของการบ่มเชื้อ และจำนวนสปอร์ลดลงในวันที่ 6 ของการบ่มเชื้อ จากกราฟที่ 6 แสดงให้เห็นว่า เชื้อราทั้ง 6 สายพันธุ์ มีความแตกต่างในการสร้างจำนวนสปอร์ เมื่อเลี้ยงบนอาหารแหล่งคาร์บอนชนิดเดียวกัน สายพันธุ์ R_2 สร้างสปอร์จำนวนมากที่สุด รองลงมา คือ สายพันธุ์ R_5 R_7 R_9 R_8 และ R_3 ตามลำดับ โดยที่จำนวนสปอร์ที่สร้างเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ และมากที่สุดในวันที่ 4 ต่อจากนั้นในวันที่ 5 และวันที่ 6 จำนวนสปอร์ลดลง

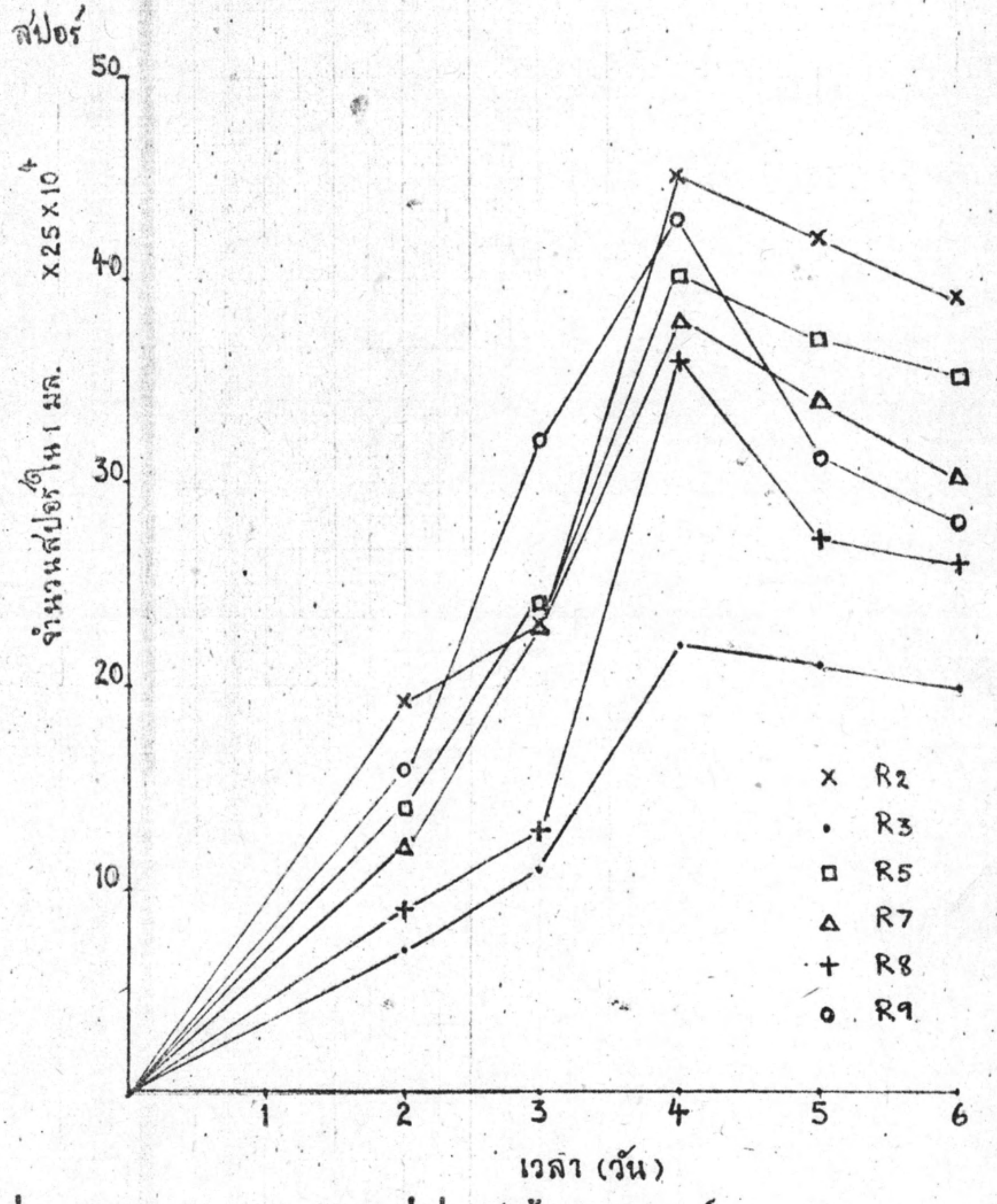
การวิเคราะห์ทางสถิติ จากตารางที่ 9 แสดงให้เห็นว่า จำนวนสปอร์ที่สร้างขึ้นบนสูตรอาหารที่ 1 และจำนวนสปอร์ที่สร้างขึ้นบนสูตรอาหารที่ 5 มีความแตกต่างเป็นนัยสำคัญทางสถิติที่เชื่อถือได้ (ค่า $P < 0.05$) โดยที่จำนวนสปอร์ที่สร้างบนสูตรอาหารที่ 5 มากกว่าจำนวนสปอร์ที่สร้างบนสูตรอาหารที่ 1

ตารางที่ 8 แสดงจำนวนสปอร์ที่นับได้ ของ R. oryzae สายพันธุ์ R_2 R_3 R_5 R_7 R_8 และ R_9 เมื่อเลี้ยงในสูตรอาหารที่ประกอบด้วยแหล่งคาร์บอนต่างชนิด และปริมาณต่างกัน และนับจำนวนสปอร์หลังจากปลูกในเวลา 2 3 4 5 และ 6 วัน

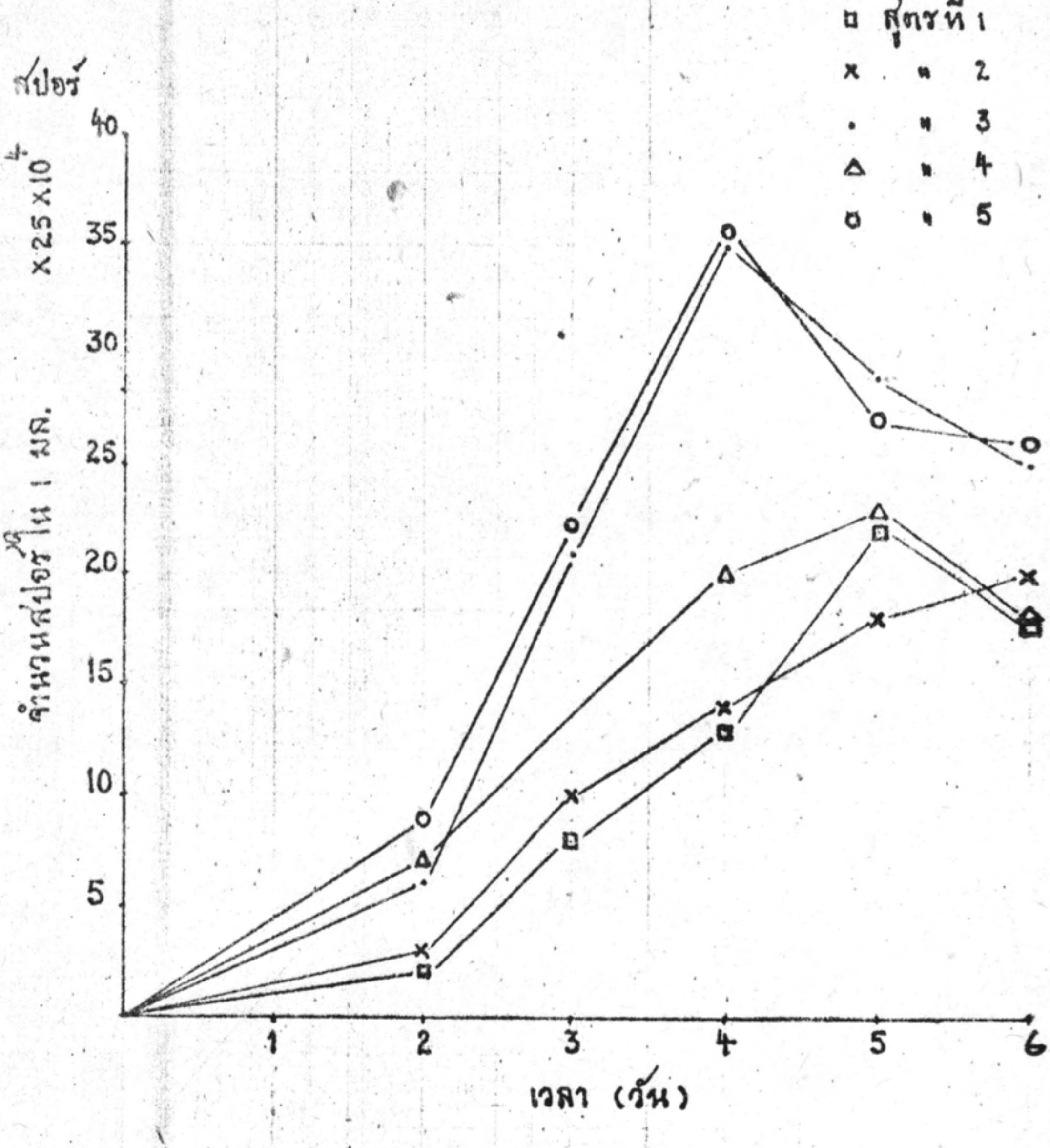
เวลาที่นับสปอร์ (วัน)	จำนวนสปอร์ที่นับได้ 1 มล. (คูณด้วย 2.5×10^5)				
	สูตรที่ 1 แป้งข้าวจ้าว 5%	สูตรที่ 2 แป้งข้าวจ้าว 3% แป้งข้าวเหนียว 2%	สูตรที่ 3 แป้งข้าวจ้าว 5% กลูโคส 2%	สูตรที่ 4 แป้งข้าวจ้าว 5% ซูโครส 1%	สูตรที่ 5 แป้งข้าวจ้าว 5% ซูโครส 3%
สายพันธุ์ R_2					
2	5	6	13	7	19
3	8	9	26	10	23
4	17	15	43	23	45
5	21	22	44	20	42
6	20	19	34	17	39
สายพันธุ์ R_3					
2	4	2	4	3	7
3	7	11	9	8	11
4	13	14	23	16	22
5	16	19	31	20	21
6	15	15	30	18	20
สายพันธุ์ R_5					
2	3	5	12	7	14
3	11	12	25	9	24
4	15	17	38	27	40
5	20	21	28	22	37
6	19	18	27	16	35

ตารางที่ 8 (ต่อ)

เวลาที่นับสปอร์ (วัน)	จำนวนสปอร์ที่นับได้ใน 1 มล. (คูณด้วย 2.5×10^5)				
	สูตรที่ 1 แป้งข้าวจ้าว 5%	สูตรที่ 2 แป้งข้าวจ้าว 3% แป้งข้าวเหนียว 2%	สูตรที่ 3 แป้งข้าวจ้าว 5% กลูโคส 2%	สูตรที่ 4 แป้งข้าวจ้าว 5% ซูโครส 1%	สูตรที่ 5 แป้งข้าวจ้าว 5% ซูโครส 3%
สายพันธุ์ R_7					
2	5	3	19	11	12
3	9	8	26	12	23
4	17	15	41	29	38
5	23	25	31	28	34
6	20	19	32	21	30
สายพันธุ์ R_8					
2	2	3	6	7	9
3	8	10	21	9	23
4	13	14	35	20	36
5	22	18	29	23	27
6	18	20	25	18	26
สายพันธุ์ R_9					
2	4	5	12	8	16
3	11	13	30	12	32
4	15	17	44	21	43
5	23	19	33	17	31
6	21	14	30	13	28



<u>กราฟที่ 6</u> แสดงอิทธิพลของอาหารที่มีต่อการสร้างจำนวนสปอร์ของรา <u>Rhizopus sp.</u> สายพันธุ์ R_2 R_3 R_5 R_7 R_8 และ R_9 เมื่อเลี้ยงเชื้อบนอาหารแข็งที่ประกอบด้วย แป้งข้าวจ้าว 5% ซูโครส 3% ในเวลา 2 3 4 5 และ 6 วัน



กราฟที่ 7 เปรียบเทียบอาหาร 5 สูตร ที่มีแหล่งคาร์บอนต่าง ๆ กัน ซึ่งมีอิทธิพลต่อการสร้างสปอร์ของ *R. oryzae* สายพันธุ์ R_8 โดยนับจำนวนสปอร์ในเวลา 2 3 4 5 และ 6 วัน

ตารางที่ 9 การทดสอบความแตกต่างทางสถิติ โดยใช้ t test เปรียบเทียบสูตรอาหารที่ประกอบด้วยแหล่งคาร์บอนชนิด และปริมาณต่างกัน นับจำนวนสปอร์ที่มีใน 1 มล. ของ *R. oryzae* สายพันธุ์ R_3 และ R_8 บนอาหารแข็ง สูตรที่ 1 และ สูตรที่ 5

เวลาที่นับสปอร์ (วัน)	จำนวนสปอร์ที่นับได้ใน 1 มล. (คูณด้วย 2.5×10^5)					
	สายพันธุ์ R_3			สายพันธุ์ R_8		
	สูตรที่ 1 แป้งข้าวจ้าว 5%	สูตรที่ 5 แป้งข้าวจ้าว 5% ซูโครส 3%	ค่า P ที่ความเชื่อมั่น 95%	สูตรที่ 1 แป้งข้าวจ้าว 5%	สูตรที่ 5 แป้งข้าวจ้าว 5% ซูโครส 3%	ค่า P ที่ความเชื่อมั่น 95%
2	4	7	<0.05	2	9	<0.05
3	7	11	<0.05	8	13	<0.05
4	13	22	<0.05	13	36	<0.05
5	16	21	<0.05	22	27	<0.05
6	15	20	<0.05	18	26	<0.05

ข. แหล่งไนโตรเจน

แอมโมเนียมซัลเฟต จากตารางที่10 และกราฟที่ 9 พบว่า อาหารสูตรที่ 2 ซึ่งประกอบด้วยแอมโมเนียมซัลเฟต 0.03% ทำให้เชื้อราสร้างสปอร์ได้จำนวนมากกว่าสูตรอื่น ๆ ส่วนสูตรที่ 3 4และ 5 ซึ่งประกอบด้วย แอมโมเนียมซัลเฟต 0.05 0.10 และ 0.15% ตามลำดับนั้น ทำให้เชื้อราสร้างสปอร์จำนวนมากขึ้นกว่า สูตรอาหารที่ 1 ซึ่งไม่มีแอมโมเนียมซัลเฟต แต่เป็นเพียงบางระยะของการเจริญเติบโต สูตรอาหารบางสูตร ก็ให้จำนวนสปอร์มากใกล้เคียงกับสูตรอาหารที่ 2 ในบางระยะของการเจริญเติบโต แต่โดยส่วนใหญ่แล้วเห็นได้ว่า สูตรอาหารสูตรที่ประกอบด้วยแอมโมเนียมซัลเฟตปริมาณ 0.03% นั้น ทำให้เชื้อราสร้างสปอร์ได้จำนวนมากกว่าสูตรอาหารอื่น ๆ และเชื้อราสร้างสปอร์จำนวนสูงที่สุดในวันที่ 4 ของการบ่มเชื้อ เป็นส่วนใหญ่ ในวันที่ 5 และ 6 จำนวนสปอร์ค่อนข้างคงที่ หรือลดลง จากกราฟที่ 8 แสดงให้เห็นว่าเชื้อราทั้ง 6 สายพันธุ์มีความแตกต่างกันในระหว่างสายพันธุ์ในการสร้างจำนวนสปอร์ เมื่อเลี้ยงบนอาหารแหล่งไนโตรเจนสูตรเดียวกัน โดยพบว่าสายพันธุ์ R_2 สร้างสปอร์จำนวนมากที่สุด รองลงมาคือ R_9 R_7 R_5 R_8 และ R_3 ตามลำดับ

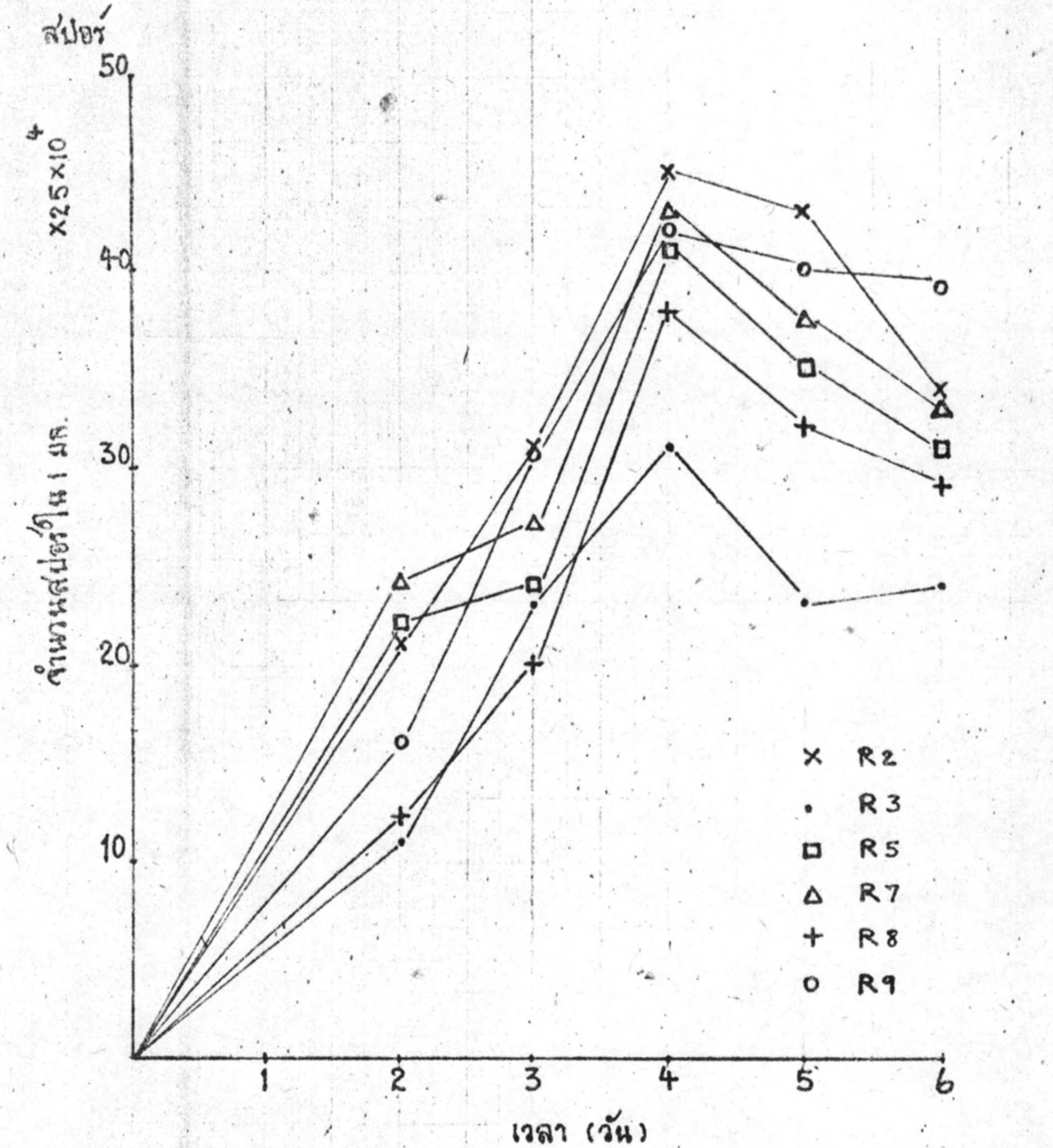
การวิเคราะห์ทางสถิติ จากตารางที่ 11 แสดงให้เห็นว่า จำนวนสปอร์ที่สร้างขึ้นบนสูตรอาหารที่ 2 และจำนวนสปอร์ที่สร้างขึ้นบนสูตรอาหารที่ 1 มีความแตกต่างเป็นนัยสำคัญทางสถิติที่เชื่อถือได้ (ค่า $P < 0.05$) โดยที่จำนวนสปอร์ที่สร้างบนสูตรอาหารที่ 2 มีมากกว่าจำนวนสปอร์ที่สร้างบนสูตรอาหารที่ 1

<u>ตารางที่</u> 10 แสดงจำนวนสปอร์ที่นับได้ของ <u>R. oryzae</u> สายพันธุ์ R_2 R_3 R_5 R_7 R_8 และ R_9 เมื่อเลี้ยงในสูตรอาหารที่ประกอบด้วย แหล่งไนโตรเจน คือ $(NH_4)_2SO_4$ ปริมาณต่างกัน และนับจำนวนสปอร์หลังจากปลูกในเวลา 2 3 4 5 และ 6 วัน

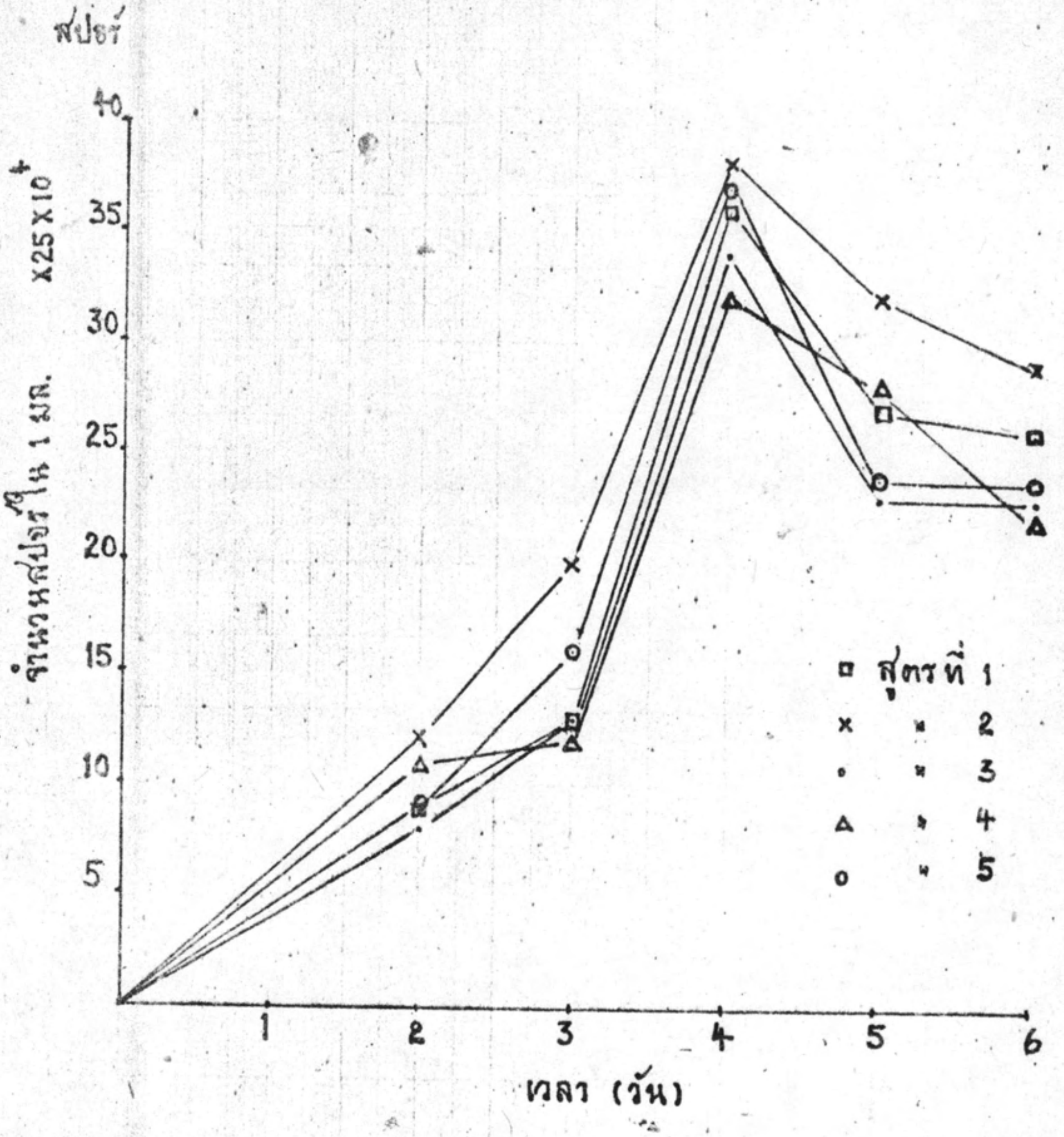
เวลาที่นับสปอร์ (วัน)	จำนวนสปอร์ที่นับได้ใน 1 มล. (คูณด้วย 2.5×10^5)				
	<u>สูตรที่ 1</u> แป้งข้าวจ้าว 5% ซูโครส 3%	<u>สูตรที่ 2</u> แป้งข้าวข้าว 5% ซูโครส 3% $(NH_4)_2SO_4$ 0.03%	<u>สูตรที่ 3</u> แป้งข้าวจ้าว 5% ซูโครส 3% $(NH_2)_2SO_4$ 0.05%	<u>สูตรที่ 4</u> แป้งข้าวจ้าว 5% ซูโครส 3% $(NH_4)_2SO_4$ 0.10 %	<u>สูตรที่ 5</u> แป้งข้าวจ้าว 5% ซูโครส 3% $(NH_4)_2SO_4$ 0.15%
<u>สายพันธุ์</u> R_2					
2	19	21	17	17	24
3	23	31	22	24	30
4	45	45	44	43	41
5	42	43	40	30	36
6	39	34	30	25	32
<u>สายพันธุ์</u> R_3					
2	7	11	8	8	12
3	11	23	12	10	11
4	22	31	20	17	19
5	21	23	18	20	23
6	20	24	16	12	17
<u>สายพันธุ์</u> R_5					
2	12	22	16	11	19
3	23	24	22	26	22
4	38	41	36	32	37
5	34	35	23	22	37
6	20	31	18	21	26

ตารางที่ 10 (ต่อ)

เวลาที่นับสปอร์ (วัน)	จำนวนสปอร์ที่นับได้ใน 1 มล. (คูณด้วย 2.5×10^5)				
	สูตรที่ 1 แป้งข้าวจ้าว 5% ซูโครส 3%	สูตรที่ 2 แป้งข้าวจ้าว 5% ซูโครส 3% $(NH_4)_2SO_4$ 0.03%	สูตรที่ 3 แป้งข้าวจ้าว 5% ซูโครส 3% $(NH_4)_2SO_4$ 0.05%	สูตรที่ 4 แป้งข้าวจ้าว 5% ซูโครส 3% $(NH_4)_2SO_4$ 0.10 %	สูตรที่ 5 แป้งข้าวจ้าว 5% ซูโครส 3% $(NH_4)_2SO_4$ 0.15%
สายพันธุ์ R_7					
2	14	24	17	14	18
3	24	27	23	28	25
4	40	43	39	37	41
5	37	37	25	34	34
6	35	33	23	29	32
สายพันธุ์ R_8					
2	9	12	8	11	9
3	13	20	12	12	16
4	36	38	34	32	37
5	27	32	23	28	24
6	26	29	23	22	24
สายพันธุ์ R_9					
2	16	16	13	17	12
3	32	31	27	24	34
4	43	42	30	32	33
5	31	40	28	31	30
6	22	39	27	26	22



กราฟที่ 8 แสดงอิทธิพลของอาหารที่มีต่อการสร้างจำนวนสปอร์ของรา *Rhizopus sp.* สายพันธุ์ R_2 R_3 R_5 R_7 R_8 และ R_9 เมื่อเลี้ยงเชื้อบนอาหารแข็งที่ประกอบด้วย แป้งข้าวจ้าว 5% ซูโครส 3% และ $(NH_4)_2SO_4$ 0.3 ก./ล. ในเวลา 2 3 4 5 และ 6 วัน



กราฟที่ 9 เปรียบเทียบอาหารที่มีแหล่งไนโตรเจน คือ $(NH_4)_2SO_4$ ต่างกัน 5 สูตร (ปริมาณของ $(NH_4)_2SO_4$ เท่ากับ 0 0.3 0.5 1.0 และ 1.5 ก./ล. ตามลำดับ) มีอิทธิพลต่อการสร้างจำนวนสปอรของ *R. oryzae* สายพันธุ์ R_8 โดยนับจำนวนสปอร์ในเวลา 2 3 4 5 และ 6 วัน

ตารางที่ 11 แสดงการทดสอบความแตกต่างทางสถิติ โดยใช้ t test เปรียบเทียบสูตรอาหารที่ประกอบด้วย แหล่งไนโตรเจน คือ $(NH_4)_2SO_4$ ปริมาณต่างกัน นับจำนวนสปอร์ที่มีใน 1 มล. ของ R. oryzae R_3 และ R_8 บนอาหารแข็งสูตรที่ 1 และสูตรที่ 2

เวลาที่นับสปอร์ (วัน)	จำนวนสปอร์ที่นับได้ใน 1 มล. (คูณด้วย 2.5×10^5)					
	สายพันธุ์ R_3			สายพันธุ์ R_8		
	สูตรที่ 1 แป้งข้าวจ้าว 5% ซูโครส 3%	สูตรที่ 2 แป้งข้าวจ้าว 5% ซูโครส 3% $(NH_4)_2SO_4$ 0.03%	ค่า P ที่ความเชื่อมั่น 95%	สูตรที่ 1 แป้งข้าวจ้าว 5% ซูโครส 3%	สูตรที่ 2 แป้งข้าวจ้าว 5% ซูโครส 3% $(NH_4)_2SO_4$ 0.03%	ค่า P ที่ความเชื่อมั่น 95%
2	7	11	<0.05	9	12	<0.05
3	11	23	<0.05	13	20	<0.05
4	22	31	<0.05	36	38	>0.05
5	21	23	>0.05	27	32	<0.05
6	20	24	<0.05	26	29	<0.05

หอสมุดกลาง

<u>แอมโมเนียมไนเตรต</u> จากตารางที่ 12 และกราฟที่ 11 พบว่า โดยส่วนใหญ่ สปอร์ที่สร้างขึ้นบนอาหารสูตรที่ 3 ซึ่งมีแอมโมเนียมไนเตรตปริมาณ 0.05% มีจำนวนมากที่สุด ในสูตรอาหารที่ 2 4 และ 5 ซึ่งมีแอมโมเนียมไนเตรต ปริมาณ 0.3 1.0 และ 1.5 กรัมต่อลิตร ตามลำดับนั้น เชื้อราสร้างสปอร์เพิ่มจำนวนขึ้นเพียงเล็กน้อย สูตรอาหารสูตรที่ 2 และ 4 มีความใกล้เคียงกัน สูตรอาหารที่ 1 ซึ่งไม่มี NH_4NO_3 ประกอบอยู่เลยนั้น ให้จำนวนสปอร์น้อยกว่าสูตรที่ 2 และสูตรที่ 4 เวลาที่เชื้อราสร้างสปอร์ได้สูงสุดคือ ในวันที่ 4 ของการบ่มเชื้อเป็นส่วนใหญ่ โดยเพิ่มขึ้นตามลำดับจากวันที่ 2 วันที่ 3 และในวันที่ 5 วันที่ 6 จำนวนสปอร์ค่อนข้างคงที่หรือลดลง จากกราฟที่ 10 แสดงให้เห็นว่า เชื้อราทั้ง 6 สายพันธุ์ มีความแตกต่างในการสร้างจำนวนสปอร์ในระหว่างสายพันธุ์ เมื่อเลี้ยงบนสูตรอาหารที่มี NH_4NO_3 สูตรเดียวกัน โดยที่พบว่าสายพันธุ์ R_2 ให้สปอร์จำนวนสูงสุด รองลงมาคือ R_9 R_5 R_7 R_8 และ R_3 ตามลำดับ

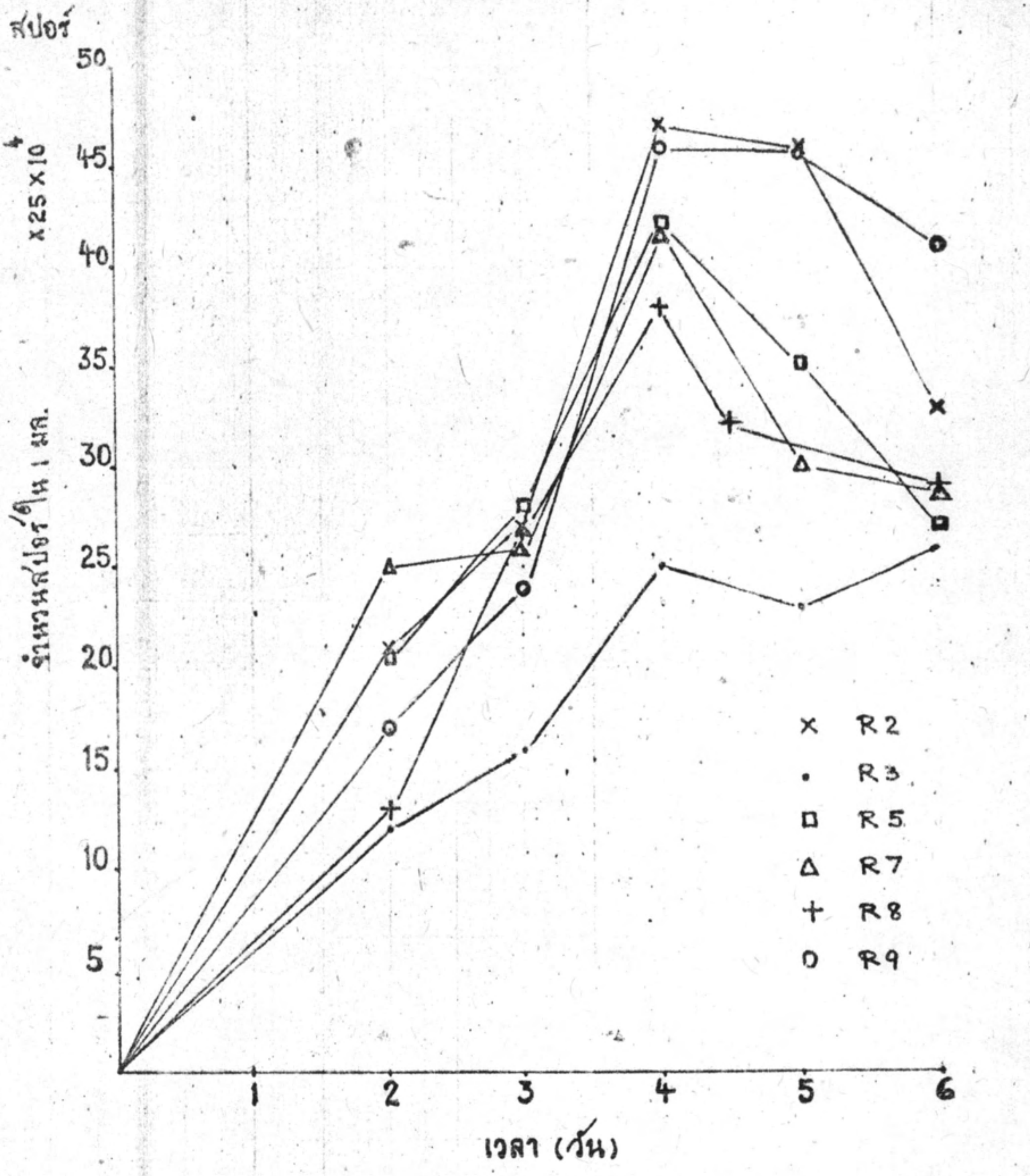
การวิเคราะห์ทางสถิติ จากตารางที่ 13 แสดงให้เห็นว่า จำนวนสปอร์ที่สร้างขึ้นบนสูตรอาหารสูตรที่ 3 และจำนวนสปอร์ที่สร้างบนสูตรอาหารที่ 1 มีความแตกต่างเป็นนัยสำคัญทางสถิติที่เชื่อถือได้ (ค่า $P < 0.05$) โดยที่จำนวนสปอร์ที่สร้างบนสูตรอาหารสูตรที่ 3 มากกว่าจำนวนสปอร์ที่สร้างบนสูตรอาหารสูตรที่ 1

ตารางที่ 12 แสดงจำนวนสปอร์ที่นับได้ ของ R. oryzae สายพันธุ์ R_2 R_3 R_5 R_7 R_8 และ R_9 เมื่อเลี้ยงในสูตรอาหารที่ประกอบด้วยแหล่งไนโตรเจน คือ NH_4NO_3 ปริมาณต่างกัน นับจำนวนสปอร์ หลังจากปลูกในเวลา 2 3 4 5 และ 6 วัน

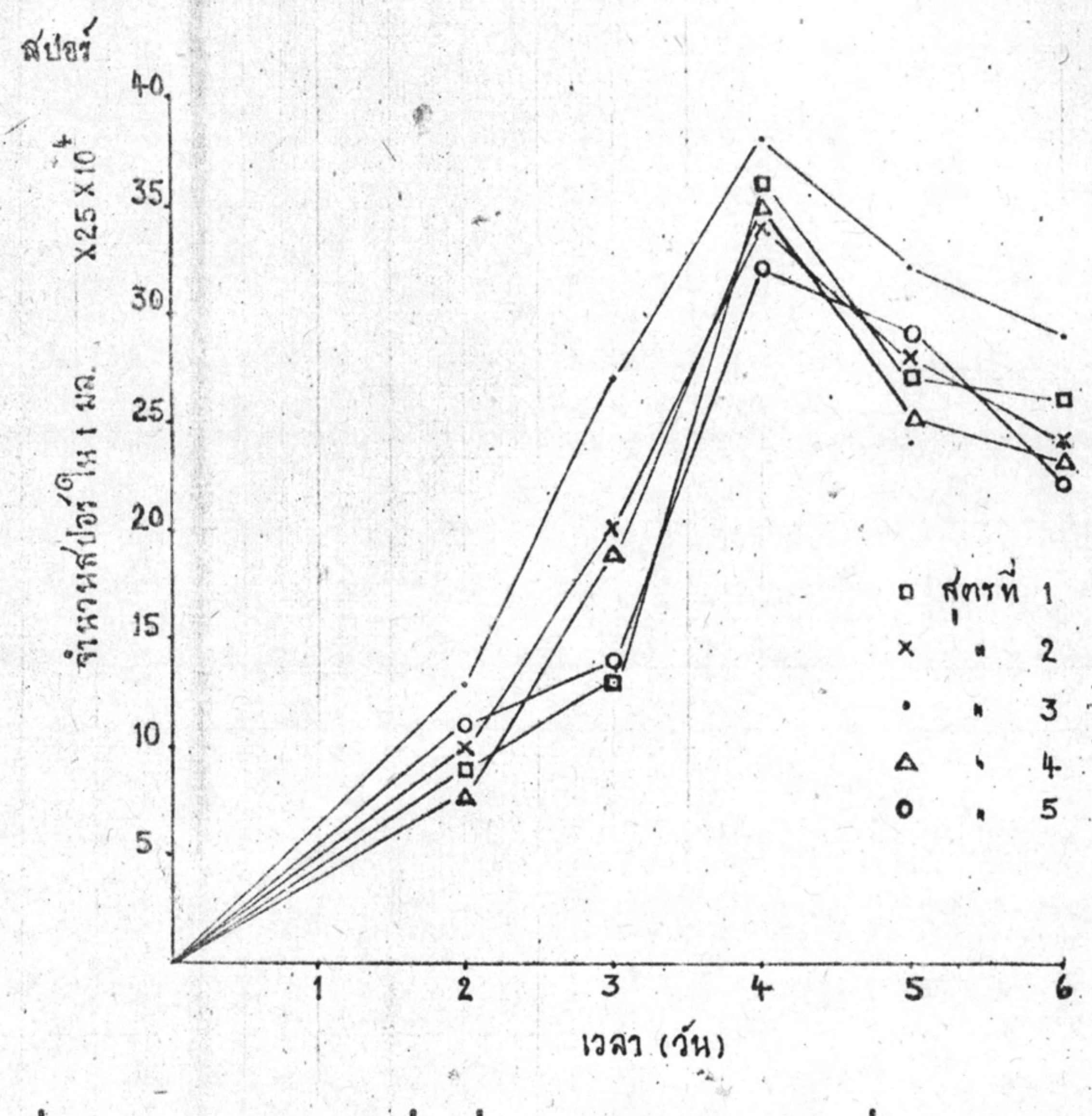
เวลาที่นับสปอร์ (วัน)	จำนวนสปอร์ที่นับได้ใน 1 มล.(คูณด้วย 2.5×10^5)				
	สูตรที่ 1 แป้งข้าวจ้าว 5% ซูโครส 3 %	สูตรที่ 2 แป้งข้าวจ้าว 5% ซูโครส 3 % NH_4NO_3 0.03 %	สูตรที่ 3 แป้งข้าวจ้าว 5% ซูโครส 3 % NH_4NO_3 0.05%	สูตรที่ 4 แป้งข้าวจ้าว 5% ซูโครส 3 % NH_4NO_3 0.10%	สูตรที่ 5 แป้งข้าวจ้าว 5% ซูโครส 3 % NH_4NO_3 0.15%
สายพันธุ์ R_2					
2	19	21	21	23	20
3	23	21	27	22	24
4	45	39	48	47	41
5	42	43	47	40	45
6	39	30	33	31	35
สายพันธุ์ R_3					
2	7	11	12	9	8
3	11	13	16	14	19
4	22	24	25	20	21
5	21	20	23	19	17
6	20	14	26	18	16
สายพันธุ์ R_5					
2	12	15	21	13	16
3	23	20	28	24	28
4	38	40	42	36	37
5	34	38	35	27	26
6	20	29	27	22	24

ตารางที่ 12 (ต่อ)

เวลาที่นับสปอร์ (วัน)	จำนวนสปอร์ที่นับได้ใน 1 มล. (คูณด้วย 2.5 X 10^5)				
	สูตรที่ 1 แป้งข้าวจ้าว 5% ซูโครส 3 %	สูตรที่ 2 แป้งข้าวจ้าว5% ซูโครส 3 % $NH_4NO_3$0.03%	สูตรที่ 3 แป้งข้าวจ้าว5% ซูโครส 3 % $NH_4NO_3$0.05%	สูตรที่ 4 แป้งข้าวจ้าว5% ซูโครส 3 % $NH_4NO_3$0.10%	สูตรที่ 5 แป้งข้าวจ้าว 5% ซูโครส 3 % $NH_4NO_3$0.15%
สายพันธุ์ R_7					
2	14	15	25	14	13
3	24	23	26	23	22
4	40	41	42	32	29
5	37	37	30	27	28
6	35	34	29	26	25
สายพันธุ์ R_8					
2	9	10	13	8	11
3	13	20	27	19	14
4	36	34	38	35	32
5	27	28	32	25	29
6	26	24	29	23	22
สายพันธุ์ R_9					
2	16	17	18	15	10
3	32	25	24	33	23
4	43	43	46	38	31
5	31	22	46	32	27
6	22	20	41	29	21



กราฟที่ 10 แสดงอิทธิพลของอาหารที่มีต่อการสร้างจำนวนสปอร์ของรา *Rhizopus* sp. สายพันธุ์ R_2 R_3 R_5 R_7 R_8 และ R_9 เมื่อเลี้ยงเชื้อบนอาหารแข็งที่ประกอบด้วย แป้งข้าวจ้าว 5% ซูโครส 3% และ NH_4NO_3 0.5 ก./ล. ในเวลา 2 3 4 5 และ 6 วัน



<u>กราฟที่ 11</u> เปรียบเทียบอาหารที่มีแหล่งไนโตรเจน คือ NH_4NO_3 ต่างกัน 5 สูตร (ปริมาณของ NH_4NO_3 เท่ากับ 0 0.3 0.5 1.0 และ 1.5 ก./ล. ตามลำดับ) มีอิทธิพลต่อการสร้างจำนวนสปอร์ของ R. oryzae สายพันธุ์ R_8 โดยนับจำนวนสปอร์ในเวลา 2 3 4 5 และ 6 วัน

ตารางที่ 13 การทดสอบความแตกต่างทางสถิติ โดยใช้ t test เปรียบเทียบสูตรอาหารที่ประกอบด้วยแหล่งไนโตรเจน คือ NH_4NO_3 ปริมาณต่างกัน นับจำนวนสปอร์ที่มีใน 1 มล. ของ R. oryzae สายพันธุ์ R_3 และ R_8 บนอาหารแข็งสูตรที่ 1 และสูตรที่ 3

เวลาที่นับสปอร์ (วัน)	จำนวนสปอร์ที่นับได้ใน 1 มล. (คูณด้วย 2.5×10^5)					
	สายพันธุ์ R_3			สายพันธุ์ R_8		
	สูตรที่ 1 แป้งข้าวจ้าว 5% ซูโครส 3 %	สูตรที่ 3 แป้งข้าวจ้าว 5% ซูโครส 3 % NH_4NO_3 0.05 %	ค่า P ที่ความเชื่อมั่น 95 %	สูตรที่ 1 แป้งข้าวจ้าว 5% ซูโครส 3 %	สูตรที่ 3 แป้งข้าวจ้าว 5% ซูโครส 3 % NH_4NO_3 0.05 %	ค่า P ที่ความเชื่อมั่น 95 %
2	7	12	< 0.05	9	13	< 0.05
3	11	16	< 0.05	13	27	< 0.05
4	22	25	< 0.05	36	38	> 0.05
5	21	23	> 0.05	27	32	< 0.05
6	20	26	< 0.05	26	29	< 0.05

แคซามิโนแอซิด จากตารางที่ 14 และกราฟที่ 13 พบว่า สูตรอาหารสูตรที่ 2 ซึ่งประกอบด้วยแคซามิโนแอซิด ปริมาณ 0.05% ให้จำนวนสปอร์มากกว่าสูตรอาหารสูตรอื่น ๆ สูตรอาหารสูตรที่ 3 และสูตรที่ 4 ซึ่งประกอบด้วย แคซามิ-โนแอซิด ปริมาณ 0.10% และ 0.15% ตามลำดับนั้น ให้จำนวนสปอร์ใกล้เคียงกับกับสูตรอาหารสูตรที่ 2 แต่ในบางระยะเวลาก็ให้จำนวนสปอร์น้อยกว่า ส่วนสูตรอาหารสูตรที่ 5 ซึ่งมีแคซามิโนแอซิด ปริมาณ 0.20% นั้น โดยส่วนใหญ่ สปอร์ซึ่งสร้างขึ้นบนสูตรอาหารนี้ มีจำนวนน้อยกว่าสปอร์ซึ่งสร้างขึ้นบนสูตรอาหารที่ 2 3 และ 4 และพบว่า จำนวนสปอร์สูงสุดที่สร้างขึ้นบนสูตรอาหารทุกสูตร สูงสุดในวันที่ 4 ของการบ่มเชื้อ และลดลงในวันที่ 5 และ 6 จากกราฟที่ 12 แสดงให้เห็นว่า เชื้อราทั้ง 6 สายพันธุ์ มีความแตกต่างในการสร้างจำนวนสปอร์ในระหว่างสายพันธุ์ เมื่อเจริญบนอาหารที่ประกอบด้วยแคซามิโนแอซิดสูตรเดียวกัน โดยพบว่าสายพันธุ์ R_2 ให้จำนวนสปอร์สูงสุด รองลงมา คือ สายพันธุ์ R_7 R_8 R_9 R_5 และ R_3 ตามลำดับ

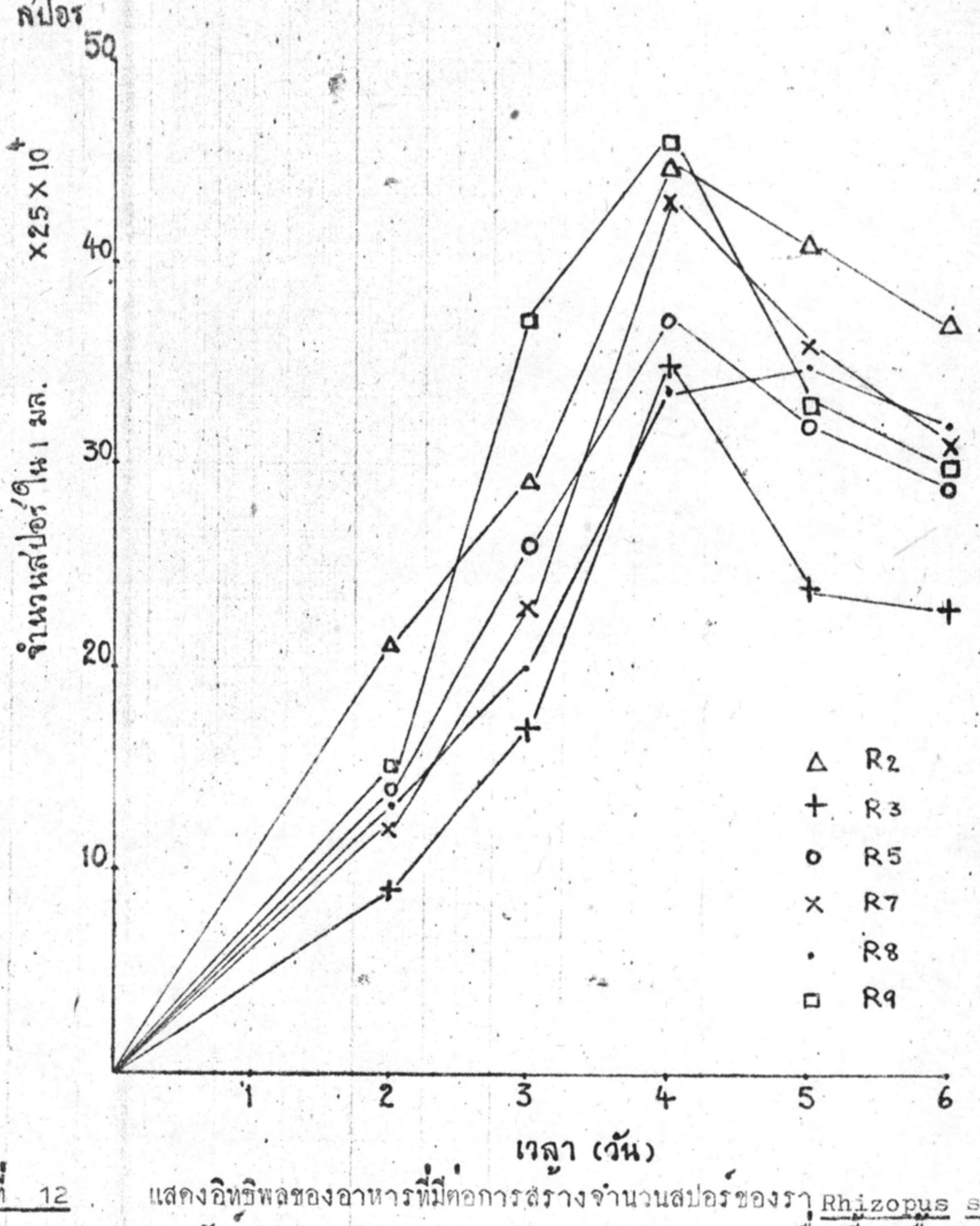
การวิเคราะห์ทางสถิติ จากตารางที่ 15 แสดงให้เห็นว่า จำนวนสปอร์ที่สร้างขึ้นบนสูตรอาหารสูตรที่ 2 และจำนวนสปอร์ที่สร้างบนสูตรอาหารสูตรที่ 1 มีความแตกต่างเป็นนัยสำคัญทางสถิติที่เชื่อถือได้ (ค่า $P < 0.05$) โดยที่จำนวนสปอร์ที่สร้างบนสูตรอาหารสูตรที่ 2 มากกว่าจำนวนสปอร์ที่สร้างบนสูตรอาหารสูตรที่ 1

ตารางที่ 14 แสดงจำนวนสปอร์ที่สร้างขึ้นโดย **Rhizopus sp.** 6 สายพันธุ์ เมื่อเลี้ยงในสูตรอาหารที่ประกอบด้วย แหล่งไนโตรเจนคือ แคซามิโน-แอซิด ปริมาณแตกต่างกัน

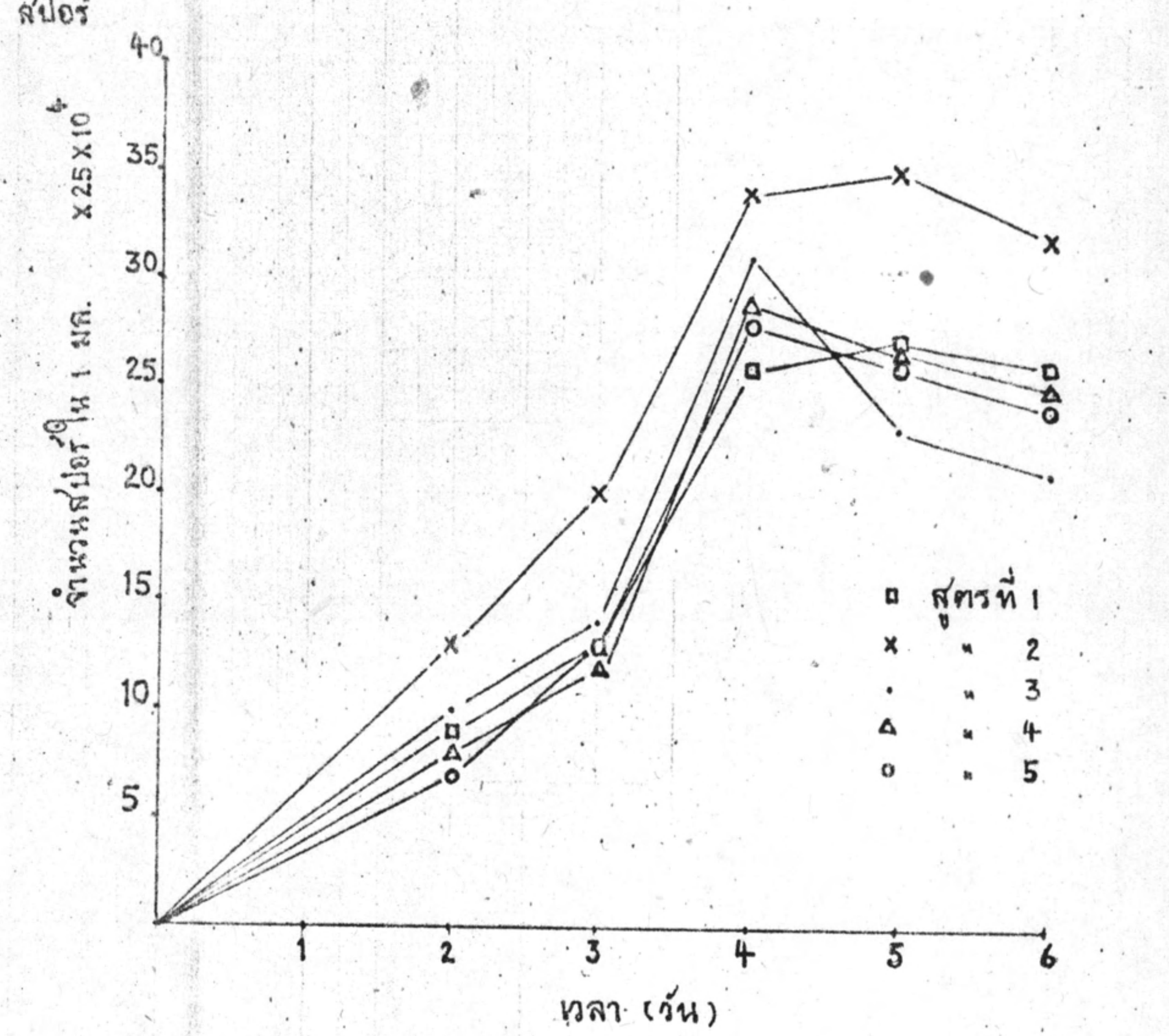
เวลาที่นับสปอร์ (วัน)	จำนวนสปอร์ที่นับได้ใน 1 มล. (คูณด้วย 2.5×10^5)				
	สูตรที่ 1 แป้งข้าวจ้าว 5% ซูโครส 3 %	สูตรที่ 2 แป้งข้าวจ้าว 5% ซูโครส 3 % Cas. â 0.05%	สูตรที่ 3 แป้งข้าวจ้าว 5% ซูโครส 3 % Cas. â 0.10%	สูตรที่ 4 แป้งข้าวจ้าว 5% ซูโครส 3 % Cas. â 0.15%	สูตรที่ 5 แป้งข้าวจ้าว 5% ซูโครส 3 % Cas. â 0.20%
สายพันธุ์ R_2					
2	19	21	16	17	17
3	23	29	25	20	15
4	45	45	43	35	30
5	42	41	44	26	18
6	39	37	21	25	17
สายพันธุ์ R_3					
2	7	9	7	6	5
3	11	17	18	12	7
4	22	35	21	19	16
5	21	24	22	18	16
6	20	23	20	17	18
สายพันธุ์ R_5					
2	12	14	11	12	7
3	23	26	27	22	10
4	38	37	30	24	25
5	34	32	27	20	23
6	20	28	23	14	22

ตารางที่ 14 (ต่อ)

เวลาที่นับสปอร์ (วัน)	จำนวนสปอร์ที่นับได้ใน 1 มล. (คูณด้วย 2.5×10^5)				
	สูตรที่ 1 แป้งข้าวจ้าว 5% ซูโครส 3 %	สูตรที่ 2 แป้งข้าวจ้าว 5% ซูโครส 3 % Cas.â 0.05%	สูตรที่ 3 แป้งข้าวจ้าว5% ซูโครส 3 % Cas.â 0.10%	สูตรที่ 4 แป้งข้าวจ้าว 5% ซูโครส 3 % Cas.â 0.15%	สูตรที่ 5 แป้งข้าวจ้าว5% ซูโครส 3 % Cas.â 0.20%
สายพันธุ์ R_7					
2	14	12	11	10	12
3	24	23	18	15	11
4	40	43	37	25	25
5	37	36	28	26	21
6	35	31	29	30	20
สายพันธุ์ R_8					
2	9	13	10	8	7
3	13	20	14	12	13
4	26	34	31	29	28
5	27	35	23	27	26
6	26	32	21	25	24
สายพันธุ์ R_9					
2	16	15	13	10	6
3	32	37	25	17	18
4	43	46	39	26	28
5	31	33	32	27	22
6	22	30	26	24	20



กราฟที่ 12 แสดงอิทธิพลของอาหารที่มีต่อการสร้างจำนวนสปอร์ของรา *Rhizopus sp.* สายพันธุ์ R_2 R_3 R_5 R_7 R_8 และ R_9 เมื่อเลี้ยงเชื้อบนอาหารแข็งที่ประกอบด้วย แป้งข้าวจ้าว 5% ซูโครส 3% และแคซามิโนแอซิด 0.5 ก./ล. ในเวลา 2 3 4 5 และ 6วัน



กราฟที่ 13 เปรียบเทียบอาหารที่มีแหล่งไนโตรเจนคือ แคซามิโนแอซิด ต่างกัน 5 สูตร ปริมาณของแคซามิโนแอซิด เท่ากับ 0 0.5 1.0 1.5 2.0 ก./ล. ตามลำดับ มีอิทธิพลต่อการสร้างจำนวนสปอร์ของ R. oryzae สายพันธุ์ R_8 โดยนับจำนวนสปอร์ ในเวลา 2 3 4 5 และ 6 วัน

<u>ตารางที่ 15</u> การทดสอบความแตกต่างทางสถิติ โดยใช้ t test เปรียบเทียบสูตรอาหารที่ประกอบด้วย แหล่งไนโตรเจน คือ แคซามิโนแอซิด ปริมาณต่างกัน นับจำนวนสปอร์ที่มีใน 1 มล. ของ *R. oryzae* สายพันธุ์ R_3 และ R_8 บนอาหารแข็ง สูตรที่ 1 และสูตรที่ 2

เวลาที่นับสปอร์ (วัน)	จำนวนสปอร์ที่นับได้ใน 1 มล. (คูณด้วย 2.5×10^5)					
	สายพันธุ์ R_3			สายพันธุ์ R_8		
	สูตรที่ 1 แป้งข้าวจ้าว 5% ซูโครส 3 %	สูตรที่ 2 แป้งข้าวจ้าว 5% ซูโครส 3 % Cas.â 0.05%	ค่า P ที่ความเชื่อมั่น 95 %	สูตรที่ 1 แป้งข้าวจ้าว 5% ซูโครส 3 %	สูตรที่ 2 แป้งข้าวจ้าว 5% ซูโครส 3 % Cas.â 0.05 %	ค่า P ที่ความเชื่อมั่น 95 %
2	7	9	> 0.05	9	13	< 0.05
3	11	17	< 0.05	13	20	< 0.05
4	22	35	< 0.05	26	34	< 0.05
5	21	24	< 0.05	27	35	< 0.05
6	20	23	< 0.05	26	32	< 0.05

ค. <u>แหล่งแร่ธาตุที่สำคัญ</u> จากตารางที่ 16 และกราฟที่ 15 แหล่งแร่ธาตุที่สำคัญได้จากโปตัสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต ซึ่งพบว่าเมื่อใส่แหล่งแร่ธาตุดังกล่าวลงในสูตรอาหารที่มีแหล่งคาร์บอนและแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมแล้ว จำนวนสปอร์ที่สร้างขึ้นมีจำนวนเพิ่มขึ้นมาก เมื่อเปรียบเทียบกับสูตรอาหารที่ไม่มีแหล่งแร่ธาตุ และพบว่าสูตรอาหารที่มีโปตัสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต ทุกสูตรให้จำนวนสปอร์มาก แต่สูตรที่เหมาะสมที่สุด คือ สูตรอาหารสูตรที่ 3 ซึ่งมีโปตัสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 0.05 % และพบว่าโดยส่วนใหญ่ จำนวนสปอร์สูงสุดในวันที่ 4 และวันที่ 5 ของการบ่มเชื้อ

จากกราฟที่ 14 แสดงให้เห็นว่า เชื้อราทั้ง 6 สายพันธุ์ มีความแตกต่างในการสร้างจำนวนสปอร์ในระหว่างสายพันธุ์ เมื่อเลี้ยงบนอาหารที่ประกอบด้วยแหล่งแร่ธาตุ คือ KH_2PO_4 สูตรเดียวกัน โดยพบว่า สายพันธุ์ R_2 และ R_9 ให้จำนวนสปอร์สูงเท่ากัน แต่สายพันธุ์ R_2 ให้จำนวนสปอร์สูงสุดในวันที่ 3 ส่วนสายพันธุ์ R_9 ให้จำนวนสปอร์สูงสุดในวันที่ 4 รองลงมาคือ R_7 R_3 R_8 และ R_5 โดยให้จำ-นวนสปอร์สูงสุดในวันที่ 4 เช่นกัน

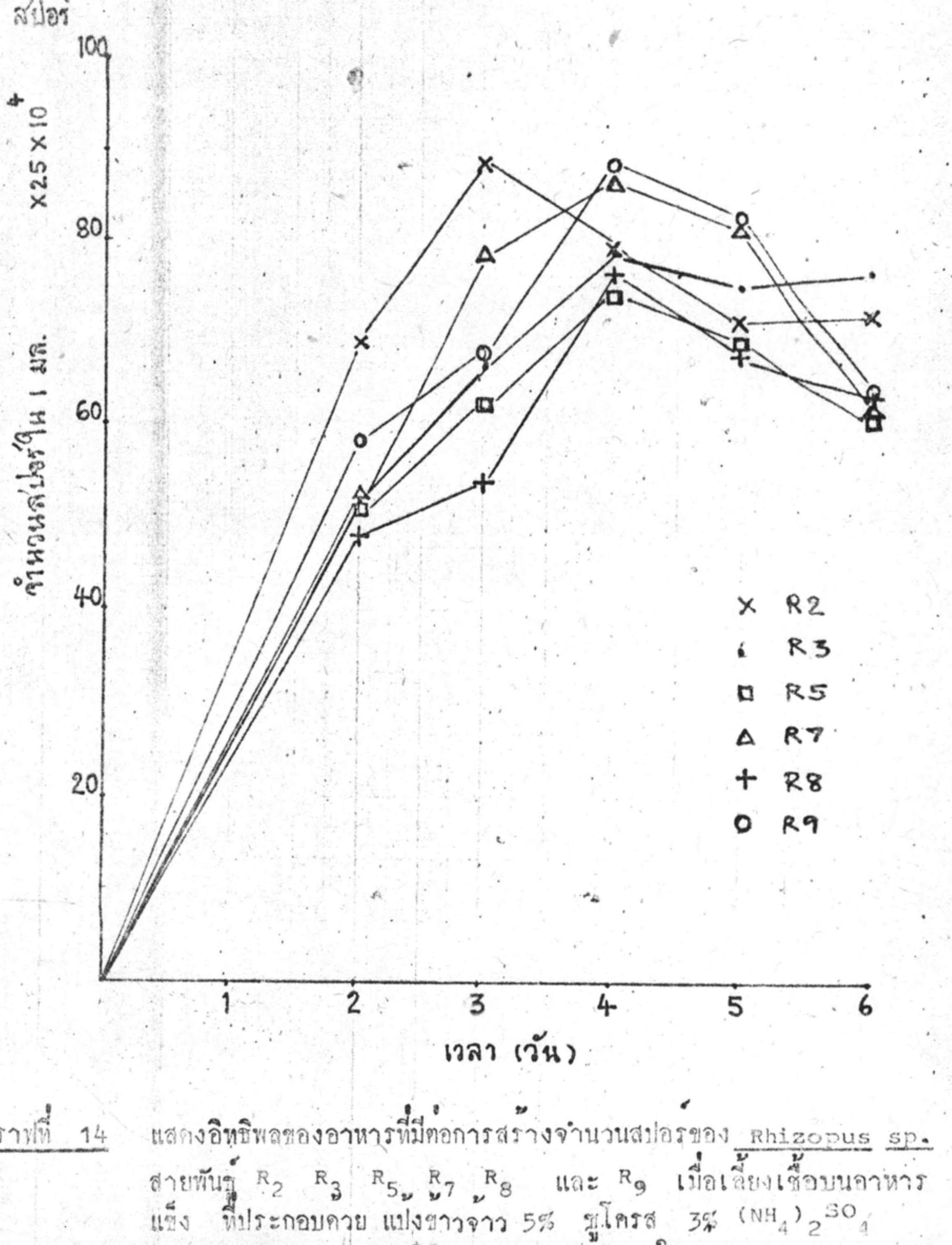
การวิเคราะห์ทางสถิติ จากตาราง างที่ 17 แสดงให้เห็นว่า จำนวนสปอร์ที่สร้างขึ้น บนสูตรอาหารสูตรที่ 3 และจำนวนสปอร์ที่สร้างขึ้นบนสูตรอาหารสูตรที่ 1 มีความแตกต่างเป็นนัยสำคัญทางสถิติที่เชื่อถือได้ (ค่า $P < 0.05$) โดยที่จำนวนสปอร์ที่สร้างบนสูตรอาหารสูตรที่ 3 มากกว่าจำนวนสปอร์ที่สร้างบนสูตรอาหารสูตรที่ 1

ตารางที่16 แสดงจำนวนสปอร์ที่สร้างขึ้นโดย Rhizopus sp 6สายพันธุ์ เมื่อเลี้ยงในสูตรอาหารที่ประกอบด้วยแหล่งแร่ธาตุ คือ โปตัสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต ปริมาณแตกต่างกัน

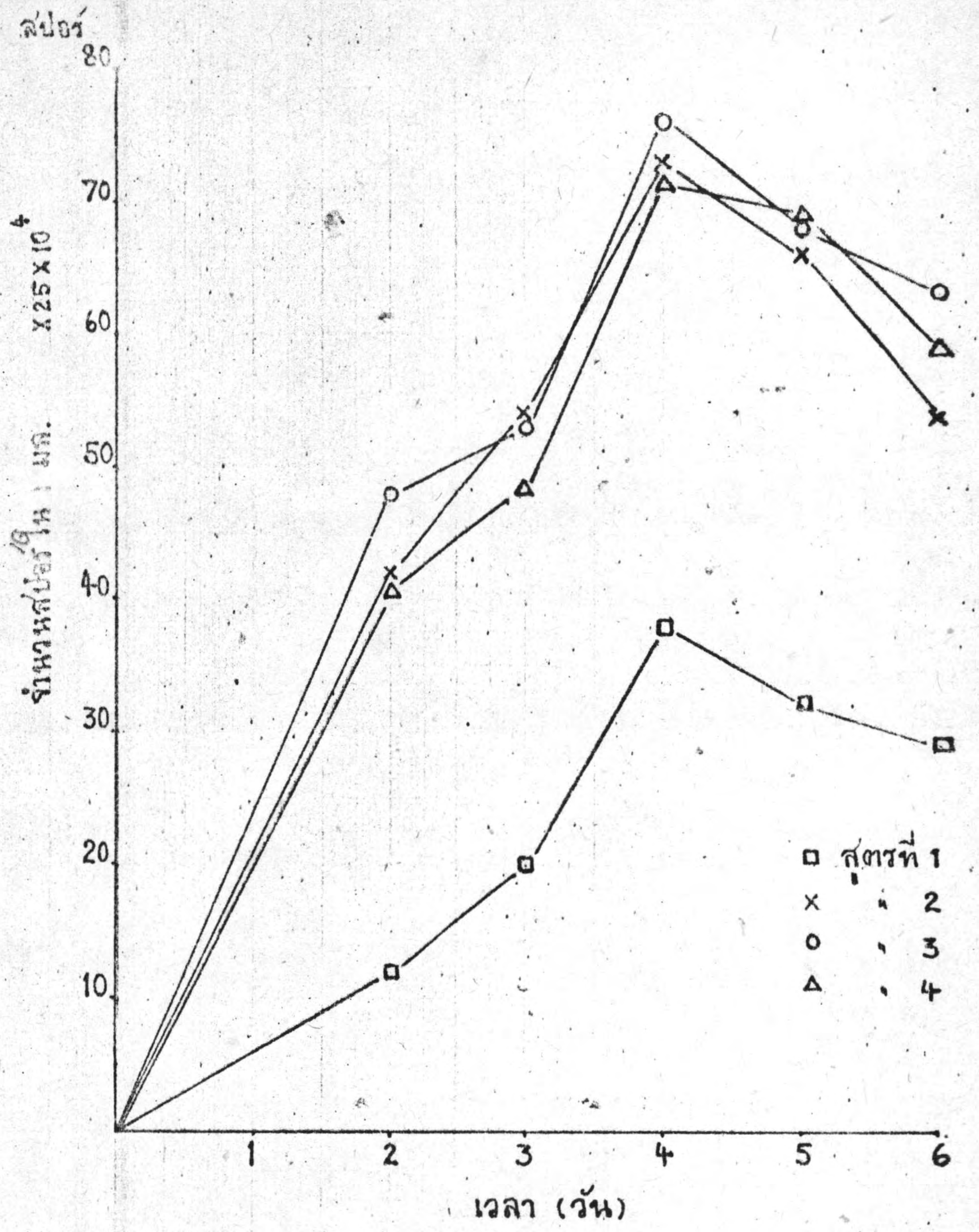
เวลาที่นับสปอร์ (วัน)	จำนวนสปอร์ที่นับได้ใน 1 มล. (คูณด้วย 2.5×10^5)			
	สูตรที่ 1 แป้งข้าวจ้าว 5% ซูโครส 3% $(NH_4)_2SO_4$ 0.03%	สูตรที่ 2 แป้งข้าวจ้าว 5% ซูโครส 3% $(NH_4)_2SO_4$ 0.03% KH_2PO_4 0.03 %	สูตรที่ 3 แป้งข้าวจ้าว 5% ซูโครส 3 % $(NH_4)_2SO_4$ 0.03% KH_2PO_4 0.05 %	สูตรที่ 4 แป้งข้าวจ้าว 5% ซูโครส 3 % $(NH_4)_2SO_4$ 0.03% KH_2PO_4 0.10%
สายพันธุ์ R_2				
2	21	50	69	67
3	31	67	88	87
4	45	83	79	78
5	43	86	71	82
6	34	72	72	77
สายพันธุ์ R_3				
2	11	47	52	55
3	23	67	67	78
4	31	74	79	76
5	23	72	75	73
6	20	66	77	69
สายพันธุ์ R_5				
2	22	43	51	53
3	24	54	62	65
4	41	75	74	70
5	35	82	72	74
6	31	63	60	66

ตารางที่ 16 (ต่อ)

เวลาที่นับสปอร์ (วัน)	จำนวนสปอร์ที่นับได้ใน 1 มล. (คูณด้วย 2.5×10^5)			
	สูตรที่ 1 แป้งข้าวจ้าว 5% ซูโครส 3 % $(NH_4)_2SO_4$ 0.03 %	สูตรที่ 2 แป้งข้าวจ้าว 5% ซูโครส 3 % $(NH_4)_2SO_4$ 0.03% KH_2PO_4 0.03%	สูตรที่ 3 แป้งข้าวจ้าว 5% ซูโครส 3 % $(NH_4)_2SO_4$ 0.03% KH_2PO_4 0.05%	สูตรที่ 4 แป้งข้าวจ้าว 5% ซูโครส 3 % $(NH_4)_2SO_4$ 0.03% KH_2PO_4 0.10%
สายพันธุ์ R_7				
2	24	50	52	67
3	27	65	78	67
4	43	73	86	76
5	37	74	82	71
6	33	69	61	62
สายพันธุ์ R_8				
2	12	42	48	41
3	20	54	53	48
4	38	73	76	72
5	32	66	68	69
6	29	54	63	59
สายพันธุ์ R_9				
2	16	40	58	43
3	31	62	67	55
4	42	78	88	69
5	40	79	82	63
6	39	64	61	65



กราฟที่ 14 แสดงอิทธิพลของอาหารที่มีต่อการสร้างจำนวนสปอร์ของ <u>Rhizopus sp.</u> สายพันธุ์ R_2 R_3 R_5, R_7, R_8 และ R_9 เมื่อเลี้ยงเชื้อบนอาหารแข็ง ที่ประกอบด้วย แป้งข้าวจ้าว 5% ซูโครส 3% $(NH_4)_2SO_4$ 0.3 ก./ล. และ KH_2PO_4 0.5 ก./ล. ในเวลา 2 3 4 5 และ 6 วัน



กราฟที่ 15 เปรียบเทียบอาหารที่มีแหล่งแร่ธาตุคือ KH_2PO_4 ต่างกัน 4 สูตร (ปริมาณของ KH_2PO_4 เท่ากับ 0 0.3 0.5 1.0 ก./ล. ตามลำดับ) มีอิทธิพลต่อการสร้างจำนวนสปอร์ของ *R. oryzae* สายพันธุ์ R_8 นับจำนวนสปอร์ในเวลา 2 3 4 5 และ 6 วัน

<u>ตารางที่ 17</u> การทดสอบความแตกต่างทางสถิติ โดยใช้ t test เปรียบเทียบสูตรอาหาร ที่ประกอบด้วยแหล่งแร่ธาตุ คือ KH_2PO_4 ปริมาณต่างกัน นับจำนวนสปอร์ที่มีใน 1 มล. ของ <u>R. oryzae</u> สายพันธุ์ R_3 และ R_8 บนอาหารแข็ง สูตรที่ 1 และสูตรที่ 2

เวลาที่นับสปอร์ (วัน)	จำนวนสปอร์ที่นับได้ใน 1 มล. (คูณด้วย 2.5×10^5)					
	สายพันธุ์ R_3			สายพันธุ์ R_8		
	สูตรที่ 1 แป้งข้าวจ้าว 5% ซูโครส 3 % $(NH_4)_2SO_4$ 0.03 %	สูตรที่ 2 แป้งข้าวจ้าว 5% ซูโครส 3 % $(NH_4)_2SO_4$ 0.03% KH_2PO_4 0.05 %	ค่า P ที่ความเชื่อมั่น 95 %	สูตรที่ 1 แป้งข้าวจ้าว 5% ซูโครส 3 % $(NH_4)_2SO_4$ 0.03%	สูตรที่ 2 แป้งข้าวจ้าว 5% ซูโครส 3 % $(NH_4)_2SO_4$ 0.03% KH_2PO_4 0.05 %	ค่า P ที่ความเชื่อมั่น 95 %
2	11	52	<0.05	12	48	<0.05
3	23	67	<0.05	20	53	<0.05
4	31	79	<0.05	38	76	<0.05
5	23	75	<0.05	32	68	<0.05
6	20	77	<0.05	29	63	<0.05

ง. <u>แหล่งเครื่องเทศ</u> จากตารางที่ 18 และจากกราฟที่ 16 ก และ 16 ข แสดงให้เห็นว่า จำนวนสปอร์ของรา *R. oryzae* สายพันธุ์ R_3 และ R_8 ที่สร้างบนสูตรอาหารที่มีเครื่องเทศสูตรที่ 1 สูตรที่ 2 และสูตรที่ 4 ผสมอยู่ ใกล้เคียงกันกับจำนวนสปอร์ที่สร้างบนสูตรอาหารที่ไม่มีเครื่องเทศผสม แต่จำนวนสปอร์ที่สร้างบนสูตรอาหารที่มีเครื่องเทศสูตรที่ 3 ผสมอยู่ น้อยกว่าจำนวนสปอร์ที่สร้างบนสูตรอาหารอื่น ๆ แสดงว่า เครื่องเทศสูตรที่ 1 ซึ่งมี อบเชย 2% พริกไทย 2% ชะเอม 2% ชายิ้น 2% เครื่องเทศสูตรที่ 2 ซึ่งมี ดอกจันทร์ 2 % ยี่หร่า 2 % ผักชี 2 % กระวาน 2 % และเครื่องเทศสูตรที่ 4 ซึ่งมี ดีปลี 2% ข่า 2% ชะเอม 2% โป๊ยกั๊ก 2% ไม่มีอิทธิพลในการสร้างสปอร์ของราสายพันธุ์ดังกล่าว แต่เครื่องเทศสูตรที่ 3 ซึ่งมี ลูกจันทร์ 2 % พริกขี้หนู 2% กระเทียม 2 % ขิง 2% มีอิทธิพลในการสร้างจำนวนสปอร์ของราดังกล่าว โดยที่ทำให้ราสร้างสปอร์ได้น้อยกว่า เมื่อเจริญบนอาหารสูตรอื่น ๆ ดังกล่าวแล้ว

จากกราฟที่ 17 แสดงให้เห็นว่า รา *R. oryzae* สายพันธุ์ R_8 สร้างสปอร์ได้จำนวนแตกต่างกัน เมื่อเลี้ยงบนอาหารสูตรต่าง ๆ ดังกล่าว คือ ราสร้างสปอร์ได้จำนวนมากใกล้เคียงกัน เมื่อเลี้ยงบนอาหาร 4 สูตร คือ สูตรอาหารที่เหมาะสม สูตรอาหารที่เหมาะสมผสมเครื่องเทศสูตรที่ 1 สูตรอาหารที่เหมาะสมผสมเครื่องเทศสูตรที่ 2 และสูตรอาหารที่เหมาะสมผสมเครื่องเทศสูตรที่ 4 แต่สร้างสปอร์ได้จำนวนน้อย เมื่อเลี้ยงบนสูตรอาหารที่เหมาะสมผสมเครื่องเทศสูตรที่ 3

การวิเคราะห์ทางสถิติ จากตารางที่ 19 แสดงให้เห็นว่า จำนวนสปอร์ที่สร้างบนสูตรอาหารที่เหมาะสม และจำนวนสปอร์ที่สร้างบนสูตรอาหารที่เหมาะสมผสมเครื่องเทศสูตรที่ 1 ไม่มีความแตกต่างเป็นนัยสำคัญทางสถิติที่เชื่อถือได้ (ค่า $P > 0.05$) และจากตารางที่ 20 แสดงให้เห็นว่า จำนวนสปอร์ที่สร้างบนสูตรอาหารที่เหมาะสม และจำนวนสปอร์ที่สร้างบนสูตรอาหารที่เหมาะสมผสมเครื่องเทศสูตรที่ 3

มีความแตกต่างเป็นนัยสำคัญทางสถิติที่เชื่อถือได้ (ค่า $P < 0.05$) โดยที่จำนวนสปอร์ที่สร้างบนสูตรอาหารที่เหมาะสม มากกว่า จำนวนสปอร์ที่สร้างบนสูตรอาหารที่เหมาะสมผสมเครื่องเทศสูตรที่ 3

ตารางที่ 18 จำนวนสปอร์ที่สร้างขึ้นโดย *R. oryzae* สายพันธุ์ R_3 และ R_8 เมื่อเลี้ยงเชื้อในสูตรอาหารที่ประกอบด้วยแหล่งเครื่องเทศ 15 ชนิด โดยแบ่งเป็น 4 กลุ่ม

เวลาที่นับสปอร์ (วัน)	จำนวนสปอร์ที่นับได้ใน 1 มล. (คูณด้วย 2.5×10^5)									
	สายพันธุ์ R_3					สายพันธุ์ R_8				
	สูตรอาหารที่เหมาะสม	เครื่องเทศสูตร 1	เครื่องเทศสูตร 2	เครื่องเทศสูตร 3	เครื่องเทศสูตร 4	สูตรอาหารที่เหมาะสม	เครื่องเทศสูตร 1	เครื่องเทศสูตร 2	เครื่องเทศสูตร 3	เครื่องเทศสูตร 4
2	52	45	40	28	42	48	39	38	21	45
3	67	58	68	32	67	53	55	51	30	57
4	79	78	73	40	74	76	71	72	39	68
5	75	81	76	31	76	68	70	67	32	71
6	77	74	68	30	73	63	65	58	33	62

เครื่องเทศสูตรที่ 1

ประกอบด้วย อบเชย 2 %
พริกไทย 2 %
ชะเอม 2 %
ชายิ้น 2 %

เครื่องเทศสูตรที่ 2

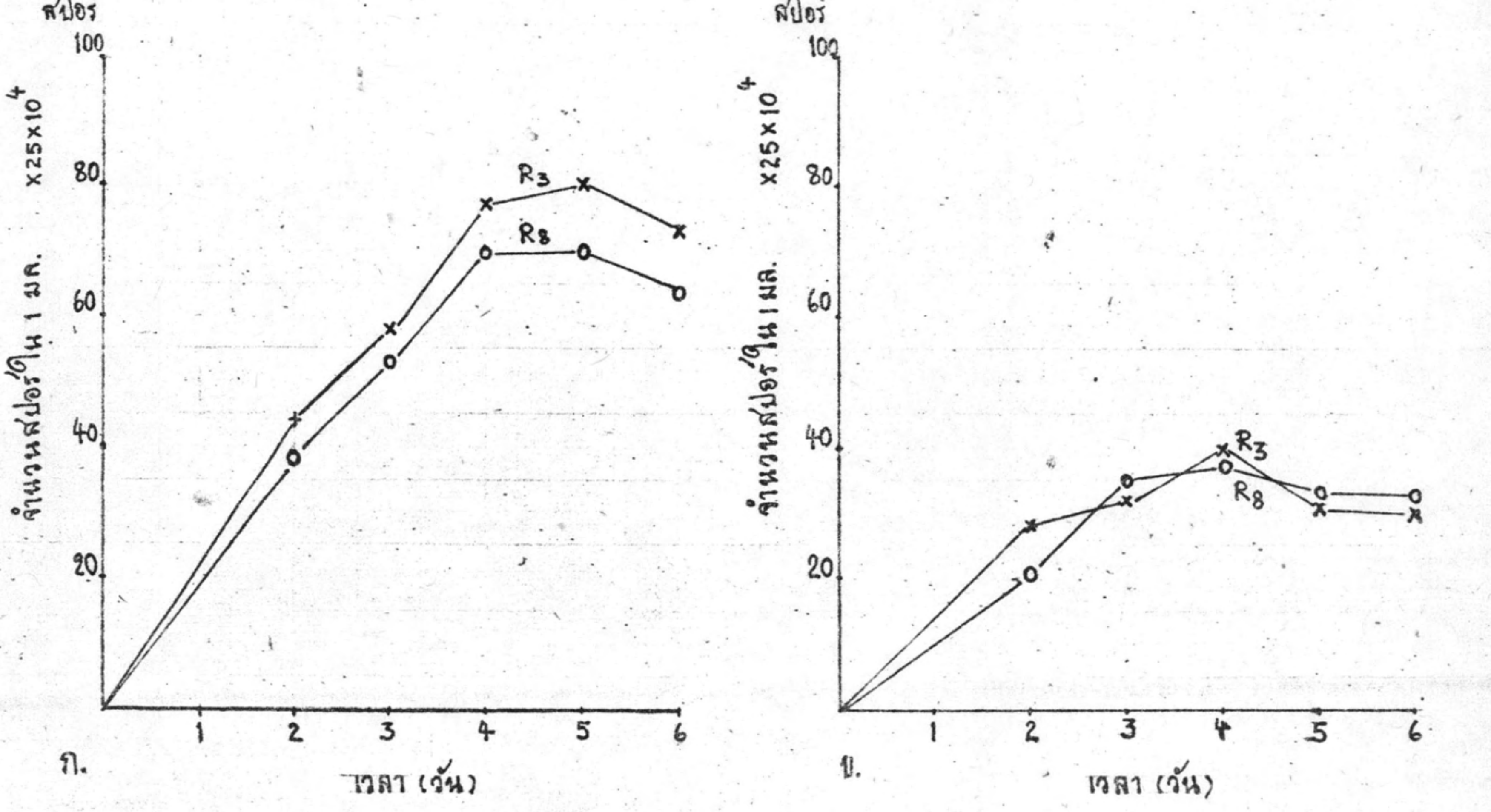
ประกอบด้วย ดอกจันทร์ 2 %
ยี่หร่า 2 %
ผักชี 2 %
กระวาน 2 %

เครื่องเทศสูตรที่ 3

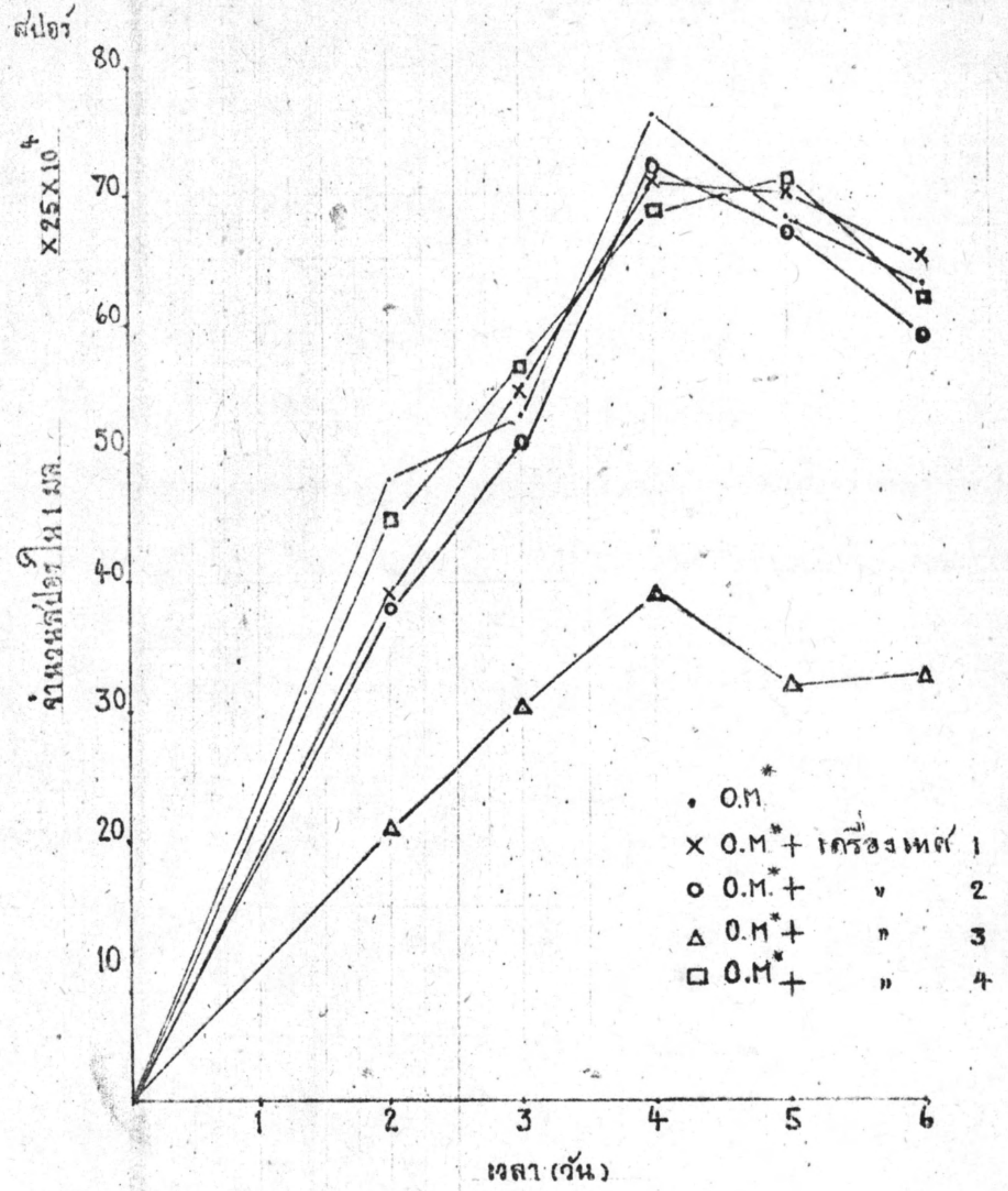
ประกอบด้วย ลูกจันทร์ 2 %
พริกขี้หนู 2 %
กระเทียม 2 %
ขิง 2 %

เครื่องเทศสูตรที่ 4

ประกอบด้วย ดีปลี 2 %
ข่า 2 %
ชะเอม 2 %
โป๊ยกั๊ก 2 %



กราฟที่ 16 แสดงอิทธิพลของอาหารที่มีต่อจำนวนสปอร์ของ *R. oryzae* สายพันธุ์ R_3 และ R_8 เมื่อเลี้ยงเชื้อบนอาหารแข็งสูตรอาหารที่เหมาะสม ซึ่งประกอบด้วยแป้งข้าวจ้าว 5% ซูโครส 3% $(NH_4)_2SO_4$ 0.3 ก./ล. KH_2PO_4 0.5 ก./ล. ก. ผสมเครื่องเทศสูตรที่ 1 ข. ผสมเครื่องเทศสูตรที่ 3



กราฟที่ 17 เปรียบเทียบสูตรอาหารที่เหมาะสมผสมกับเครื่องเทศต่าง ๆ ชนิด 4 สูตร ที่มีอิทธิพลต่อการสร้างจำนวนสปอร์ ของ _R. oryzae_ สายพันธุ์ R_8
(* สูตรอาหารที่เหมาะสมซึ่งได้จากการทดลอง)

ตารางที่ 19 การทดสอบความแตกต่างทางสถิติ โดยใช้ t test เปรียบเทียบสูตรอาหารที่เหมาะสม และสูตรอาหารที่เหมาะสมผสมเครื่องเทศสูตรที่ 1 นับจำนวนสปอร์ใน 1 มล.

เวลาที่นับสปอร์ (วัน)	จำนวนสปอร์ที่นับได้ 1 มล. (คูณด้วย 2.5×10^5)					
	สายพันธุ์ R_3			สายพันธุ์ R_8		
	สูตรอาหารที่เหมาะสม	สูตรอาหารที่เหมาะสม ผสมเครื่องเทศสูตร1	ค่าที่ความเชื่อมั่น 95 %	สูตรอาหารที่เหมาะสม	สูตรอาหารที่เหมาะสม ผสมเครื่องเทศสูตร1	ค่าที่ความเชื่อมั่น 95 %
2	52	45	<0.05	48	39	<0.05
3	67	58	>0.05	53	55	>0.05
4	79	78	>0.05	76	71	>0.05
5	75	81	>0.05	68	70	>0.05
6	77	74	>0.05	63	65	>0.05

ตารางที่ 20 การทดสอบความแตกต่างทางสถิติ โดยใช้ t test เปรียบเทียบสูตรอาหารที่เหมาะสม และสูตรอาหารที่เหมาะสม ผสมเครื่องเทศสูตรที่ 3 นับจำนวนสปอร์ใน 1 มล.

เวลาที่นับสปอร์ (วัน)	จำนวนสปอร์ที่นับได้ใน 1 มล. (คูณด้วย 2.5×10^5)					
	สายพันธุ์ R_3			สายพันธุ์ R_8		
	สูตรอาหารที่เหมาะสม	สูตรอาหารที่เหมาะสม ผสมเครื่องเทศสูตรที่ 3	ค่า P ที่ความเชื่อมั่น 95 %	สูตรอาหารที่เหมาะสม	สูตรอาหารที่เหมาะสม ผสมเครื่องเทศสูตรที่ 3	ค่า P ที่ความเชื่อมั่น 95 %
2	52	28	< 0.05	48	21	< 0.05
3	67	32	< 0.05	53	30	< 0.05
4	79	40	< 0.05	76	39	< 0.05
5	75	31	< 0.05	68	32	< 0.05
6	77	30	< 0.05	63	33	< 0.05

การศึกษาการงอกของสปอร์

ตารางที่ 21 การศึกษาอายุของสปอร์ที่สามารถงอกได้ ช่วงเวลาที่ใช้ในการงอก และผลของอาหารที่มีต่อการงอกของสปอร์ของสายพันธุ์ R_8

* ชั่วโมงที่เริ่มเห็นอับสปอร์ด้วยกล้องจุลทรรศน์

อายุของสปอร์ที่ใช้ปลูก (ชั่วโมง)	การงอกของสปอร์			
	อาหารที่เหมาะสม	อาหารที่เหมาะสม ผสมเครื่องเทศสูตรที่ 1	อาหารที่เหมาะสม ผสมเครื่องเทศสูตรที่ 3	อาหารแป้งข้าวจ้าว
21* - 26	-	-	-	-
27	+ (ในชม.ที่ 10)	+ (ใน ชม. ที่ 10)	+ (ใน ชม.ที่ 12)	+ (ในชม.ที่ 12)

– สปอร์ไม่งอก

+ สปอร์งอก

จากตารางที่ 21 แสดงให้เห็นว่า สปอร์ที่มีอายุตั้งแต่ 21 ชั่วโมง คือ สปอร์ที่เพิ่งสร้างได้ใหม่ จนถึงสปอร์ที่มีอายุ 26 ชั่วโมง เป็นสปอร์ที่ยังไม่เจริญเต็มวัย(mature) ไม่สามารถงอกได้ เมื่อปลูกสปอร์บนอาหารต่างๆ ทั้ง 4 สูตร สปอร์ที่มีอายุ 27 ชั่วโมง จึงจะสามารถงอกได้บนอาหารสูตรต่างๆ ดังกล่าว แต่ช่วงเวลาที่งอกหลังจากปลูกเชื้อต่างกันเล็กน้อย คือ เมื่อปลูกเชื้อบนอาหารที่เหมาะสม และอาหารที่เหมาะสมผสมเครื่องเทศสูตรที่ 1 สปอร์งอกได้ในชั่วโมงที่ 10 แต่เมื่อปลูกเชื้อบนอาหารที่เหมาะสมผสมเครื่องเทศสูตรที่ 3 และอาหารแป้งข้าวจ้าว สปอร์งอกได้ในชั่วโมงที่ 12 แสดงให้เห็นว่า อาหารสูตรต่าง ๆ ไม่มีอิทธิพลต่ออายุการเจริญเต็มวัยของสปอร์ แต่มีอิทธิพลต่อเวลาการงอกของสปอร์

<u>การเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของสายพันธุ์ R_3 และ R_8 เมื่อเลี้ยงบนสูตรอาหาร 4 ชนิด และศึกษาช่วงระยะเวลาในการสร้างสปอร์ รวมทั้งการเปลี่ยนแปลงสีของอับสปอร์</u>

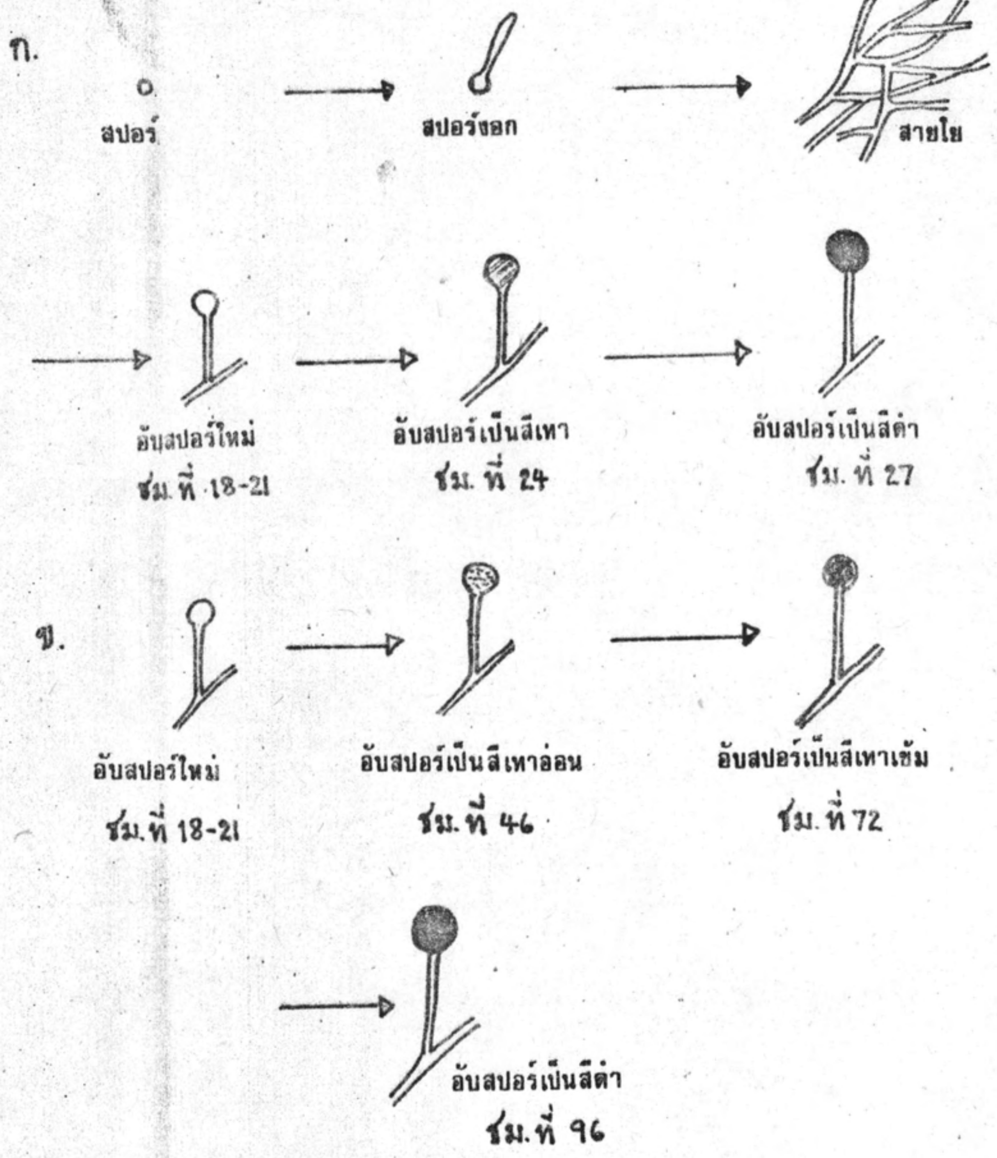
จากสูตรอาหาร 4 ชนิด คือ สูตรที่ 1 อาหารแป้งข้าวจ้าว สูตรที่ 2 อาหารที่เหมาะสมจากการทดลอง สูตรที่3 อาหารที่เหมาะสมจากการทดลองผสมกับเครื่องเทศสูตรที่ 1 สูตรที่ 4 อาหารที่เหมาะสมจากการทดลองผสมกับเครื่อง-เทศสูตรที่ 3 ที่ได้ทดลองเลี้ยงเชื้อ <u>Rhizopus</u> <u>sp</u>. สายพันธุ์ R_3และ R_8 ดังแสดงไว้ในตารางที่ 22 ได้ผลว่า เมื่อเลี้ยงเชื้อบนอาหารสูตรที่ 1 ซึ่งมีแป้งข้าวจ้าวเพียงอย่างเดียว เชื้อราทั้ง 2 สายพันธุ์ เริ่มเจริญใน 12 ชม. หลังจากบ่มเชื้อ แต่ยังวัดความกว้างของโคโลนีไม่ได้ เริ่มวัดความกว้างของโคโลนีได้ใน ชม.ที่15 หลังจากบ่มเชื้อ เริ่มเห็นอับสปอร์ในชั่วโมงที่ 18 หลังจากบ่มเชื้อ และอับสปอร์เริ่มเปลี่ยนสีเป็นสีเทาในชั่วโมงที่ 24 หลังจากบ่มเชื้อ และเปลี่ยนเป็นสีดำ เมื่อชั่วโมงที่ 27 หลังจากบ่มเชื้อ สายพันธุ์ R_3 เจริญเต็มจานเลี้ยงเชื้อใน 48 ชม. ส่วนสายพันธุ์ R_8 เจริญเต็มจานเลี้ยงเชื้อใน 51 ชม. เมื่อเปรียบเทียบสูตรอาหารสูตรที่ 2 ซึ่งเป็นอาหารที่เหมาะสมจากการทดลอง และสูตรอาหารที่ 3 ซึ่งเป็นสูตรอาหารซึ่งมีอาหารที่เหมาะสมจากการทดลองผสมกับเครื่องเทศสูตรที่ 1 ปรากฏว่าการเจริญเติบโตและการสร้างอับสปอร์ของเชื้อราบนสูตรอาหารทั้งสองชนิดไม่แตกต่างกัน โดยพบว่า เชื้อราเริ่มมีการเจริญเร็วขึ้นกว่าเมื่อเลี้ยงเชื้อในอาหารสูตรที่ 1 คือ เริ่มเจริญได้ในชั่วโมงที่ 10 และเริ่มสร้างอับสปอร์ในชั่วโมงที่ 15 สีของอับสปอร์เริ่มเปลี่ยนเป็นสีเทาในชั่วโมงที่ 21 และเปลี่ยนเป็นสีดำในชั่วโมงที่ 24 และพบว่า เชื้อราเจริญเต็มจานเลี้ยงเชื้อเร็วขึ้น สำหรับสูตรอาหารสูตรที่ 4 ซึ่งเป็นอาหารที่เหมาะสมจากการทดลอง ผสมเครื่องเทศสูตรที่ 3 พบว่า การเริ่มเจริญเติบโตไม่ต่างจากเมื่อเลี้ยงในสูตรที่ 1 แต่อัตราการเจริญน้อยกว่าเมื่อเลี้ยงในอาหารสูตรที่ 1 และการ

เปลี่ยนสีของอับสปอร์ก็แตกต่างกัน คือ เชื้อราทั้ง 2 สายพันธุ์ มีการเปลี่ยนสีเป็นสีเทา ช้ากว่า เมื่อเลี้ยงในอาหารสูตรที่ 1 3 ชั่วโมง และสีของอับสปอร์เปลี่ยนเป็นสีดำ ช้ากว่า เมื่อเลี้ยงในอาหารสูตรที่ 1 3 ชั่วโมง

ตารางที่ 22 เปรียบเทียบการเจริญเติบโต แบบเส้นตรง (linear growth) ช่วงระยะเวลาในการสร้างอับสปอร์ และการเปลี่ยนสีของอับสปอร์ของ R. **oryzae** สายพันธุ์ R_3 และ R_8 เมื่อเลี้ยงบนอาหารสูตรที่ 1 ซึ่งประกอบด้วย แป้งข้าว-จ้าว 5% อาหารสูตรที่ 2 ซึ่งประกอบด้วยอาหารที่เหมาะสมจากการทดลอง อาหารสูตรที่ 3 ซึ่งประกอบด้วย อาหารที่เหมาะสม ผสมเครื่องเทศสูตรที่ 1 อาหารสูตรที่ 4 ซึ่งประกอบด้วย อาหารที่เหมาะสม ผสมเครื่องเทศสูตรที่ 3

เวลาที่วัดการเจริญเติบโต (ชม.)	ความยาวของเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี (ซม.)							
	อาหารสูตรที่ 1		อาหารสูตรที่ 2		อาหารสูตรที่ 3		อาหารสูตรที่ 4	
	R_3	R_8	R_3	R_8	R_3	R_8	R_3	R_8
1 - 9	-	-	-	-	-	-	-	-
10	-	-	+	+	+	+	-	-
12	+	+	0.2	0.1	0.3	0.2	+	+
15	0.3	0.3	△0.7	△0.8	△0.9	△0.7	0.2	0.3
18	△1.2	△0.7	1.3	1.1	1.4	1.5	△0.7	△0.8
21	2.1	1.8	*2.4	*2.2	2.3*	*2.1	1.4	1.3
24	*2.4	*1.9	**2.8	**2.1	**2.7	**2.6	1.8	1.7
27	**2.8	**2.3	3.2	3.4	3.4	3.3	*2.4	*2.1
30	3.7	3.7	4.3	4.2	4.5	4.1	**3.1	**3.0
33**	4.5	4.2	5.7	5.3	5.8	5.4	4.0	4.0
36**	5.1	5.0	6.3	5.7	6.7	6.1	4.5	4.3
39**	5.6	5.6	7.5	6.3	7.3	7.0	5.1	5.0
42**	6.3	6.4	9.0	6.9	8.2	7.5	5.3	5.4
45**	7.3	7.2	9.0	7.8	9.0	8.2	6.4	6.6
48**	9.0	7.5	9.0	9.0	9.0	9.0	6.9	6.8
51**	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0	7.3	7.2
54**	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0	8.1	7.8
57**	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0
60**	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0

- ยังไม่มีการเจริญเติบโต
\+ เริ่มงอกแต่วัดความยาวของเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีไม่ได้
△ เริ่มสร้างอับสปอร์
* สีอับสปอร์เปลี่ยนเป็นสีเทา
** สีอับสปอร์เปลี่ยนเป็นสีดำ



รูปที่ 3 แสดงช่วงเวลาของการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยา จากสปอร์ การสร้างอับสปอร์ จนอับสปอร์แก่ ของสายพันธุ์ R_8 เมื่อเลี้ยงบนอาหารแป้งข้าวจ้าว

ก. สังเกตภายใต้กล้องจุลทรรศน์

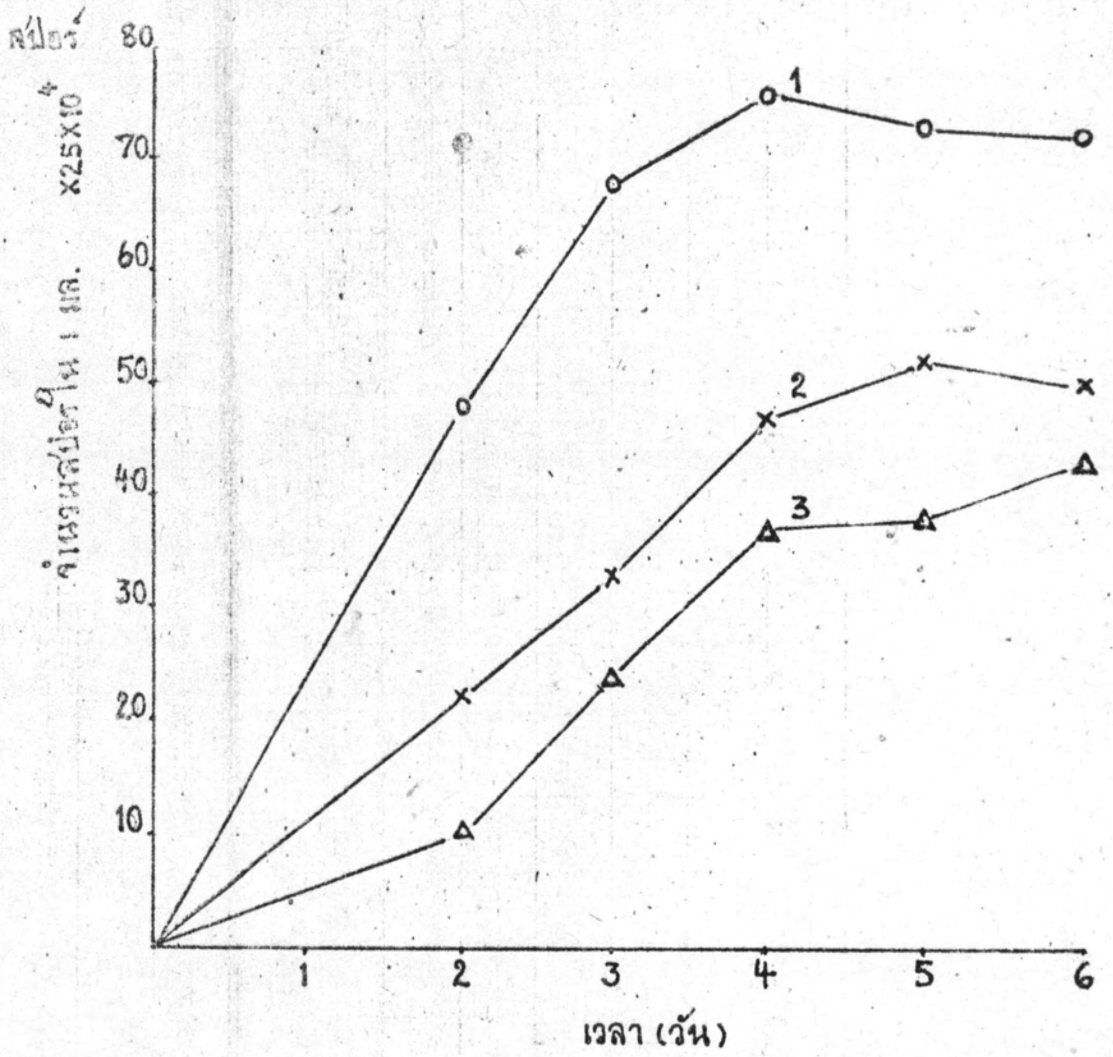
ข. สังเกตด้วยตาเปล่า

<u>การเปรียบเทียบจำนวนสปอร์ที่สร้างโดย *R. oryzae* สายพันธุ์ R_3 และ R_8 เมื่อเลี้ยงบนสูตรอาหารที่เหมาะสม และสูตรอาหารพื้นฐานที่ใช้โดยทั่วไป</u>

จากตารางที่23 และกราฟที่ 18 แสดงให้เห็นว่า *R. oryzae* สายพันธุ์ R_3 และ R_8สร้างสปอร์บนสูตรอาหารที่เหมาะสม ซึ่งได้จากการทดลอง ได้จำนวนมากกว่า เมื่อเลี้ยงบนสูตรอาหารพื้นฐานซึ่งใช้เป็นหลักโดยทั่วไป ทั้งในโรงงานอุตสาหกรรม และระดับครัวเรือน และจำนวนสปอร์ซึ่งสร้างบนอาหารสูตรที่ประกอบด้วยปลายข้าวจ้าว ผสมปลายข้าวเหนียว และรำ มากกว่า จำนวนสปอร์ซึ่งสร้างบนอาหารสูตรที่ประกอบด้วยปลายข้าวจ้าวเพียงอย่างเดียว

ตารางที่ 23 เปรียบเทียบจำนวนสปอร์ซึ่งสร้างโดย *R. oryzae* สายพันธุ์ R_3 และสายพันธุ์ R_8 เมื่อเลี้ยงในสูตรอาหารที่เหมาะสมซึ่งได้จากการทดลอง และสูตรอาหารพื้นฐานที่ใช้โดยทั่วไป

เวลาที่นับสปอร์ (วัน)	จำนวนสปอร์ที่นับได้ใน 1 มล. (คูณด้วย 2.5×10^5)					
	สายพันธุ์ R_3			สายพันธุ์ R_8		
	สูตรอาหารที่เหมาะสม	ปลายข้าวจ้าว	ปลายข้าวจ้าว ปลายข้าวเหนียว รำ(2:1:0.5)	สูตรอาหารที่เหมาะสม	ปลายข้าวจ้าว	ปลายข้าวจ้าว ปลายข้าวเหนียว รำ(2:1:0.5
2	53	14	32	48	10	22
3	67	28	40	68	24	33
4	79	35	55	76	37	47
5	75	40	54	73	38	52
6	77	42	63	72	43	50



<u>กราฟที่ 18</u> แสดงอิทธิพลของอาหารที่มีต่อการสร้างสปอร์ของ <u>R. oryzae</u> สายพันธุ์ R_8 เมื่อเลี้ยงบนอาหารที่มีส่วนประกอบต่างกัน 3 ชนิด คือ

1. อาหารที่เหมาะสมซึ่งได้จากการทดลอง
2. อาหารที่ประกอบด้วยปลายข้าวจ้าว ปลายข้าวเหนียว รำ ในอัตราส่วน 2 : 1 : 0.5
3. อาหารที่ประกอบด้วยปลายข้าวจ้าว