



ใบรับรองวิทยานิพนธ์
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (โรคพืช)

ปริญญา

โรคพืช

สาขา

โรคพืช

ภาควิชา

เรื่อง ความหลากหลายของราในดินตะกอนใต้ทะเลอ่าวไทยและทะเลอันดามัน
และการเป็นปฏิปักษ์ต่อราสาเหตุโรคพืช

Diversity of Microfungi in Marine Sediment from the Gulf of Thailand and Andaman
Sea and The *In Vitro* Antagonistic Activity Against Plant Pathogenic Fungi

นามผู้วิจัย นายกอบชัย ตะบูนพงค์

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(ศาสตราจารย์เลขา มาโนช, Ph.D.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(รองศาสตราจารย์จิระเดช แจ่มสว่าง, Ph.D.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์อรอุมา เพ็ญชัย, วท.ค.)

หัวหน้าภาควิชา

(อาจารย์อนงค์นุช สาสนรักกิจ, วท.ค.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์กัญจนา ชีระกุล, D.Agr.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ เดือน พ.ศ.

สิงสีทิจี มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

ความหลากหลายของราในดินตะกอนใต้ทะเลอ่าวไทยและทะเลอันดามัน
และการเป็นปฏิปักษ์ต่อราสาเหตุโรคพืช

Diversity of Microfungi in Marine Sediment from the Gulf of Thailand and Andaman
Sea and The *In Vitro* Antagonistic Activity Against Plant Pathogenic Fungi

โดย

นายกอบชัย ตะบูนพงศ์

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (โรคพืช)

พ.ศ. 2557

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

กอบชัย ตะบูนพงศ์ 2557: ความหลากหลายของราในดินตะกอนใต้ทะเลอ่าวไทยและทะเลอัน
ดามันและการเป็นปฏิปักษ์ต่อราสาเหตุโรคพืช ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (โรคพืช)
สาขาโรคพืช ภาควิชาโรคพืช อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก:
ศาสตราจารย์เลขา มาโนช, Ph.D. 76 หน้า

การศึกษาความหลากหลายของราที่แยกจากดินตะกอนใต้ทะเลบริเวณแนวปะการังในทะเลอ่าว
ไทยที่ เกาะช้าง และเกาะยกเล็ก จังหวัดตราด และบริเวณทะเลอันดามัน ที่หมู่เกาะพิพิ และหมู่เกาะลันตา
จังหวัดกระบี่ โดยใช้วิธีดำน้ำลึก (SCUBA) แยกโดยวิธี soil plate บนอาหารวุ้น potato dextrose agar
(PDA) ผสมน้ำทะเล 70 เปอร์เซ็นต์ จำแนกชนิดของราโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา ได้แก่ การเจริญ
ของโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ ศึกษาโครงสร้างขยายพันธุ์ และรูปร่างของสปอร์ โดยใช้กล้องจุลทรรศน์
แบบ stereo และ compound ผลการศึกษาพบรา จำนวน 50 สายพันธุ์ (isolates) จำแนกได้ 8 สกุล (genera)
12 ชนิด (species) ได้แก่ *Aspergillus flavus*, *A. fumigatus*, *A. niger*, *A. ochraceus*, *A. terreus*, *A.*
versicolor, *Cladosporium cladosporioides*, *Emericella nidulans*, *Eupenicillium parvum*, *Eurotium*
amstelodami, *Neosartorya* sp. และ *Talaromyces flavus*. พบรา *Penicillium* spp. มากที่สุดจำนวน 21 สาย
พันธุ์ ตามมาด้วย *Aspergillus* spp. (18 สายพันธุ์), *Eurotium* spp. (4 สายพันธุ์), *Cladosporium*
cladosporioides (3สายพันธุ์) พบรา *Emericella nidulans*, *Eupenicillium parvum*, *Neosartorya* sp. และ
Talaromyces flavus ชนิดละ 1 สายพันธุ์

ศึกษารากดินตะกอนใต้ทะเลจำนวน 5 ชนิด ได้แก่ *Penicillium* sp.1 (KUFC 10001), *Eurotium*
amstelodami (KUFC 10011), *Eupenicillium parvum* (KUFC 10018), *Neosartorya* sp. (KUFC 10037)
และ *Talaromyces flavus* (KUFC 10046) ในการยับยั้งการเจริญของราสาเหตุโรคพืช 9 ชนิด ได้แก่
Alternaria brassicicola, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Curvularia lunata*, *Fusarium oxysporum* f.sp.
cubense, *Helminthosporium oryzae*, *Phytophthora palmivora*, *Pyricularia oryzae*, *Rhizoctonia solani*
และ *Sclerotium rolfsii* โดยวิธี dual culture บนอาหาร PDA ระยะเวลา 14 วัน ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส
พบว่าราจากดินตะกอนใต้ทะเล *Eupenicillium parvum* (KUFC 10018) มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการ
เจริญของเส้นใยรา *Phytophthora palmivora* ได้มากที่สุดเท่ากับ 92.31% รองลงมาได้แก่รา *Neosartorya*
sp. (KUFC 10037) และ รา *Talaromyces flavus* (KUFC 10046) ยับยั้งการเจริญของเส้นใยรา *Pyricularia*
oryzae และรา *Alternaria brassicicola* ได้ 83.87% และ 83.33% ตามลำดับ แต่ราทั้ง 5 ชนิดไม่สามารถ
ยับยั้งการเจริญของเส้นใยรา *Sclerotium rolfsii*

Kopchai Taboonpong 2014: Diversity of Microfungi in Marine Sediment from the Gulf of Thailand and Andaman Sea and The *In Vitro* Antagonistic Activity Against Plant Pathogenic Fungi. Master of Science (Plant Pathology), Major Field: Plant Pathology, Department of Plant Pathology. Thesis Advisor: Professor Leka Manoch, Ph.D. 76 pages.

Sediment samples were collected using SCUBA diving from the coral reef in the Gulf of Thailand at Koh Chang and Koh Yak-Lek, Trat Province and Andaman Sea at Mu Koh Phi Phi National Park and Mu Koh Lanta National Park, Krabi Province. For fungal isolation, the soil plate method and potato dextrose agar supplement with 70% seawater were employed. A total of 50 fungal isolates comprising 8 genera 12 species were found, including *Aspergillus flavus*, *A. fumigatus*, *A. niger*, *A. ochraceus*, *A. terreus*, *A. versicolor*, *Aspergillus* spp., *Cladosporium cladosporioides*, *Emericella nidulans*, *Eupenicillium parvum*, *Eurotium amstelodami*, *Eurotium* spp., *Neosartorya* sp., *Penicillium* spp. and *Talaromyces flavus*. Among them, *Penicillium* spp. was the dominant species found in most locations comprising 21 isolates, followed by *Aspergillus* spp. (18), *Eurotium* spp. (4), *Cladosporium cladosporioides* (3), and one isolate each of *Emericella nidulans*, *Eupenicillium parvum*, *Neosartorya* sp. and *Talaromyces flavus*.

Five isolates of marine-derived fungi, including *Penicillium* sp.1 (KUFC 10001), *Eurotium amstelodami* (KUFC 10011), *Eupenicillium parvum* (KUFC 10018), *Neosartorya* sp. (KUFC 10037) and *Talaromyces flavus* (KUFC 10046) were tested for *in vitro* antagonistic activity against 9 species of plant pathogenic fungi, namely *Alternaria brassicicola*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Curvularia lunata*, *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*, *Helminthosporium oryzae*, *Phytophthora palmivora*, *Pyricularia oryzae*, *Rhizoctonia solani* and *Sclerotium rolfsii*. The results revealed that *Eupenicillium parvum* (KUFC 10018) inhibited 92.31% mycelial growth of *Phytophthora palmivora*, followed by *Neosartorya* sp. (KUFC 10037) and *Talaromyces flavus* (KUFC 10046) inhibited 83.87% and 83.33% mycelial growth of *Pyricularia oryzae* and *Alternaria brassicicola*, respectively. However five species of marine-derived fungi failed to inhibit mycelial growth of *Sclerotium rolfsii*.

Student's signature

Thesis Advisor's signature

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณ ศ.ดร.เลขา มาโนช อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก สำหรับความกรุณาในการให้คำปรึกษาและคำแนะนำทั้งในเรื่องการทำงานวิจัย การเรียน และการตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ ตลอดจนการใช้ชีวิตร่วมกับผู้อื่นในสังคมอย่างดีมาโดยตลอด

ขอกราบขอบพระคุณ รศ.ดร.จิระเดช แจ่มสว่าง และ ผศ.ดร.อรอุมา เพ็ชชัย อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์รอง สำหรับความกรุณาในการให้คำปรึกษาทั้งในเรื่องการเรียน การทำงานวิจัย ตลอดจนการตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์จนกระทั่งเสร็จสมบูรณ์ และกราบขอบพระคุณ ดร.อนงค์นุช ศาสนรักกิจ ประธานการสอบ และ ดร.พรพิมล อธิปัญญาคม ผู้ทรงคุณวุฒิภายนอก ที่ได้ให้ความกรุณาตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอกราบขอบพระคุณอาจารย์ภาควิชาโรคพืชและอาจารย์ทุกท่านที่ได้อบรมสั่งสอนและมอบความรู้อันเป็นประโยชน์ยิ่ง

ขอขอบคุณบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่ได้สนับสนุนทุนวิจัยระดับบัณฑิตศึกษาเพื่อการตีพิมพ์ผลงานในวารสารวิชาการระดับนานาชาติ จากบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ประจำปีงบประมาณ 2553 ในการศึกษาวิจัยในครั้งนี้

ขอขอบคุณโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี และหน่วยบัญชาการสงครามพิเศษทางเรือ กองทัพเรือ ที่ให้ความอนุเคราะห์ และอำนวยความสะดวกในการเดินทางไปเก็บตัวอย่างในการวิจัยครั้งนี้

ขอขอบคุณอาจารย์จำเริญ บัวเรือง อาจารย์ประจำภาควิชาสิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยรามคำแหง ในการให้ความช่วยเหลือในการเก็บตัวอย่าง และเอื้อเฟื้อข้อมูลต่างๆที่จำเป็นในงานวิจัย

สุดท้ายข้าพเจ้าขอขอบพระคุณ ทุกๆ คนในครอบครัว ที่ได้อบรมและคอยเป็นกำลังใจเสมอมาในทุกเรื่อง

กอบชัย ตะบูนพงศ์

กรกฎาคม 2557

สารบัญ

หน้า

สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(3)
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ	(8)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	3
การตรวจเอกสาร	4
อุปกรณ์และวิธีการ	12
อุปกรณ์	12
วิธีการ	14
ผลและวิจารณ์	21
สรุปผลการทดลอง	59
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	61
ภาคผนวก	73
ประวัติการศึกษาและการทำงาน	76

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1	สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สร้างจากรากเหง้าที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย
2	สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สร้างจากรากเหง้าที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของรา
3	สถานที่และวิธีการเก็บดินตะกอนใต้ทะเลบริเวณอ่าวไทยและทะเลอันดามัน
4	ราสาเหตุโรคพืช 9 ชนิดที่นำมาใช้ในการทดสอบ
5	ราชนิดต่างๆ ที่แยกได้จากดินตะกอนใต้ทะเล
6	การเป็นปฏิปักษ์ระหว่างราที่แยกได้จากดินตะกอนใต้ทะเลจำนวน 5 สายพันธุ์ ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยราสาเหตุโรคพืช 9 ชนิด โดยวิธี dual culture บน อาหาร potato dextrose agar บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 7 วัน
7	การเป็นปฏิปักษ์ระหว่างราที่แยกได้จากดินตะกอนใต้ทะเลจำนวน 5 สายพันธุ์ ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยราสาเหตุโรคพืช 9 ชนิด โดยวิธี dual culture บน อาหาร potato dextrose agar บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 14 วัน

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	การเดินทางไปการเก็บตัวอย่างดินตะกอนใต้ทะเลบริเวณแนวปะการัง	15
2	วิธีการแยกรากทะเลออกจากดินตะกอนใต้ทะเล (soil plate method)	15
3	จำนวนและเปอร์เซ็นต์ราที่พบในดินตะกอนใต้ทะเลบริเวณแนวปะการังที่อ่าวไทยและทะเลอันดามัน	22
4	จำนวนและชนิดของราที่พบในดินตะกอนใต้ทะเลบริเวณแนวปะการังที่เกาะต่างๆ บริเวณอ่าวไทย จังหวัดตราด และทะเลอันดามัน จังหวัดกระบี่	23
5	<i>Aspergillus fumigatus</i> (KUFC 10041): A, B. conidial heads และ conidiophores ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ compound (Bars: A = 5 μ m; B = 2 μ m)	28
6	<i>Aspergillus niger</i> (KUFC 10014): A. โคโลนีของราบน PDA; B, C. conidial heads จากกล้องจุลทรรศน์แบบ stereo; D-F. conidial heads และ conidiophores ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ compound (Bars: D = 2 μ m; E,F = 1 μ m)	30
7	<i>Aspergillus terreus</i> (KUFC 10032): A, B. conidial heads และ conidiophores C. conidia ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ compound (Bars: A = 5 μ m; B,C = 2 μ m)	31
8	<i>Aspergillus ochraceus</i> (KUFC 10032): A. โคโลนีของราบน PDA อายุ 14 วัน ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส; B. conidial heads และ conidiophores; C. foot cell ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ compound (Bars: B = 5 μ m; C = 2 μ m)	32
9	<i>Aspergillus versicolor</i> (KUFC 10048): A. โคโลนีของราบน PDA อายุ 7 วัน ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส; B-D. conidial head และ conidiophore; D, E. ลักษณะ conidia ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ compound (Bars: B = 5 μ m; C-D = 2 μ m; E = 1 μ m)	33
10	<i>Cladosporium cladosporioides</i> : A. โคโลนีของราบน PDA อายุ 14 วัน ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส; B. ลักษณะ conidia (Bars: B = 2 μ m)	34
11	<i>Eupenicillium parvum</i> (KUFC 10018): A. โคโลนีของราบน PDA; B. cliestothecia; C. ascospore ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo (Bars: C = 1 μ m)	36
12	<i>Eurotium amsterodami</i> (KUFC 10011): A. โคโลนีของราบน PDA; B, C. cliestothecia; D, E. conidial heads; F,G. cliestothecia, asci และ ascspores; H. asci I. ascospores ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo และ compound (Bars: D = 20 μ m; E-I = 2 μ m)	37

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
13	<i>Neosartorya</i> sp. (KUFC 10037): A. โคลนินของราบน PDA; B, C. conidial heads และ conidiophores; D, E. cliestothecia; F. asci และ ascospore ภายใต้อกล้องจุลทรรศน์แบบ compound (Bars: B, C = 5 μ m; E, F = 2 μ m)	39
14	<i>Penicillium</i> sp.1 (KUFC 10001): A. โคลนินของราบน PDA; B. conidiophore, phialide และ conidia; C. conidia ภายใต้อกล้องจุลทรรศน์แบบ compound (Bars: B = 5 μ m; C = 2 μ m)	40
15	<i>Penicillium</i> sp.7 (KUFC 10013): A. โคลนินของราบน PDA อายุ 7 วัน ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส; B. conidia; C., D. conidiophores, phialides และ conidia ภายใต้อกล้องจุลทรรศน์แบบ compound (Bars: B, D = 2 μ m; C = 5 μ m)	41
16	ราสาเหตุโรคพืช (ชุดควบคุม) 9 ชนิด บนอาหาร PDA ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 7 วัน: A. <i>Alternaria brassicicola</i> ; B. <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> ; C. <i>Curvularia lunata</i> ; D. <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>cubense</i> , E. <i>Helminthosporium oryzae</i> ; F. <i>Phytophthora palmivora</i> ; G. <i>Pyricularia oryzae</i> ; H. <i>Rhizoctonia solani</i> และ I. <i>Sclerotium rolfsii</i>	47
17	ราสาเหตุโรคพืช (ชุดควบคุม) 9 ชนิด บนอาหาร PDA ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 14 วัน: A. <i>Alternaria brassicicola</i> ; B. <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> ; C. <i>Curvularia lunata</i> ; D. <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>cubense</i> , E. <i>Helminthosporium oryzae</i> ; F. <i>Phytophthora palmivora</i> ; G. <i>Pyricularia oryzae</i> ; H. <i>Rhizoctonia solani</i> และ I. <i>Sclerotium rolfsii</i>	48
18	การเป็นปฏิปักษ์ระหว่างรา <i>Penicillium</i> sp.1 (KUFC 10001) (ซ้าย) กับราสาเหตุโรคพืช 9 ชนิด (ขวา) บนอาหาร PDA ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 7 วัน: A. <i>Alternaria brassicicola</i> ; B. <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> ; C. <i>Curvularia lunata</i> ; D. <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>cubense</i> , E. <i>Helminthosporium oryzae</i> ; F. <i>Phytophthora palmivora</i> ; G. <i>Pyricularia oryzae</i> ; H. <i>Rhizoctonia solani</i> และ I. <i>Sclerotium rolfsii</i>	49

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
19 การเป็นปฏิปักษ์ระหว่างรา <i>Penicillium</i> sp.1 (KUFC 10001) (ข้าว) กับราสาเหตุโรคพืช 9 ชนิด (ข้าว) บนอาหาร PDA ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 14 วัน: A. <i>Alternaria brassicicola</i> ; B. <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> ; C. <i>Curvularia lunata</i> ; D. <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>cubense</i> , E. <i>Helminthosporium oryzae</i> ; F. <i>Phytophthora palmivora</i> ; G. <i>Pyricularia oryzae</i> ; H. <i>Rhizoctonia solani</i> และ I. <i>Sclerotium rolfsii</i>	50
20 การเป็นปฏิปักษ์ระหว่างรา <i>Eurotium amstelodami</i> (KUFC 10011) (ข้าว) กับราสาเหตุโรคพืช 9 ชนิด (ข้าว) บนอาหาร PDA ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 7 วัน: A. <i>Alternaria brassicicola</i> ; B. <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> ; C. <i>Curvularia lunata</i> ; D. <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>cubense</i> , E. <i>Helminthosporium oryzae</i> ; F. <i>Phytophthora palmivora</i> ; G. <i>Pyricularia oryzae</i> ; H. <i>Rhizoctonia solani</i> และ I. <i>Sclerotium rolfsii</i>	51
21 การเป็นปฏิปักษ์ระหว่างรา <i>Eurotium amstelodami</i> (KUFC 10011) (ข้าว) กับราสาเหตุโรคพืช 9 ชนิด (ข้าว) บนอาหาร PDA ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 14 วัน: A. <i>Alternaria brassicicola</i> ; B. <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> ; C. <i>Curvularia lunata</i> ; D. <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>cubense</i> , E. <i>Helminthosporium oryzae</i> ; F. <i>Phytophthora palmivora</i> ; G. <i>Pyricularia oryzae</i> ; H. <i>Rhizoctonia solani</i> และ I. <i>Sclerotium rolfsii</i>	52
22 การเป็นปฏิปักษ์ระหว่างรา <i>Eupenicillium parvum</i> (KUFC 10018) (ข้าว) กับราสาเหตุโรคพืช 9 ชนิด (ข้าว) บนอาหาร PDA ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 7 วัน: A. <i>Alternaria brassicicola</i> ; B. <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> ; C. <i>Curvularia lunata</i> ; D. <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>cubense</i> , E. <i>Helminthosporium oryzae</i> ; F. <i>Phytophthora palmivora</i> ; G. <i>Pyricularia oryzae</i> ; H. <i>Rhizoctonia solani</i> และ I. <i>Sclerotium rolfsii</i>	53

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
23 การเป็นปฏิปักษ์ระหว่างรา <i>Eupenicillium parvum</i> (KUFC 10018) (เชื้อ) กับ ราสาเหตุโรคพืช 9 ชนิด (ขว) บนอาหาร PDA ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 14 วัน: A. <i>Alternaria brassicicola</i> ; B. <i>Colletotrichum</i> <i>gloeosporioides</i> ; C. <i>Curvularia lunata</i> ; D. <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>cubense</i> ; E. <i>Helminthosporium oryzae</i> ; F. <i>Phytophthora palmivora</i> ; G. <i>Pyricularia oryzae</i> ; H. <i>Rhizoctonia solani</i> และ I. <i>Sclerotium rolfsii</i>	54
24 การเป็นปฏิปักษ์ระหว่างรา <i>Neosartorya</i> sp. (KUFC 10037) (เชื้อ) กับรา สาเหตุโรคพืช 9 ชนิด (ขว) บนอาหาร PDA ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 7 วัน: A. <i>Alternaria brassicicola</i> ; B. <i>Colletotrichum</i> <i>gloeosporioides</i> ; C. <i>Curvularia lunata</i> ; D. <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>cubense</i> ; E. <i>Helminthosporium oryzae</i> ; F. <i>Phytophthora palmivora</i> ; G. <i>Pyricularia oryzae</i> ; H. <i>Rhizoctonia solani</i> และ I. <i>Sclerotium rolfsii</i>	55
25 การเป็นปฏิปักษ์ระหว่างรา <i>Neosartorya</i> sp. (KUFC 10037) (เชื้อ) กับรา สาเหตุโรคพืช 9 ชนิด (ขว) บนอาหาร PDA ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 14 วัน: A. <i>Alternaria brassicicola</i> ; B. <i>Colletotrichum</i> <i>gloeosporioides</i> ; C. <i>Curvularia lunata</i> ; D. <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>cubense</i> ; E. <i>Helminthosporium oryzae</i> ; F. <i>Phytophthora palmivora</i> ; G. <i>Pyricularia oryzae</i> ; H. <i>Rhizoctonia solani</i> และ I. <i>Sclerotium rolfsii</i>	56
26 การเป็นปฏิปักษ์ระหว่างรา <i>Talaromyces flavus</i> (KUFC 10046) (เชื้อ) กับรา สาเหตุโรคพืช 9 ชนิด (ขว) บนอาหาร PDA ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 7 วัน: A. <i>Alternaria brassicicola</i> ; B. <i>Colletotrichum</i> <i>gloeosporioides</i> ; C. <i>Curvularia lunata</i> ; D. <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>cubense</i> ; E. <i>Helminthosporium oryzae</i> ; F. <i>Phytophthora palmivora</i> ; G. <i>Pyricularia oryzae</i> ; H. <i>Rhizoctonia solani</i> และ I. <i>Sclerotium rolfsii</i>	57

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่

หน้า

- 27 การเป็นปฏิปักษ์ระหว่างรา *Talaromyces flavus* (KUFC 10046) (ซ้าย) กับราสาเหตุโรคพืช 9 ชนิด (ขวา) บนอาหาร PDA ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 14 วัน: A. *Alternaria brassicicola*; B. *Colletotrichum gloeosporioides*; C. *Curvularia lunata*; D. *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*; E. *Helminthosporium oryzae*; F. *Phytophthora palmivora*; G. *Pyricularia oryzae*; H. *Rhizoctonia solani* และ I. *Sclerotium rolfsii*

58

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

g	=	gram
KUFC	=	Kasetsart University Fungal Collection
ml	=	milliliter
ppt	=	part per thousand
PDA	=	potato dextrose agar
70% PDA	=	potato dextrose agar with 70% of sea water
μm	=	micrometer
%	=	percentage

ความหลากหลายของราในดินตะกอนใต้ทะเลอ่าวไทยและทะเลอันดามัน และการเป็นปฏิปักษ์ต่อราสาเหตุโรคพืช

Diversity of Microfungi in Marine Sediment from the Gulf of Thailand and Andaman Sea and The *In Vitro* Antagonistic Activity Against Plant Pathogenic Fungi

คำนำ

แนวปะการังและตะกอนดินที่พบในบริเวณอ่าวไทยและฝั่งทะเลอันดามันมีความหลากหลายทางชีวภาพของสิ่งมีชีวิตจำนวนมาก (Yeemin *et al.*, 2006) เป็นที่อยู่อาศัย แหล่งอาหาร ที่วางไข่และที่เพาะฟักตัวอ่อนของสัตว์ทะเลนานาชนิด รวมทั้งเป็นสถานที่ท่องเที่ยว แหล่งยารักษาโรค สถานี่ค้นคว้าวิจัยทางวิทยาศาสตร์ ตลอดจนมีความสำคัญเกี่ยวกับวัฏจักรของธาตุต่างๆ ที่ก่อให้เกิดความสมบูรณ์ของท้องทะเล (Glaser and Mayer, 2009)

Kohlmyer (1979) กล่าวว่า oblingate marine fungi จะเจริญและสร้างสปอร์ในทะเลและบริเวณน้ำกร่อย ส่วน facultative marine fungi เป็นราที่พบในน้ำจืด หรือในดิน แต่สามารถเจริญและสร้างสปอร์ได้ในทะเล

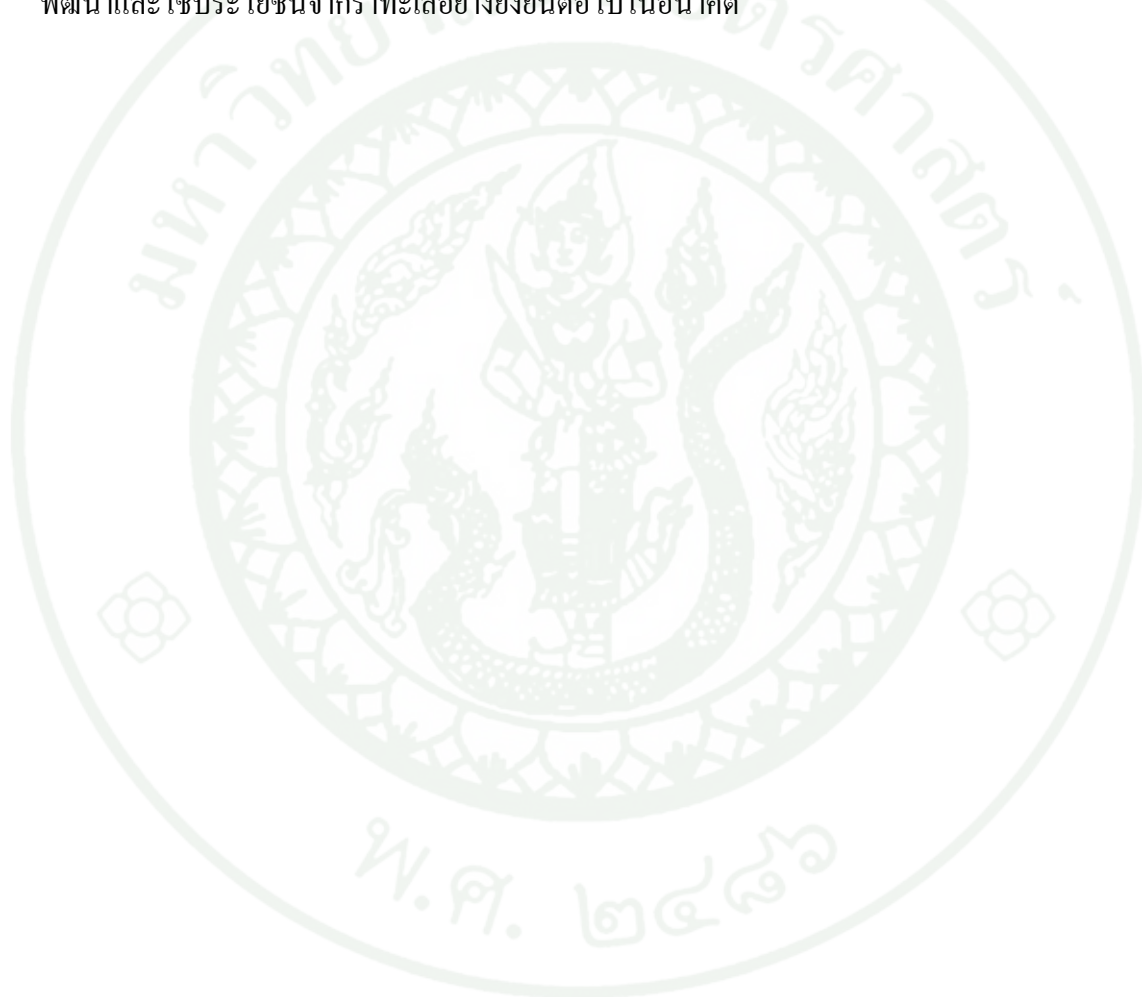
ในปัจจุบัน Kirk *et al.*, 2008 ได้รวบรวมราในทะเลพบว่ามีจำนวน 1,500 ชนิด ซึ่งนับว่าน้อยมากเมื่อเทียบกับราดินที่มีจำนวนหลายพันชนิด

ราทะเลที่อาศัยอยู่ร่วมกับสิ่งมีชีวิตในแนวปะการังและบริเวณตะกอนดินมีความสำคัญในการย่อยสลายเศษซากพืชซากสัตว์และสิ่งมีชีวิตต่างๆ ในทะเลให้เป็นอินทรีย์สาร ทำให้เกิดความสัมพันธ์ของระบบนิเวศบริเวณแนวปะการังและท้องทะเล (Hyde *et al.*, 1998) นอกจากนี้มีรายงานการสร้างสารทุติยภูมิที่สำคัญจากราทะเลเป็นจำนวนมาก ซึ่งมีประสิทธิภาพในการพัฒนาไปเป็นยารักษาโรค เครื่องสำอาง และเคมีภัณฑ์ต่างๆ (Kijjoa and Sawangwong, 2004; Konig *et al.*, 1994)

ราทะเลเป็นจุลินทรีย์กลุ่มหนึ่งที่มีศักยภาพในการสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพชนิดใหม่ที่สามารถพัฒนานำมาใช้ประโยชน์ทางการแพทย์ อุตสาหกรรม และทางการเกษตร การเปลี่ยนแปลง

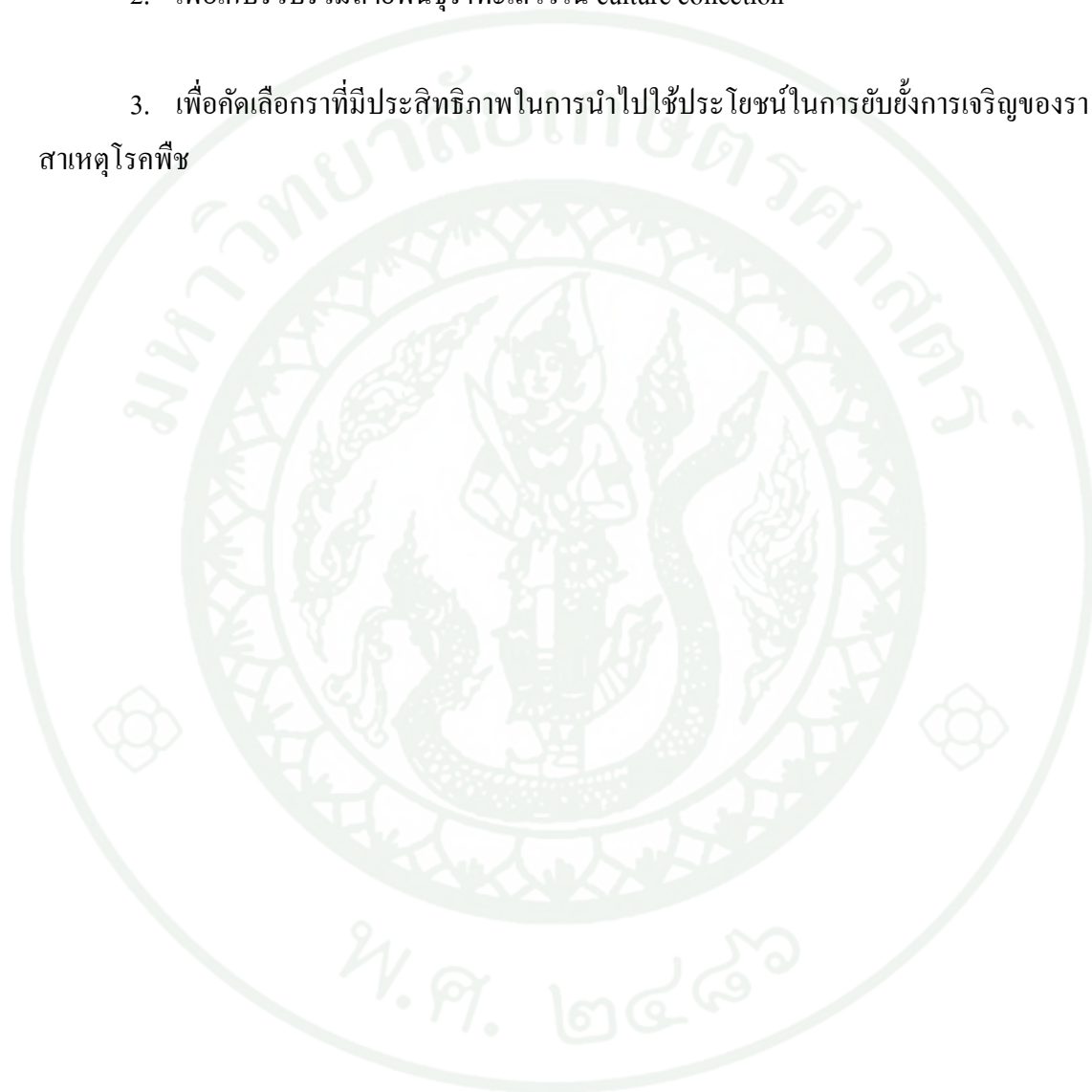
ทางกายภาพของทะเลอย่างต่อเนื่องมีผลต่อความอยู่รอดของราทะเล ดังนั้นราทะเลจึงมีการสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพขึ้นเพื่อป้องกันตัวเอง และเพื่อความอยู่รอด (จริยา, 2552)

การศึกษาความหลากหลายของราทะเลจากดินตะกอนทะเลบริเวณอ่าวไทยและอันดามัน รวมถึงการนำไปใช้ประโยชน์จึงเป็นเรื่องที่มีความสำคัญ เนื่องจากในประเทศไทยยังมีการศึกษารากลุ่มนี้น้อย และได้มีการค้นพบสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่เป็นประโยชน์จากราทะเลหลายชนิด ดังนั้น งานวิจัยเรื่องนี้จึงมีคุณค่าควรแก่การศึกษาวิจัยเพื่อใช้เป็นแนวทางสำคัญที่จะก่อให้เกิดการพัฒนาและใช้ประโยชน์จากราทะเลอย่างยั่งยืนต่อไปในอนาคต



วัตถุประสงค์

1. เพื่อแยกและจำแนกชนิดราที่อาศัยอยู่ในดินตะกอนใต้ท้องทะเลบริเวณแนวปะการัง
2. เพื่อเก็บรวบรวมสายพันธุ์ราทะเลไว้ใน culture collection
3. เพื่อคัดเลือกราที่มีประสิทธิภาพในการนำไปใช้ประโยชน์ในการยับยั้งการเจริญของราสาเหตุโรคพืช



การตรวจเอกสาร

ความหมายและความสำคัญของราทะเล

ราทะเล คือ ราชั้นสูงที่มีวงจรชีวิตสมบูรณ์ภายใต้สภาวะที่มีความเค็ม คือสามารถเจริญเติบโต สร้างเส้นใยและสืบพันธุ์ได้ภายใต้สภาวะที่มีความเค็ม โดยราทะเลที่แท้จริง (obligate marine fungi) จะต้องถูกพบซ้ำแล้วซ้ำเล่าทุกๆ ครั้งในแหล่งที่เก็บตัวอย่าง (Kohlmeier, 1984; Jones *et al.*, 1999; จริยา, 2552)

Samuel *et al.* (2011) ทำการศึกษาประสิทธิภาพของราทะเล 5 ชนิด ได้แก่ *Acremonium* sp., *Aspergillus flavus*, *Geotrichum candidum*, *Penicillium granulatum* และ *Penicillium leuteum* ในการยับยั้งการก่อโรคของแบคทีเรีย 5 ชนิด ที่ทำให้เกิดโรคกับคน โดยแยกจากดินตะกอนจากอ่าวทางชายฝั่งตะวันออกเฉียงใต้ของเมือง Tamilnadu ประเทศอินเดีย ผลการทดลองพบว่ารา *Geotrichum candidum* มีผลในการยับยั้งแบคทีเรียสาเหตุโรคคนทั้ง 5 สายพันธุ์

Jones *et al.* (2006) ศึกษาความหลากหลายของราทะเลพบรากกลุ่ม ascomycota และ basidiomycota ที่สร้างเซลล์สืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ และรากกลุ่มที่สร้างเซลล์สืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ (anamorphic fungi) โดยพบรากกลุ่ม ascomycota มากที่สุด ประมาณร้อยละ 81 ของราทะเลชั้นสูงทั้งหมด รากกลุ่ม ascomycota ส่วนใหญ่สปอร์มีรูปร่างและลวดลายสวยงาม มีระยะพักหรือเมือกหุ้มรอบตัว เพื่อช่วยในการยึดเกาะกับพื้นผิวของวัสดุธรรมชาติในแหล่งน้ำเค็มและช่วยในการแพร่พันธุ์ (Manoch *et al.*, 2007)

Kijjoa and Sawangwong (2004) รายงานว่าราทะเลก็อยู่ในกลุ่มสิ่งมีชีวิตที่มีศักยภาพในการสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ โดยสร้างสารที่มีโครงสร้างทางเคมีชนิดใหม่ และมีการสร้างสารทุติยภูมิที่สามารถพัฒนาไปเป็นยารักษาโรค เครื่องสำอาง และเคมีภัณฑ์ทางการเกษตรต่างๆ ได้ (Konig *et al.*, 1994)

Faulkner (2001) รายงานว่าราทะเลมีความสำคัญโดยตรงในระบบนิเวศทางทะเล จัดเป็นผู้ย่อยสลายซากอินทรีย์สารที่สำคัญ เนื่องจากมีประสิทธิภาพในการย่อยเซลล์โลส ลิกนิน และ ลิกโนเซลลูโลสได้ ราทะเลจึงเป็นจุลินทรีย์ที่มีความสำคัญในการช่วยสร้างความสมดุลในห่วงโซ่อาหารให้กับสิ่งมีชีวิตชนิดอื่น (Hyde *et al.*, 1998)

การศึกษาความหลากหลายของราทะเล

จำริญ และคณะ (2557) ศึกษาราทะเล *Neosartorya* spp. ที่แยกจากสิ่งมีชีวิตในแนวปะการัง ได้แก่ ฟองน้ำ (*Acanthella cavernosa*, *Aka coralliphaga*, *Chondrilla australiensis*, *Halichondria* sp., *Hyrtios erecta*, *Rhabdermia* sp.) ปะการัง *Porites lutea* บริเวณเนื้อเยื่อที่เป็นโรค white spot, ปะการังอ่อน (*Dendronephthya* sp.) พรหมทะเล (*Palythoa caesia*) กัลปังหา (*Rumphella* sp., *Subergorgia* sp.) และ สาหร่าย (*Amphiroa* sp.) แยกโดยใช้วิธี tissue transplanting พบราทะเล *Neosartorya* spp. จำนวน 23 สายพันธุ์ จำแนกได้ 5 ชนิด ได้แก่ *N. fischeri*, *N. laciniosa*, *N. pualistensis*, *N. siamensis*, *N. spinosa* และรา *Neosartorya* spp. ที่ยังไม่สามารถจำแนกชนิดได้อีก 2 สายพันธุ์ ทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมราสาเหตุโรคพืช 9 ชนิด โดยวิธี dual culture พบว่า *Neosartorya* spp. ทั้ง 7 ชนิดมีประสิทธิภาพในการควบคุมการเจริญของเส้นใยราสาเหตุโรคพืช ได้แก่ *Alternaria brassicicola*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Curvularia oryzae*, *Fusarium oxysporum*, *Lasiodiplodia theobromae*, *Phytophthora palmivora* และ *Pythium aphanidermatum* ได้ 24-98 % แต่ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยรา *Rhizoctonia oryzae* และ *Sclerotium rolfsii* ได้

จำริญ และคณะ (2556) ศึกษาราทะเลที่อาศัยอยู่ร่วมกับสิ่งมีชีวิตในแนวปะการัง แยกราโดยใช้วิธี tissue transplanting โดยวางชิ้นส่วนปะการังบนอาหาร malt extract agar (MEA) ที่ผสมน้ำทะเล 70 เปอร์เซ็นต์ บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5-7 วัน ผลการทดลองแยกราทะเลได้จำนวน 551 isolates ซึ่งในฟองน้ำจำแนกได้ 27 สกุล 48 ชนิด โดยฟองน้ำชนิด *Stylissa flabelliformis* พบราทะเลที่มีความหลากหลายมากที่สุดคือ 22 ชนิด ในขณะที่สิ่งมีชีวิตในทะเลชนิดอื่นๆ จำแนกได้ 25 สกุล 48 ชนิด โดยพบราทะเลที่อาศัยอยู่มากในสาหร่ายชนิด *Actinotrichia fragil* ซึ่งมีความหลากหลายชนิดของราทะเลอาศัยอยู่ 19 ชนิด จากการศึกษาพบราทะเลชนิดเด่นที่อาศัยร่วมกับสิ่งมีชีวิตในแนวปะการัง ได้แก่ *Aspergillus fumigatus*, *A. niger*, *Aspergillus* spp., *Curvularia lunata*, *C. pallencens*, *Fusarium solani*, *Penicillium* spp., *Trichoderma* spp., *Geotrichum candidum*, *Emericellopsis minima* และ *Lasiodiplodia theobromae*

Buaruang et al. (2010) ศึกษาความหลากหลายของราทะเลตามแนวปะการังในอ่าวไทย และทะเลอันดามัน โดยเริ่มเก็บฟองน้ำทะเลจำนวน 5 ชนิด ได้แก่ *Clathria reinwardti*, *Chalinula* sp., *Haliclona* sp., *Mycale armata* และ *Xestospongia testudinaria* บริเวณหมู่เกาะแสมสาร จังหวัดจันทบุรี พบราทะเล 79 สายพันธุ์ จำแนกได้ทั้งสิ้น 20 สกุล 23 ชนิด โดยส่วนมากพบราในกลุ่ม

Hyphomycetess, Ascomycetes และ Coelomycetes ตามลำดับ รวบรวมสายพันธุ์นั้นสามารถพบได้ใน ฟองน้ำทะเลทั่วไป เช่น *Penicillium* spp. และ *Phomopsis* sp. ในขณะที่ฟองน้ำทะเลอีก 14 ชนิดถูก เก็บมาจาก หมู่เกาะสิมิลัน จังหวัดพังงา พบราทะเล 227 สายพันธุ์ จัดจำแนกได้ทั้งสิ้น 34 สกุล 51 ชนิด โดยที่พบรากลุ่ม Hyphomycetes มากที่สุด 46 ชนิด ตามมาด้วย รากลุ่ม Ascomycetes 3 ชนิด และ รากลุ่ม Coelomycetes 2 ชนิด

Dethoup and Manoch (2009) ศึกษาความหลากหลายของราที่เจริญในน้ำเค็มบริเวณภาค ตะวันออกจากกิ่งไม้ที่ลอยอยู่ตามชายฝั่ง โดยวิธีการแยกราโดยตรง ลงในอาหาร half strength potato dextrose agar (1/2 PDA) ที่ผสมน้ำทะเล 70 % พบราจำนวน 152 สายพันธุ์ จัดจำแนกได้ 26 สกุล 31 ชนิด ได้แก่ *Algialus parvus*, *Antennospora quadricornuta*, *Arenariomyces trifurcatus*, *Camerosporium* sp., *Clavospora bulbosa*, *Cladobotryum* sp., *Corollospora pulchella*, *Dactylospora haliotrepha*, *Didymosphaeria maritime*, *Emericella nidulans*, *E. varicolor*, *Eurotium* sp., *Halosphaeria quadricornuta*, *H. quadriremis*, *H. hamata*, *Herpotrichella* sp., *Kallichroma tethys*, *Lulworthia grandispora*, *Lulworthia* sp., *Marinosphaera mangrovel*, *Nais inornata*, *Pestalotia* sp., *Pleospora* sp., *Pontoponae* sp., *Savoryella paucispora*, *Spirodesmium eupatoriicola*, *Torpedospora radiata*, *Varicosporina ramulosa*, *Verruculina enalia*, *Zalerion varium* และ unidentified 1 ชนิด

Suetrong *et al.* (2007) ศึกษาความหลากหลายของราทางทะเลในประเทศไทย โดยแยกได้จากเศษซากไม้ที่อยู่ตามชายฝั่ง พบราทางทะเลจำนวน 10 สายพันธุ์ ราที่มีรายงานพบเป็นครั้งแรก ในประเทศไทย ได้แก่ *Aigialus mangrovel*, *Dendryphiella arenaria*, *Lindra thallasiae*, *Mycosphaerella avicenniae*, *Manglicola guatemalensis*, *Patellaria* sp., *Pontoporiae* sp., *Sporomiella* sp., *Swampomyces aegyptiacus* และ *Varicosporina prolifica* นอกจากนี้ยังพบราชนิดอื่นที่เคยมีรายงานแล้วอีกหลายชนิด (Jones *et al.*, 2006; Sakayaroj *et al.*, 2004)

Manoch *et al.* (2007) รายงานการศึกษาราทะเลจำนวน 278 สายพันธุ์ แยกจากบริเวณป่า ชายเลนของศูนย์การศึกษาอ่าวคุ้งกระเบน จังหวัดจันทบุรี

Jones *et al.* (2006) รายงานพบราทะเลจำนวนทั้งสิ้น 154 สายพันธุ์จาก 16 จังหวัดของ ประเทศไทย โดยเก็บตัวอย่างจากเศษซากไม้ที่อยู่นบนชายหาดหรือไม้ที่กำลังย่อยสลายในป่าชายเลน ซึ่งประกอบด้วย รากลุ่ม ascomycota 118 สายพันธุ์ รากลุ่ม deuteromycota 26 สายพันธุ์ รากลุ่ม

basidiomycota 3 สายพันธุ์ ราที่สืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ 28 สายพันธุ์, stramenopiles 7 สายพันธุ์ โดยพบราที่มีรายงานเป็นครั้งแรกในประเทศไทย 33 ชนิด โดยมีหลายสายพันธุ์ที่มีรายงานพบได้ในประเทศไทย เช่น *Antennospora quadrinuta*, *A. salina*, *Cirrenalia pygmea*, *Corollospora maritime*, *Dactylospora haliotrepha*, *Halocyphina villosa*, *Halorosellinia oceanica*, *Lignicola leavis*, *Lulworthia grandispora*, *Periconia prolifica*, *Saagaromyces abonnis*, *Trichocladium melhae*, *Torpedospora radiate*, *Verruculina enalia* และ *Zalerion varium*

Ito *et al.* (2001) ศึกษาราทะเลจากดินบริเวณ rhizosphere ของต้นโกงกางจำนวน 8 ชนิด ในพื้นที่ป่าชายเลน จังหวัดระนอง และ จังหวัดพังงา พบราทะเลจำนวน 42 สายพันธุ์ ราที่พบส่วนใหญ่ได้แก่ *Penicillium* sp., *Trichoderma harzianum* และราที่ยังไม่สามารถจำแนกชนิดได้ โดยราทะเลที่แยกได้จากดินตะกอนรอบต้นโกงกางนั้นสอดคล้องกับรายงานของ Wongthong, (2001); Kongamol, (2001) และ Sriswadskulmee, (2002)

Hyde *et al.* (2000) รายงานราทะเลในประเทศไทยโดยมีการจำแนกชนิดแล้วจำนวน 154 สายพันธุ์ และมี 30 สายพันธุ์ที่ยังไม่สามารถจำแนกชนิดได้ ราทะเลที่พบส่วนใหญ่เป็นราที่จัดอยู่ในกลุ่ม ascomycota โดยพบจำนวน 116 สายพันธุ์ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Kohlmeyer and Volkmann-Kohlmeyer, (1991)

Sponga *et al.* (1999) เก็บตัวอย่างดินตะกอนและฟองน้ำจาก Mediterranean Sea, Red Sea และ Atlantic Ocean ที่ความลึก 20 เมตร นำมาแยกราโดยใช้วิธี soil dilution plate และ soil plate พบรา *Acremonium* sp., *Alternaria* sp., *Aspergillus* sp., *Cephalosporium* sp., *Chaetomium* sp., *Cladosporium* sp., *Geotricum* sp., *Fusarium* sp., *Gliomastix* sp., *Humicola* sp., *Paecilomyces* sp., *Penicillium* sp., *Pestalotia* sp., *Phoma* sp., *Plectosphaerella* sp., *Scopulariopsis* sp., *Stachybotrys* sp. และ *Trichoderma* sp.

การศึกษาราทะเลในประเทศไทยได้เริ่มมีการสำรวจ รวบรวม และตีพิมพ์เอกสาร การศึกษาในปี 1984 โดย Kohlmeyer รายงานราทะเลในประเทศไทยไว้ 160 ชนิด จากนั้นก็ได้เริ่มมีการศึกษารากลุ่มอย่างต่อเนื่อง โดยนักวิทยาศาสตร์อีกหลายท่าน ได้แก่ Hyde (1988; 1989; 1992; 1995), Hyde *et al.* (1990; 1993), Chalermpongse *et al.* (1991), Hyde and Jones (1992), Koch (1986), Sundari *et al.* (1996), Jones *et al.* (1999), Jones *et al.* (2006), Buaruang *et al.* (2010),

Dethoup and Manoch (2009) และ จริยา (2552) จากผลการศึกษาที่ผ่านมาทั้งหมดนับว่าเป็นเพียงส่วนน้อยเมื่อเทียบกับความหลากหลายทางชีวภาพของราทะเลในประเทศไทย

อย่างไรก็ตามได้มีการรวบรวมและเก็บรักษาสายพันธุ์ราทะเลบริสุทธิ์ไว้ที่ห้องปฏิบัติการเก็บรักษาสายพันธุ์จุลินทรีย์ ศูนย์พันธุ์วิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ (ไบโอเทค) ไว้ประมาณ 1,400 สายพันธุ์ (จริยา, 2552)

การศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สร้างจากราทะเล

สภาพสิ่งแวดล้อมภายในท้องทะเลนั้น ถือเป็นระบบนิเวศที่มีความสำคัญทั้งในเชิงความหลากหลายทางชีวภาพ และความหลากหลายทางเคมีภัณฑ์ต่างๆ โดยมีการศึกษาที่เกี่ยวข้องกับสิ่งมีชีวิตสายพันธุ์ในทะเลไว้มากกว่า 300,000 ชนิด (Malakoff, 1997; Pomponi, 1999 และ Winston, 1988) ดังนั้นความอุดมสมบูรณ์ภายใต้ท้องทะเลจึงเป็นแหล่งที่อุดมไปด้วยสารประกอบเคมีภัณฑ์ชนิดใหม่ที่มีการค้นพบ และที่คาดว่าจะค้นพบ เพื่อการนำมาศึกษา การนำไปใช้ประโยชน์ทั้งทางด้านการแพทย์ อุตสาหกรรม รวมทั้งทางด้านเกษตรกรรม ซึ่งสามารถพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีมูลค่าทางเศรษฐกิจสูงต่อไปในอนาคต (Faulkner, 2001; Fenical, 1997 และ Koing *et al.*, 1994) ชนิดของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากราทะเลที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียและรา ได้ถูกรวบรวมไว้โดย Bhadury *et al.* (2006) ดังแสดงในตารางที่ 1 และ 2

ตารางที่ 1 สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สร้างจากราหะเลที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย (ดัดแปลงจากรายของ Bhadury *et al.*, 2006)

Metabolite(s)	Source	Class of compound	Antibacterial	Reference
Guisinol	<i>Emericella unguis</i>	Depside	<i>Staphylococcus aureus</i>	Nielsen <i>et al.</i> (1999)
Lunatin	<i>Curvularia lunata</i>	Anthraquinone	<i>S. aureus</i> , <i>Escherichia coli</i> and <i>Bacillus subtilis</i>	Jadulco <i>et al.</i> (2002)
Varixanthone	<i>Emericella variecolor</i>		<i>E. coli</i> , <i>B. subtilis</i> , <i>S. aureus</i> and <i>Enterococcus faecalis</i>	Malström <i>et al.</i> (2002)
Shamixanthone, Tajixanthonehydrate, Terrein	<i>E. variecolor</i>		<i>E. faecalis</i> , <i>B. subtilis</i> and <i>S. aureus</i>	Malström <i>et al.</i> (2002)
Trichodermamide B	<i>Trichoderma virens</i>	Dipeptide	<i>S. aureus</i> and <i>E. faecium</i>	Garo <i>et al.</i> (2003)
Modiolides A-B	<i>Paraphaeosphaeria</i> sp.	Macrolide	<i>Micrococcus luteus</i>	Tsuda <i>et al.</i> (2003)
Sumiki's acid, acetyl Sumiki's acid	<i>Cladosporium herbarum</i>	Furan carboxylic acid	<i>B. subtilis</i> and <i>S. aureus</i>	Jadulco <i>et al.</i> (2001)
Aspergillitine	<i>Aspergillus versicolor</i>	Chromone derivative	<i>B. subtilis</i>	Lin <i>et al.</i> (2003)
Fusidic acid	<i>Stilbella aciculosa</i>	Steroid	<i>S. aureus</i>	Kuznetsova <i>et al.</i> (2001)
Ascosalipyrrolidinone A	<i>Ascochyta salicorniae</i>	Alkaloid	<i>Bacillus megaterium</i> , <i>B. subtilis</i> and <i>S. aureus</i>	Osterhage <i>et al.</i> (2000)

ตารางที่ 1 (ต่อ)

Metabolite(s)	Source	Class of compound	Antibacterial	Reference
Phomadecalins A–D, Phomadecalin A, B, D CJ-17665 (I)	<i>Phoma</i> sp. <i>Aspergillus ochraceus</i>	 Diketopiperazine & N-indole	<i>B. subtilis</i> and <i>S. aureus</i> <i>S. aureus</i> and <i>S. pyogenes</i>	Che <i>et al.</i> (2002) Sugie <i>et al.</i> (2001)
Siccayne	<i>Halocyphina villosa</i>		Inhibits gram-positive bacteria	Li <i>et al.</i> (2005)
7-deacetoxyanuthone A	<i>Penicillium</i> sp.	polyoxygenated farnesylcyclohexenones	<i>S. aureus</i>	Li <i>et al.</i> (2003)
Ascochital	<i>Kirschsteiniotelia</i> <i>maritima</i>	Aromatic aldehyde	<i>B. subtilis</i>	Bugni (2004)
Enniatin B	<i>Fusarium</i> sp.	Cyclodepsipeptide	<i>S. aureus</i>	Jiang <i>et al.</i> 2002)
Halorosellinic acid, Phenyl lactone	<i>Halorosellinia oceanica</i>	Sesterterpene, Lactone	<i>Mycobacterium tuberculosis</i> and <i>M. tuberculosis</i>	Chinworrungsee <i>et al.</i> (2001)
Seragikinone A	Unidentified marine-derived fungus	Anthracycline related pentacyclic compound	<i>S. aureus</i> , <i>B. subtilis</i> , <i>M. luteus</i> and <i>Corynebacterium xerosis</i>	Shigemori <i>et al.</i> (1999)
Neomangicol B	<i>Fusarium</i> sp.	Sesterterpenes	<i>B. subtilis</i>	Renner <i>et al.</i> (1998)
2-(hydroxymethyl furan)	<i>Coniothyrium</i> sp.		<i>B. megaterium</i>	Höller (1999)

ตารางที่ 2 สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สร้างจากราหะเลที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของรา (ดัดแปลงจากตารางของ Bhadury *et al.*, 2006)

Metabolite(s)	Source	Class of compound	Antibacterial	Reference
Xestodecalactone B	<i>Penicillium ontanense</i>		<i>Candida albicans</i>	Edrada <i>et al.</i> (2002)
Seragikinone A	Unidentified marine fungus	Anthracycline related pentacyclic compound	<i>C. albicans</i>	Shigemori <i>et al.</i> (1999)
Modiolides A-B	<i>Paraphaeosphaeria</i> sp.	Macrolide	<i>Neurospora crassa</i>	Tsuda <i>et al.</i> (2003)
Ascosalipyrrolidinone A	<i>Ascochyta salicorniae</i>	Alkaloid	<i>Mycotypha microsporum</i> , <i>Microbotryum violaceum</i> and <i>Eurotium repens</i>	Osterhage <i>et al.</i> (2001)
2,3-Dihydro-2-hydroxy-2, 4-dimethyl-5-transpropenyfuran-3- one				
3,6,8-trihydroxy-3- [3,5-dimethyl-2-oxo-3 (E)-heptenyl]- 2,3-dihydronaphthalen-1(4H)-one	<i>Keissleriella</i> sp.		<i>C. albicans</i> , <i>T. rubrum</i> and <i>A. niger</i>	Liu <i>et al.</i> (2002)
Zopfiellamides A and B	<i>Zopfiella latipes</i>	Pyrrolidinone derivative	<i>Nematospora coryli</i> and <i>Saccharomyces cerevisia</i>	Daferner <i>et al.</i> (2002)
Microsphaeropsin	<i>Microsphaeropsis</i> sp.	Eremophilane derivative	<i>Ustilagoviolacea</i> and <i>Mycotypha microspora</i>	Höller (1999)

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์ในการเก็บตัวอย่าง
 - 1.1 ถุงซิปล็อคใสสำหรับเก็บตัวอย่าง
 - 1.2 กล้องถ่ายรูป
 - 1.3 กระดาษกันน้ำ
 - 1.4 ดินสอกันน้ำ
 - 1.5 ปากกาเขียนพลาสติก
 - 1.6 สมุดบันทึกรายละเอียด
2. อุปกรณ์และสารเคมีในห้องปฏิบัติการ
 - 2.1 มีดผ่าตัด
 - 2.2 ปากกีสบ
 - 2.3 เข็มเย็บ
 - 2.4 จานเลี้ยงเชื้อ
 - 2.5 หลอดทดลอง
 - 2.6 ปีกเกอร์
 - 2.7 หม้อนึ่งความดันไอน้ำ
 - 2.8 ตู้อบลมร้อน
 - 2.9 ตะเกียงแอลกอฮอล์
 - 2.10 75 % เอทิลแอลกอฮอล์
 - 2.11 90 % เอทิลแอลกอฮอล์
 - 2.12 4 % โซเดียมไฮโปคลอไรด์
 - 2.13 น้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อ
 - 2.14 Shear solution
 - 2.15 สไลด์ และ กระจกปิดสไลด์
 - 2.16 กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo
 - 2.17 กล้องจุลทรรศน์แบบ compound
 - 2.18 กล้องจุลทรรศน์ติดกล้องถ่ายภาพ

2.19 กระดาษทิชชู

2.20 น้ำยาทาเล็บ

2.21 cork borer

2.22 immersion oil

2.23 streptomycin

3. เชื้อราสาเหตุโรคพืชที่ใช้ทดสอบ

3.1 *Alternaria brassicicola*

3.2 *Colletotrichum gloeosporioides*

3.3 *Curvularia lunata*

3.4 *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*

3.5 *Helminthosporium oryzae*

3.6 *Phytophthora palmivora*

3.7 *Pyricularia oryzae*

3.8 *Rhizoctonia solani*

3.9 *Sclerotium rolfsii*

4. อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้แยกจากตะกอนดินทะเล

70% sea water potato dextrose agar

5. อาหารสำหรับเลี้ยงเพื่อจำแนกชนิดเชื้อรา และทดสอบการยับยั้งการเจริญของราสาเหตุ

โรคพืช

Potato dextrose agar (PDA)

วิธีการ

1. ดำรงและเก็บตัวอย่าง

เก็บตัวอย่างดินตะกอนใต้ทะเลบริเวณอ่าวไทย ที่เกาะช้างและเกาะยักษ์เล็ก จังหวัดตราด และบริเวณทะเลอันดามัน อุทยานแห่งชาติหมู่เกาะพีพี และอุทยานแห่งชาติหมู่เกาะลันตา จังหวัดกระบี่ (ตารางที่ 3) นำมาแยกเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อในห้องปฏิบัติการที่ ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตรมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน

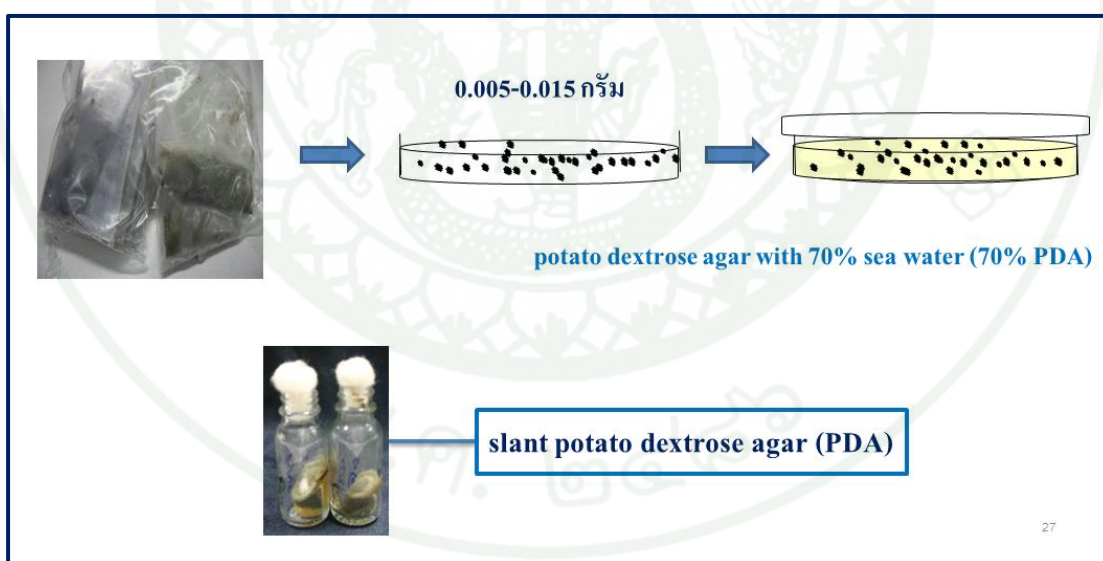
ตารางที่ 3 สถานที่และพิกัดการเก็บดินตะกอนใต้ทะเลบริเวณอ่าวไทยและทะเลอันดามัน

No.	Location	Coordinates	Date
1	เกาะไผ่ หมู่เกาะพีพี จังหวัดกระบี่	7° 48' 49.58" N and 98° 47' 54.99" S	20/04/56
2	อ่าวโละส๊ะ หมู่เกาะพีพี หมู่เกาะพีพี จังหวัดกระบี่	7° 40' 29.10" N and 98° 46' 03.65" S	21/04/56
3	เกาะทะลุ หมู่เกาะพีพี จังหวัดกระบี่	7° 56' 59.94" N and 98° 47' 32.98" S	21/04/56
4	เกาะรอกใน หมู่เกาะลันตา จังหวัดกระบี่	7° 12' 22.55" N and 99° 03' 57.31" S	03/05/56
5	เกาะห้า หมู่เกาะลันตา จังหวัดกระบี่	7° 25' 22.79" N and 98° 53' 29.75" S	04/05/56
6	ดินตะกอนจากสมอเรือลึก 40 เมตร บริเวณ เกาะห้า หมู่เกาะลันตา จังหวัดกระบี่	7° 25' 27.31" N and 98° 53' 41.48" S	04/05/56
7	เกาะช้าง จังหวัดตราด	11° 54' 18.13" N and 102° 19' 03.70" E	17/05/57
8	เกาะยักษ์เล็ก จังหวัดตราด	11° 48' 59.00" N and 102° 12' 56.58" E	17/05/57



ภาพที่ 1 การเดินทางไปเก็บตัวอย่างดินตะกอนใต้ทะเลบริเวณแนวปะการังโดยวิธีดำน้ำลึก (SCUBA) ที่ทะเลอันดามัน จังหวัดกระบี่

ที่มา: Buaruang *et al.* (2010)



ภาพที่ 2 วิธีการแยกเชื้อจากดินตะกอนใต้ทะเล (soil plate method) บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA + น้ำทะเล 70%

2. วิธีการแยกราจากดินตะกอน

Soil plate method (Ebel, 2007; Warcup, 1950; เลขา และคณะ, 2552, 2553) ใช้ microspatula ตักดินประมาณ 0.005-0.015 กรัม ใส่ในจานเลี้ยงเชื้อ แล้วเททับด้วย อาหารวุ้น potato dextrose agar (PDA) ที่ผสมน้ำทะเล 70 เปอร์เซ็นต์ หมุนจานเลี้ยงเชื้อเบา ๆ ให้เมล็ดดินกระจายทั่ว นำไปบ่มในที่มืด ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3-5 วัน หรือนานกว่า ใช้เข็มจิ้มลงไฟผ่า เชื้อตัดปลายเส้นใย (hypha tips) ของราที่เจริญในจานเลี้ยงเชื้อย้ายมาเลี้ยงบน slant PDA เพื่อเก็บ เป็นเชื้อบริสุทธิ์ไว้ใช้ศึกษาต่อไป

3. การจำแนกชนิดของราทะเลโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา

3.1 นำราที่แยกได้มาเลี้ยงบนอาหาร potato dextrose agar (PDA) บ่มไว้เป็นเวลา 7-14 วัน ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส จากนั้นบันทึกลักษณะสีของโคโลนีทั้งด้านบนและด้านล่างของอาหาร เลี้ยงเชื้อ รวมทั้งการสร้างเม็ดสี (pigment) บันทึกรายละเอียดและถ่ายภาพเก็บไว้

3.2 ศึกษารูปร่างลักษณะเส้นใยและการสร้างสปอร์ของราที่เจริญบนอาหารในจานเลี้ยง เชื้อ โดยใช้กล้องจุลทรรศน์ stereo และกล้องจุลทรรศน์แบบ compound โดยตรวจดูลักษณะเส้นใย, โครงสร้างสืบพันธุ์, รูปร่าง ลักษณะและการเกิดของสปอร์ (เลขา และคณะ, 2547)

4. การเก็บรักษาสายพันธุ์ราบริสุทธิ

นำเชื้อบริสุทธิ์ (pure culture) ของราที่จำแนกชนิดเรียบร้อยแล้วมาทำการเก็บรักษาด้วยวิธี ต่างๆ ได้แก่ deep freeze ที่อุณหภูมิ -135 องศาเซลเซียส, soil culture, water culture, liquid paraffin และบน slant PDA เก็บรักษาในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส ที่ห้องปฏิบัติการเชื้อรา ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

4.1 การเก็บรักษาเชื้อราบน slant PDA (Smith and Onions, 1994)

โดยเลี้ยงเชื้อราบนอาหาร PDA ในขวดปากเกลียว เมื่ออาหารเดิมที่เลี้ยงเชื้อราแห้งลง จึงทำการย้ายเชื้อราไปไว้ในอาหารใหม่ เก็บเชื้อราที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส จะเก็บได้นาน

ประมาณ 2-4 เดือน ซึ่งราบางชนิดอาจเก็บได้นานถึง 12 เดือน แต่ถ้าเก็บเชื้อในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4-7 องศาเซลเซียส จะสามารถยืดระยะเวลาการย่ำเชื้อออกไปได้นาน 4-6 เดือน

4.2 การเก็บเชื้อบน slant PDA แล้วเททับด้วยพาราฟินเหลว (Smith and Onions, 1994)

โดยการนำเชื้อรามาเลี้ยงในอาหาร PDA ในขวด vial เมื่อเชื้อราเจริญเต็มที่และมีการสร้างสปอร์ จึงเททับด้วยพาราฟินเหลวที่ผ่านการฆ่าเชื้อโดยการ autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที 2 ครั้ง ให้พาราฟินสูงจากเชื้อรา 1 เซนติเมตร พาราฟินเหลวจะป้องกันอาหารแห้งเนื่องจากการระเหยของน้ำ และลดปริมาณออกซิเจนที่ราจะได้รับ ทำให้ขบวนการเมตาบอลิซึมของราต่ำ เจริญช้าและมีของเสียปล่อยออกมาต่ำ ราจึงมีชีวิตรอดอยู่นานขึ้น

4.3 การเก็บรักษาเชื้อในดิน (Smith and Onions, 1994)

โดยนำดินใส่ในขวด vial ขนาดเล็กนำไปฆ่าเชื้อโดยการ autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที จำนวน 2 ครั้ง เพื่อทำลายจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ในดินที่ทนความร้อน นำเชื้อราบริสทูร์ที่เลี้ยงบน slant PDA ที่เจริญเต็มที่มาทำ spore suspension โดยใช้รำนึ่งฆ่าเชื้อจำนวน 1 มิลลิลิตร แล้วเท spore suspension ที่เตรียมไว้เทลงในขวดที่มีดินที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว บ่มไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5-10 วัน หลังจากนั้นนำไปเก็บไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4-7 องศาเซลเซียส

4.4 การเก็บเชื้อราบนกระดาษกรอง (Fong *et al.*, 2000)

โดยนำกระดาษกรอง Whatman No.1 มาตัดให้มีขนาด 0.5 X 0.5 เซนติเมตร นำไปฆ่าเชื้อโดยการ autoclave ที่ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที แล้วนำไปวางบนอาหาร PDA วางกระดาษกรองให้กระจายสม่ำเสมอ หลังจากนั้น ใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร เจาะบริเวณปลายเส้นใยของรา ใช้เข็มจิ้มเชื้อย่ำรามาเลี้ยงบนอาหาร PDA เพื่อให้ราเจริญคลุมทับกระดาษกรอง เมื่อราเจริญคลุมทับกระดาษกรอง นำปากกีย่ำกระดาษกรองลงในจานเลี้ยงเชื้อ นำไปวางไว้ใน desiccator จนกระดาษกรองแห้ง จึงนำกระดาษกรองมาใส่ใน aluminum foil แล้วนำไปใส่ถุงพลาสติกปิดผนึกให้เรียบร้อย และเก็บที่อุณหภูมิ -19 องศาเซลเซียส

4.5 การเก็บเชื้อราบนเมล็ดข้าวบาร์เลย์ (เลขา และคณะ 2547)

โดยนำเมล็ดข้าวบาร์เลย์ที่นึ่งฆ่าเชื้อ โดยการ autoclave ที่ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที 2 ครั้ง แล้วนำไปวางบนอาหาร PDA วางเมล็ดข้าวบาร์เลย์ให้กระจายสม่ำเสมอ หลังจากนั้น ใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร เจาะบริเวณปลายเส้นใยของรา ให้เข็มเชื้อย้ายรามาเลี้ยงบนอาหาร PDA เพื่อให้ราเจริญคลุมทับเมล็ดข้าวบาร์เลย์ เมื่อราเจริญคลุมทับเมล็ดข้าวบาร์เลย์ นำปากคีบย้ายเมล็ดข้าวบาร์เลย์ที่มีราเจริญคลุมทับเมล็ดข้าวบาร์เลย์ย้ายลงในขวด vial ที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้วปิดฝาพันด้วย paraffin และเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

5. การทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช (Manoch *et al.*, 2008)

คัดเลือกราที่สร้างเม็ดสี (pigment) และเจริญเร็วเพื่อนำมาทดสอบ เลี้ยงเชื้อราทะเลแต่ละชนิดบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ร่วมกับเชื้อราสาเหตุโรคพืช (dual culture) โดยเลี้ยงราที่แยกจากตะกอนดินทะเลที่คัดเลือกก่อนราสาเหตุโรคพืชเป็นเวลา 3 วัน บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 7 และ 14 วัน บันทึกผลการทดลองโดยวัดขนาดรัศมีโคโลนีของราสาเหตุโรคพืชในงานอาหารทดสอบ เปรียบเทียบกับชุดควบคุม (control) คำนวณหาค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเส้นใยราสาเหตุโรคพืช

สูตรคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคพืช (Intana *et al.*, 2003; วันวิสาข์, 2556) โดยใช้สูตร

$$\% \text{ inhibition} = \frac{G_1 - G_2}{G_1 \times 100}$$

G_1 = ระยะการเจริญของเส้นใย (รัศมีของโคโลนี) ของราสาเหตุโรคพืชในชุดควบคุม (control)

G_2 = ระยะการเจริญของเส้นใย (รัศมีของโคโลนี) ของราสาเหตุโรคพืชที่เจริญในงานอาหารทดสอบร่วมกับราที่แยกได้จากดินตะกอนทะเล

ตารางที่ 4 ราสาเหตุโรคพืช 9 ชนิดที่นำมาใช้ในการทดสอบ

Plant pathogenic fungi	Host plant	Diseases
<i>Alternaria brassicicola</i>	<i>Brassica alboglabra</i> (chinese kale)	Leaf spot
<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	<i>Capsicum frutescens</i> (chili)	Anthraxnose
<i>Curvularia lunata</i>	<i>Oryza sativa</i> (rice)	Leaf spot
<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>cubense</i>	<i>Musa sapientum</i> (banana)	Fusarium wilt
<i>Helminthosporium oryzae</i>	<i>Oryza sativa</i> (rice)	Leaf blight
<i>Phytophthora palmivora</i>	<i>Durio zibethinus</i> (durian)	Root rot
<i>Pyricularia oryzae</i>	<i>Oryza sativa</i> (rice)	Leaf blight
<i>Rhizoctonia solani</i>	<i>Oryza sativa</i> (rice)	Sheath blight
<i>Sclerotium rolfsii</i>	<i>Solanum tuberosum</i> (potato)	Basal rot

ผลและวิจารณ์

1. ความหลากหลายของราที่แยกได้จากดินตะกอนใต้ทะเล

ผลการศึกษาพบราจำนวน 50 สายพันธุ์ (isolates) จำแนกได้ 8 สกุล (genera) 12 ชนิด (species) ได้แก่ *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus ochraceus*, *Aspergillus terreus*, *Aspergillus versicolor*, *Cladosporium cladosporioides*, *Emericella nidulans*, *Eupenicillium parvum*, *Eurotium amstelodami*, *Neosartorya* sp. และ *Talaromyces flavus*

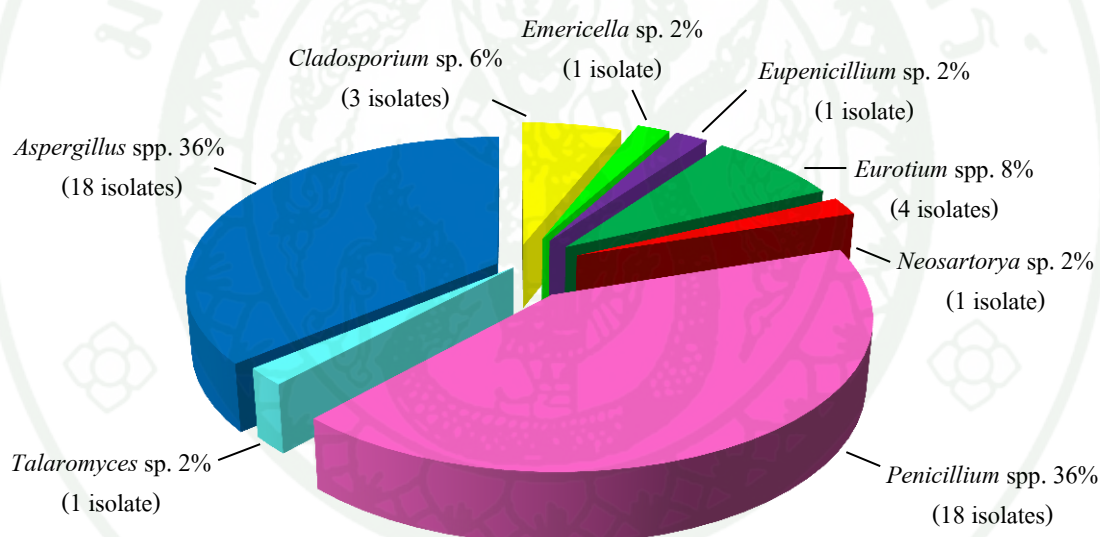
ราที่พบมากที่สุดคือ *Penicillium* spp. โดยพบจำนวน 21 สายพันธุ์ (42%) รองลงมาคือ *Aspergillus* spp. พบ 18 สายพันธุ์ (36%) และ *Eurotium* spp. พบ 4 สายพันธุ์ (8%) *C. cladosporioides* ชนิดละ 3 สายพันธุ์ (6%) (ตารางที่ 5) (ภาพที่ 3) ในขณะที่รา *Emericella nidulans*, *Eupenicillium parvum*, *Neosartorya* sp., และ *T. flavus* พบเพียง 1 สายพันธุ์

รา *Aspergillus* พบ 18 สายพันธุ์ โดยพบรา *A. fumigatus* มากที่สุดจำนวน 4 สายพันธุ์ รองลงมาได้แก่ *A. flavus*, *A. ochraceus*, *A. terreus*, *A. versicolor* และ *C. cladosporioides* ชนิดละ 3 สายพันธุ์, *A. niger* 2 สายพันธุ์, *Emericella nidulans*, *Eupenicillium parvum*, *Eurotium amsterodami*, *Neosartorya* sp., และ *T. flavus* ชนิดละ 1 สายพันธุ์ *Aspergillus* spp., *Eurotium* spp. และ *Penicillium* spp. ที่ยังไม่ได้ระบุชนิด (ตารางที่ 5)

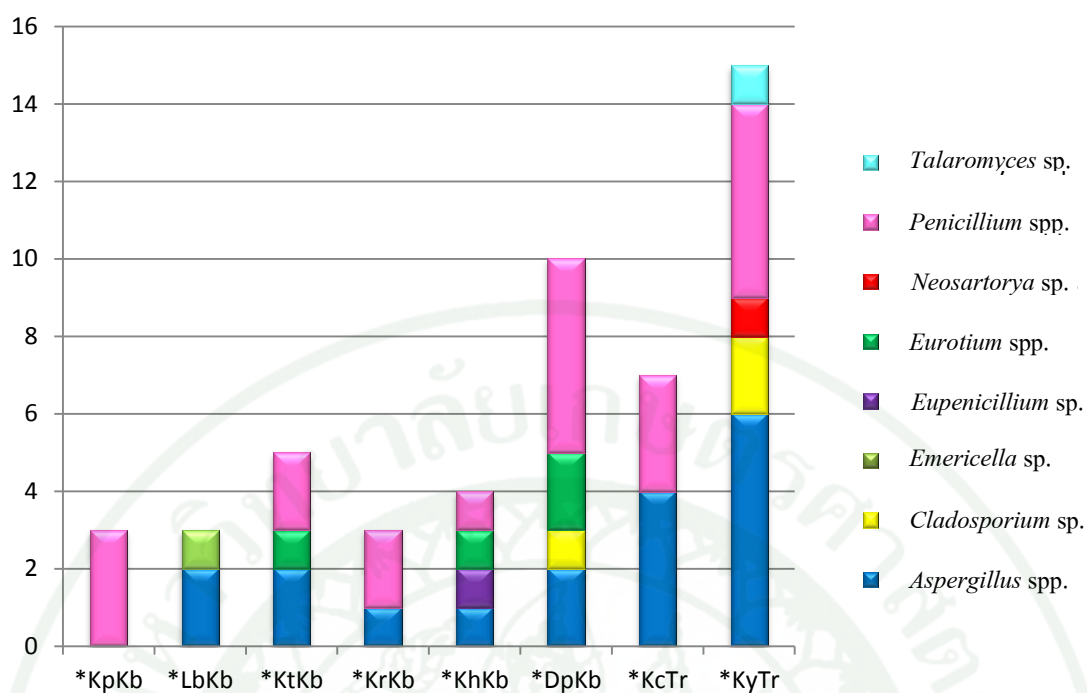
ราที่แยกได้จากดินตะกอนใต้ทะเลที่แยกได้เฉพาะจากทะเลอ่าวไทย ได้แก่ *A. fumigatus*, *Neosartorya* sp. และ *T. flavus* ราที่แยกได้จากดินตะกอนใต้ทะเลที่แยกได้เฉพาะจากทะเลอันดามัน ได้แก่ *A. flavus*, *Emericella nidulans*, *Eupenicillium parvum*, *Eurotium amsterodami* และ *Eurotium* spp. ส่วนรา *A. niger*, *A. terreus*, *Cladosporium cladosporioides*, *Aspergillus* spp. และ *Penicillium* spp. สามารถพบได้จากดินตะกอนใต้ทะเลทั้ง 2 แหล่ง

ธิดา และคณะ (2552) รายงานพบรา *Emericella* spp. ที่เจริญได้ในน้ำทะเล ได้แก่ *E. nidulans* และ *E. varicolor* ซึ่งแยกได้จากจากกิ่งไม้บริเวณชายหาด อำเภอสัตหีบ และอำเภอบางเสา จังหวัดชลบุรี แยกโดยวิธี direct isolation และเลี้ยงบนอาหาร half strength potato dextrose agar (1/2 PDA) ที่ผสมน้ำทะเล 70 % นอกจากนี้ จำริญ และคณะ (2553) รายงานว่าพบรา *E. varicolor* ที่แยกได้จากฟองน้ำทะเล (*Clathria reinwardti*) บริเวณเกาะเสม็ด จังหวัดชลบุรี และอุทยานแห่งชาติ หมู่เกาะตะรุเตา จังหวัดสตูล

Damare *et al.* (2006) แยกจากดินตะกอนใต้ทะเลลึก 5,000 เมตร ในประเทศอินเดีย โดยใช้วิธีต่างๆ พบราที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อจำนวน 180 สายพันธุ์ ส่วนใหญ่เป็นราดินที่สร้างสปอร์ ราที่พบมากได้แก่ รา *Aspergillus* และ ราที่ไม่สร้างสปอร์



ภาพที่ 3 จำนวนและเปอร์เซ็นต์ราที่พบในดินตะกอนใต้ทะเลบริเวณแนวปะการังที่อ่าวไทยและทะเลอันดามัน



ภาพที่ 4 จำนวนและชนิดของราที่พบในดินตะกอนใต้ทะเลบริเวณแนวปะการังที่เกาะต่างๆ บริเวณอ่าวไทย จังหวัดตราด และทะเลอันดามัน จังหวัดกระบี่

หมายเหตุ *KpKb=เกาะไผ่ *LbKb=อ่าวโละตะมะ *KtKb=เกาะทะลุ *KrKb=เกาะรอกใน
*KhKb=เกาะห้า *DpKb=ดินตะกอนสมอเรือ *KcTr=เกาะช้าง *KyTr=เกาะยอเล็ก

ตารางที่ 5 ราชชนิดต่างๆ ที่แยกได้จากดินตะกอนใต้ทะเล

Genus species	KUFC. Number	Location	Dated
<i>Aspergillus flavus</i>	10006	อ่าวโละสะมะ เกาะพีพีเล หมู่เกาะพีพี จังหวัดกระบี่	21/04/56
<i>Aspergillus flavus</i>	10009	เกาะทะลุ หมู่เกาะพีพี จังหวัดกระบี่	21/04/56
<i>Aspergillus flavus</i>	10017	เกาะห้า หมู่เกาะลันตา จังหวัดกระบี่	04/05/56
<i>Aspergillus fumigatus</i>	10041	เกาะยอเล็ก จังหวัดตรัง	17/05/57
<i>Aspergillus fumigatus</i>	10042	เกาะยอเล็ก จังหวัดตรัง	17/05/57
<i>Aspergillus fumigatus</i>	10043	เกาะยอเล็ก จังหวัดตรัง	17/05/57
<i>Aspergillus fumigatus</i>	10045	เกาะยอเล็ก จังหวัดตรัง	17/05/57
<i>Aspergillus niger</i>	10014	เกาะรอกใน หมู่เกาะลันตา จังหวัดกระบี่	03/05/56
<i>Aspergillus niger</i>	10035	เกาะช้าง จังหวัดตรัง	17/05/57
<i>Aspergillus orchraceus</i>	10005	เกาะช้าง จังหวัดตรัง	17/05/57
<i>Aspergillus terreus</i>	10032	อ่าวโละสะมะ เกาะพีพีเล หมู่เกาะพีพี จังหวัดกระบี่	21/04/56
<i>Aspergillus terreus</i>	10033	เกาะช้าง จังหวัดตรัง	17/05/57
<i>Aspergillus terreus</i>	10034	เกาะช้าง จังหวัดตรัง	17/05/57
<i>Aspergillus versicolor</i>	10048	เกาะยอเล็ก จังหวัดตรัง	17/05/57
<i>Aspergillus</i> sp.1	10019	ดินตะกอนจากสมอเรือลึก 40 เมตร บริเวณเกาะห้า หมู่เกาะลันตา จังหวัดกระบี่	04/05/56
<i>Aspergillus</i> sp.2	10022	ดินตะกอนจากสมอเรือลึก 40 เมตร บริเวณเกาะห้า หมู่เกาะลันตา จังหวัดกระบี่	04/05/56
<i>Aspergillus</i> sp.3	10050	เกาะยอเล็ก จังหวัดตรัง	17/05/57
<i>Aspergillus</i> sp.4	10007	เกาะทะลุ หมู่เกาะพีพี จังหวัดกระบี่	21/04/56
<i>Cladosporium</i>	10028	ดินตะกอนจากสมอเรือลึก 40 เมตร บริเวณเกาะห้า หมู่เกาะลันตา จังหวัดกระบี่	04/05/56
<i>cladosporioides</i>			
<i>Cladosporium</i>	10044	เกาะยอเล็ก จังหวัดตรัง	17/05/57
<i>cladosporioides</i>			
<i>Cladosporium</i>	10049	เกาะยอเล็ก จังหวัดตรัง	17/05/57
<i>cladosporioides</i>			

ตารางที่ 5 (ต่อ)

Genus species	KUFC. Number	Location	Dated
<i>Emericella</i> <i>nidulans</i>	10004	อ่าวโละซมะ เกาะพีพีเล หมู่เกาะพีพี จังหวัดกระบี่	21/04/56
<i>Eurotium</i> <i>amsterodami</i>	10011	เกาะทะลุ หมู่เกาะพีพี จังหวัดกระบี่	21/04/56
<i>Eurotium</i> sp.1	10016	เกาะห้า หมู่เกาะลันตา จังหวัดกระบี่	04/05/56
<i>Eurotium</i> sp.2	10020	ดินตะกอนจากสมอเรือลึก 40 เมตร บริเวณ เกาะห้า หมู่เกาะลันตา จังหวัดกระบี่	04/05/56
<i>Eurotium</i> sp.3	10027	ดินตะกอนจากสมอเรือลึก 40 เมตร บริเวณ เกาะห้า หมู่เกาะลันตา จังหวัดกระบี่	04/05/56
<i>Neosartorya</i> sp.	10037	เกาะยอเล็ก จังหวัดตรัง	17/05/57
<i>Penicillium</i> sp.1	10001	เกาะไผ่ หมู่เกาะพีพี จังหวัดกระบี่	20/04/56
<i>Penicillium</i> sp.2	10002	เกาะไผ่ หมู่เกาะพีพี จังหวัดกระบี่	20/04/56
<i>Penicillium</i> sp.3	10003	เกาะไผ่ หมู่เกาะพีพี จังหวัดกระบี่	20/04/56
<i>Penicillium</i> sp.4	10008	เกาะทะลุ หมู่เกาะพีพี จังหวัดกระบี่	21/04/56
<i>Penicillium</i> sp.5	10010	เกาะทะลุ หมู่เกาะพีพี จังหวัดกระบี่	21/04/56
<i>Penicillium</i> sp.6	10012	เกาะรอกใน หมู่เกาะลันตา จังหวัดกระบี่	03/05/56
<i>Penicillium</i> sp.7	10013	เกาะรอกใน หมู่เกาะลันตา จังหวัดกระบี่	03/05/56
<i>Penicillium</i> sp.8	10015	เกาะห้า หมู่เกาะลันตา จังหวัดกระบี่	04/05/56
<i>Penicillium</i> sp.9	10021	ดินตะกอนจากสมอเรือลึก 40 เมตร บริเวณ เกาะห้า หมู่เกาะลันตา จังหวัดกระบี่	04/05/56
<i>Penicillium</i> sp.10	10023	ดินตะกอนจากสมอเรือลึก 40 เมตร บริเวณ เกาะห้า หมู่เกาะลันตา จังหวัดกระบี่	04/05/56
<i>Penicillium</i> sp.11	10024	ดินตะกอนจากสมอเรือลึก 40 เมตร บริเวณ เกาะห้า หมู่เกาะลันตา จังหวัดกระบี่	04/05/56
<i>Penicillium</i> sp.12	10025	ดินตะกอนจากสมอเรือลึก 40 เมตร บริเวณ เกาะห้า หมู่เกาะลันตา จังหวัดกระบี่	04/05/56
<i>Penicillium</i> sp.13	10026	ดินตะกอนจากสมอเรือลึก 40 เมตร บริเวณ เกาะห้า หมู่เกาะลันตา จังหวัดกระบี่	04/05/56

ตารางที่ 5 (ต่อ)

Genus species	KUFC. Number	Location	Dated
<i>Penicillium</i> sp.14	10029	เกาะช้าง จังหวัดตราด	17/05/57
<i>Penicillium</i> sp.15	10030	เกาะช้าง จังหวัดตราด	17/05/57
<i>Penicillium</i> sp.16	10031	เกาะช้าง จังหวัดตราด	17/05/57
<i>Penicillium</i> sp.17	10036	เกาะยกษ์เล็ก จังหวัดตราด	17/05/57
<i>Penicillium</i> sp.18	10038	เกาะยกษ์เล็ก จังหวัดตราด	17/05/57
<i>Penicillium</i> sp.19	10039	เกาะยกษ์เล็ก จังหวัดตราด	17/05/57
<i>Penicillium</i> sp.20	10040	เกาะยกษ์เล็ก จังหวัดตราด	17/05/57
<i>Penicillium</i> sp.21	10047	เกาะยกษ์เล็ก จังหวัดตราด	17/05/57
<i>Talaromyces flavus</i>	10046	เกาะยกษ์เล็ก จังหวัดตราด	17/05/57

2. การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของราที่แยกได้จากดินตะกอนใต้ทะเล

2.1 *Aspergillus flavus* Link, 1809 (KUFC 1006, 10009, 10017)

แหล่งที่พบ อ่าวโละสะมะ เกาะพีพีเล หมู่เกาะพีพี จังหวัดกระบี่, เกาะทะลุ หมู่เกาะพีพี จังหวัดกระบี่ และ เกาะห้า หมู่เกาะลันตา จังหวัดกระบี่

เอกสารอ้างอิง: Raper and Fennell (1965)

โคโลนีบนอาหาร PDA อายุ 7 วัน ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6-7.8 เซนติเมตร conidial head สีเหลืองอมเขียว และเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเมื่อมีอายุมากขึ้น conidial head เป็นแบบแผ่ออกจากศูนย์กลาง (radiate) และมีขนาดเล็ก conidiophore ผงัหนา และมีหนาม ขาว 4-6 x 480-690 ไมโครเมตร ไม่มีสี vesicle มีลักษณะกลมหรือเกือบกลม metulae และ phialide (biserial Aspergilla) phialide มีขนาด 3-5 x 5.8-11 ไมโครเมตร ไม่มีสี conidium มีลักษณะกลมหรือเกือบกลม ขนาด 3-5.5 ไมโครเมตร ราสร้าง sclerotium รูปร่างกลมหรือค่อนข้างกลม เส้นผ่าศูนย์กลาง 430-750 ไมโครเมตร ระยะแรกจะมีสีครีมและเมื่ออายุมากขึ้นจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้ม ลักษณะแข็ง

Samson *et al.* (2002) รายงานว่ารา *Aspergillus flavus* สร้างสารก่อมะเร็ง aflatoxin B₁ และ B₂ และสาร cyclopiazonic acid ซึ่งเป็นพิษกับคนโดยพบปนเปื้อนในอาหาร เมล็ดธัญพืช ข้าว ของเครื่องใช้และวัสดุที่อัดขึ้นภายในอาคารบ้านเรือน

Samuel *et al.* (2011) ศึกษาว่ารา *Aspergillus flavus* จากดินตะกอนบริเวณอ่าวทางชายฝั่งตะวันออกเฉียงใต้ของเมือง Tamilnadu ประเทศอินเดีย โดยทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรียสาเหตุโรคคน

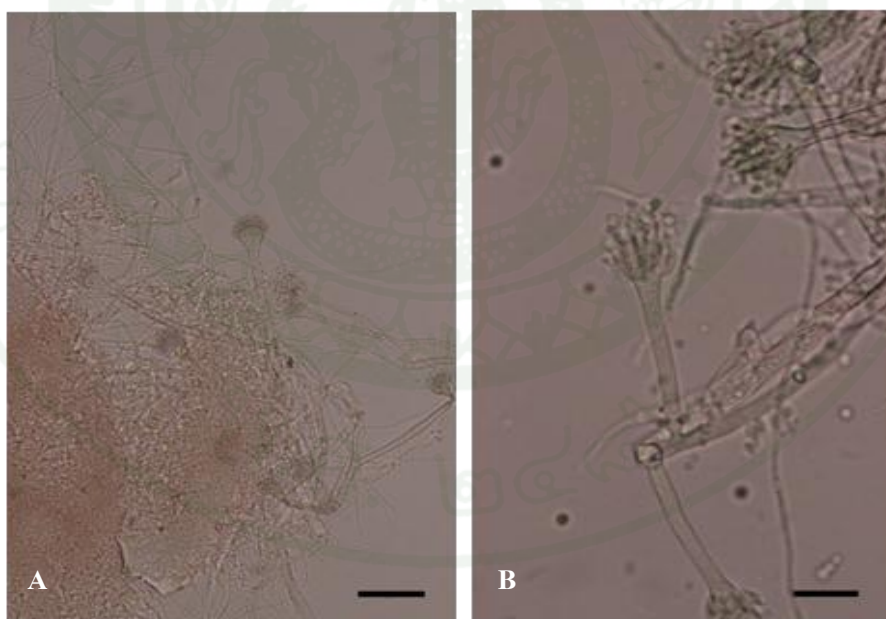
2.2 *Aspergillus fumigatus* Lress, 1863 (KUFC 10041, 10042, 10043, 10045) (ภาพที่ 5)

แหล่งที่พบ เกาะยอเล็ก จังหวัดตราด

เอกสารอ้างอิง: Raper and Fennell (1965)

โคโลนีบนอาหาร PDA อายุ 7 วัน ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5.5-6 เซนติเมตร สีเขียวอมฟ้า (bluish green) conidial head มีลักษณะแบบแท่ง (columnar) สร้าง uniseriate *Aspergilla* เกิดบน conidiophore ขนาด 130-270 x 6.5-10 ไมโครเมตร ผนังเรียบ สร้าง phialide เรียงเป็นแถวเฉพาะด้านบน 3 ใน 4 ของ vesicle ลักษณะของ conidium มีลักษณะกลม ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2.8-3.2 ไมโครเมตร ผนังเรียบจนถึงขรุขระหรือคล้ายหนาม (spinose) (ภาพที่ 5A, 5B)

Aspergillus fumigatus สามารถพบแพร่กระจายได้ทั่วโลก เจริญได้ในอุณหภูมิสูงและมีปริมาณออกซิเจนต่ำจึงย่อยสลายอินทรีย์วัตถุได้ดี (Domsch *et al.*, 1980) อีกทั้ง Samson *et al.* (2002) รายงานว่ารา *A. fumigatus* สามารถสร้างสารพิษหลายชนิด ได้แก่ fumagillin, fumitoxins, fumigaclavines A และ C, fumitremorgins, fumiquinazolines, gliotoxin, helvolic acid, pseurotins, pyripyropens, methyl-sulochrin, tryptacidin และ verruculogen รวมถึงเป็นสาเหตุโรค aspergillosis ในคนและสัตว์ โดยจะเข้าทำลายระบบทางเดินหายใจก่อให้เกิดการติดเชื้อในระบบทางเดินหายใจในคนและสัตว์



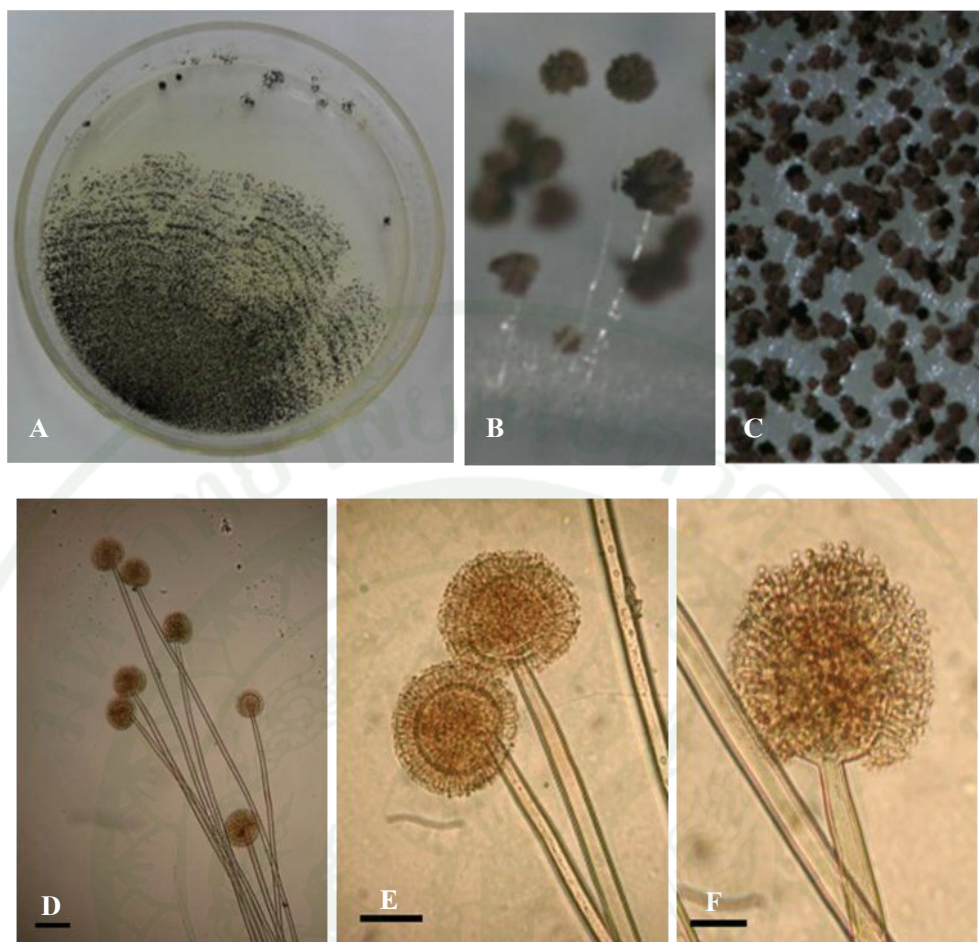
ภาพที่ 5 *Aspergillus fumigatus* (KUFC 10041): A, B. conidial heads และ conidiophores ภายใต้อกล้องจุลทรรศน์แบบ compound (Bars: A = 5 μ m; B = 2 μ m)

2.3 *Aspergillus niger* Van Tiegh., 1867 (KUFC 10014, 10035) (ภาพที่ 6)

แหล่งที่พบ เกาะรอกใน หมูเกาะลันตา จังหวัดกระบี่ และ เกาะช้าง จังหวัดตราด
เอกสารอ้างอิง: Raper and Fennell (1965)

โคโลนีบนอาหาร PDA อายุ 7 วัน ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6-7 เซนติเมตร โคโลนีมีสีขาวและต่อมาเปลี่ยนเป็นสีดำหรือน้ำตาลดำ (brownish black) (ภาพที่ 6A) สร้าง conidial head เป็นแบบแผ่ออกจากศูนย์กลาง มีสีดำหรือน้ำตาลเข้ม รูปร่างกลมขนาดใหญ่ (ภาพที่ 6B, 6C) conidiophore ใสไม่มีสี แผ่เรียบ ยาว 0.5-1 มิลลิเมตร มี matulae และ phialide (biseriate *Aspergilla*) เส้นผ่านศูนย์กลาง 3-4 ไมโครเมตร มีสีน้ำตาล conidium ลักษณะกลม (globose) (ภาพที่ 6D – 6F)

Klich (2002) รายงานว่า สามารถพบรา *A. niger* แพร่กระจายได้ทั่วโลก ทั้งในเขตร้อนและเขตร้อนชื้น พบได้ใน ดิน ชากพืช บริเวณรอบรากพืช (rhizosphere) และเมล็ดพืช เป็นต้น มีรายงานการสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพหลายชนิด และสามารถนำมาใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมอาหาร มีประสิทธิภาพในการผลิตเอนไซม์ต่างๆ ได้หลายชนิด เช่น amylase, amyloglucosidase, cellulose, lactase และ pectinases เป็นต้น อย่างไรก็ตามราชนิดนี้สามารถสร้างสารพิษ ochratoxin ในผลิตภัณฑ์ทางการเกษตร เช่น ธัญพืช องุ่น และโกโก้ และสร้างสารพิษ fumonisin ในกาแฟ ซึ่งเป็นสารพิษที่ก่อให้เกิดมะเร็ง (Samson *et al.*, 2002)



ภาพที่ 6 *Aspergillus niger* (KUFC 10014): A. โคโลนีของราบน PDA; B, C. conidial heads จากกล้องจุลทรรศน์แบบ stereo; D-F. conidial heads และ conidiophores ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ compound (Bars: D = 2 μm ; E,F = 1 μm)

2.4 *Aspergillus terreus* (KUFC 10032, 10033, 10034) (ภาพที่ 7)

แหล่งที่พบ อ่าวโลหะมะ เาะพีพีเล หมู่เกาะพีพี จังหวัดกระบี่ และ เกาะช้าง จังหวัดตราด

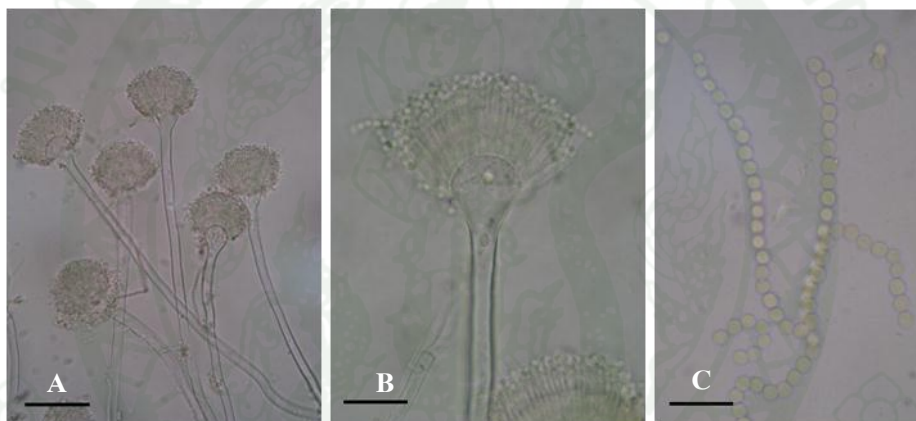
เอกสารอ้างอิง: Raper and Fennell (1965)

โคโลนีบนอาหาร PDA อายุ 7 วัน ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5.5-6.5 เซนติเมตร เส้นใยแผ่บางๆ บนผิวอาหารวัน conidial head รูปร่างเป็นแท่ง (column) สีเหลืองน้ำตาล conidiophore พนังเรียบ สี ขนาด 4-6 x 100-120 ไมโครเมตร มีปลายด้านบนโป่งออกเรียกว่า vesicle มีลักษณะคล้ายโดม เส้นผ่านศูนย์กลาง 8-16 ไมโครเมตร phialide

ขนาด 5-6 x 2.5 ไมโครเมตร เป็นแบบ biseriate *Aspergilla* conidium รูปร่างกลมใสผนังเรียบ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2-2.7 ไมโครเมตร (ภาพที่ 7A – 7C)

รา *A. terreus* พบได้ทั่วไปในดิน (Domsch *et al.*, 1993) อาหาร (foodstuffs) (Samson *et al.*, 2002) และมีรายงานการสร้างสารพิษ เช่น patulin, citrinin, citreoviridin และ gliotoxin (Klich, 2002)

Parvatkar *et al.* (2009) สามารถแยกรา *A. terreus* ได้จากปะการัง (*Sinularia kavarattiensis*) ที่ยังมีอายุน้อย และศึกษาสารเมแทบอไลต์จากรา พบว่าสามารถสร้างสารในกลุ่ม butenolides ชนิดใหม่ 2 ชนิด คือ aspernolides A และ aspernolides B



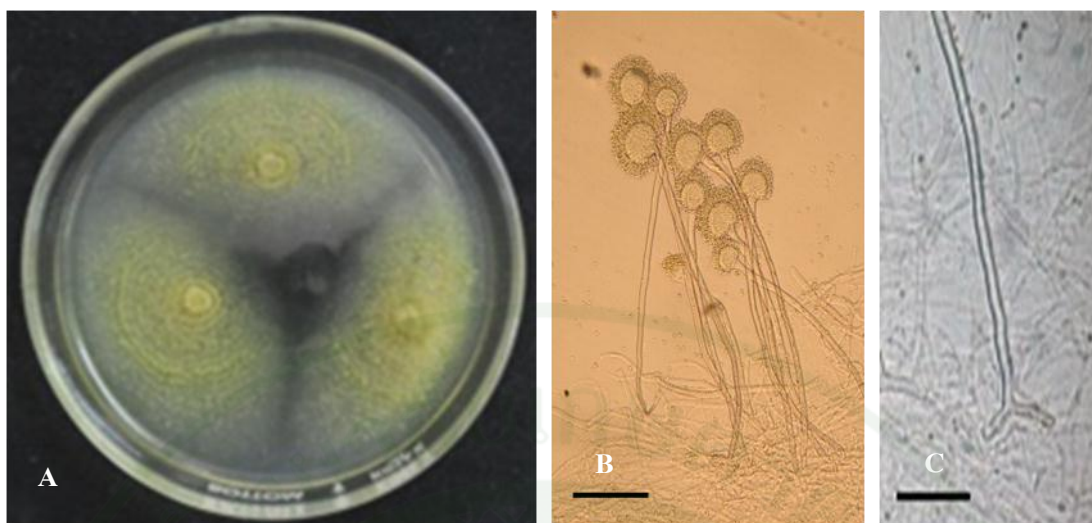
ภาพที่ 7 *Aspergillus terreus* (KUFC 10032): A, B. conidial heads และ conidiophores
C. conidia ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ compound (Bars: A = 5 μ m; B,C = 2 μ m)

2.5 *Aspergillus ochraceus* (KUFC 10005) (ภาพที่ 8)

แหล่งที่พบ เกาะช้าง จังหวัดตราด

เอกสารอ้างอิง: Raper and Fennell (1965)

โคโลนีบนอาหาร PDA อายุ 14 วัน ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส สีเหลืองอมเขียว (ภาพที่ 8A) มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 4-6 เซนติเมตร สีเขียว conidial heads เป็นแบบแนวตั้งตรง (columnar) และมีขนาดเล็ก conidiophore ไม่มี vesicle มีลักษณะกลม metulae และ phialide ไม่มี conidium มีลักษณะกลม (ภาพที่ 8B, 8C)



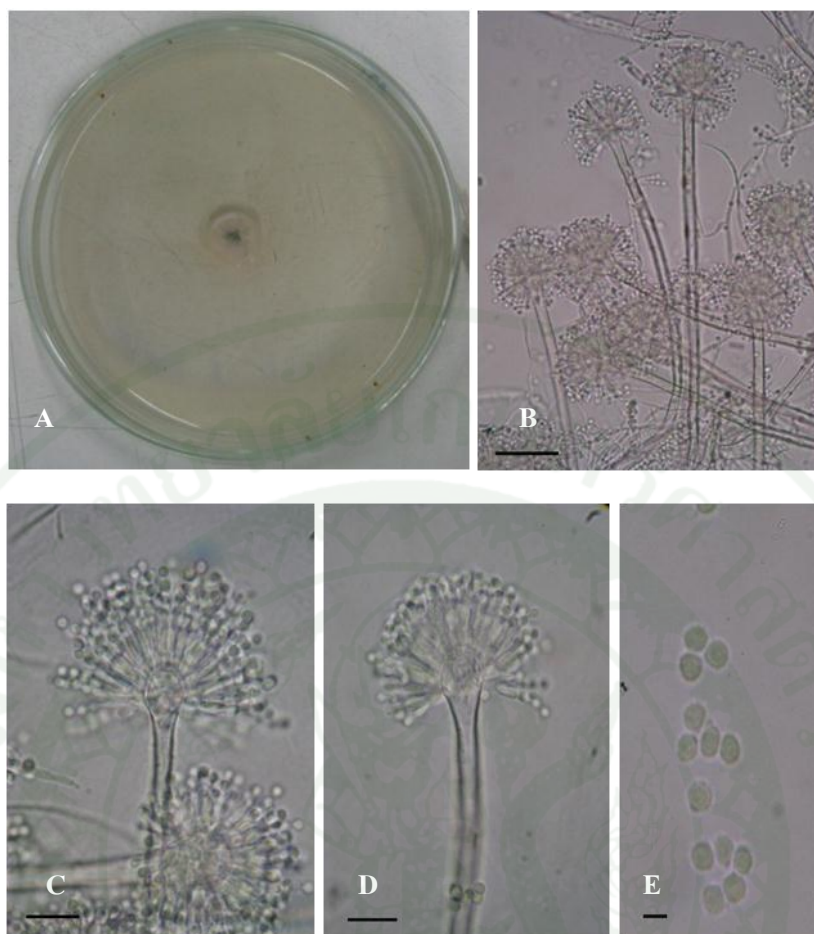
ภาพที่ 8 *Aspergillus ochraceus* (KUFC 10032): A. โคลนิจของราบน PDA อายุ 14 วัน ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส; B. conidial heads และ conidiophores; C. foot cell และ conidiophore ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ compound (Bars: B = 5 μ m; C = 2 μ m)

2.6 *Aspergillus versicolor* (KUFC 10048) (ภาพที่ 9)

แหล่งที่พบ เกษะยักษ์เล็ก จังหวัดตราด

เอกสารอ้างอิง: Raper and Fennell (1965)

โคลนบนอาหาร PDA อายุ 7 วัน ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เจริญช้า มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3.5-4.5 เซนติเมตร ขอบนอกสีครีมอมชมพู บริเวณกลางโคโลนีสีเขียวเข้ม (ภาพที่ 9A) conidial heads เป็นแบบแผ่ออกจากศูนย์กลาง (radiate) และมีขนาดเล็ก conidiophore ไม่มี vesicle มีลักษณะกลมหรือเกือบกลม metulae และ phialide ไม่มี conidium มีลักษณะกลม (ภาพที่ 9B – 9E)



ภาพที่ 9 *Aspergillus versicolor* (KUFC 10048): A. โคโลนีของราบน PDA อายุ 7 วัน ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส; B-D. conidial heads และ conidiophores; E. conidia ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ compound (Bars: B = 5 μm ; C-D = 2 μm ; E = 1 μm)

2.7 *Cladosporium cladosporioides* (Fres.) de Vries, 1952 (KUFC 10028, 10044, 10049)
(ภาพที่ 10)

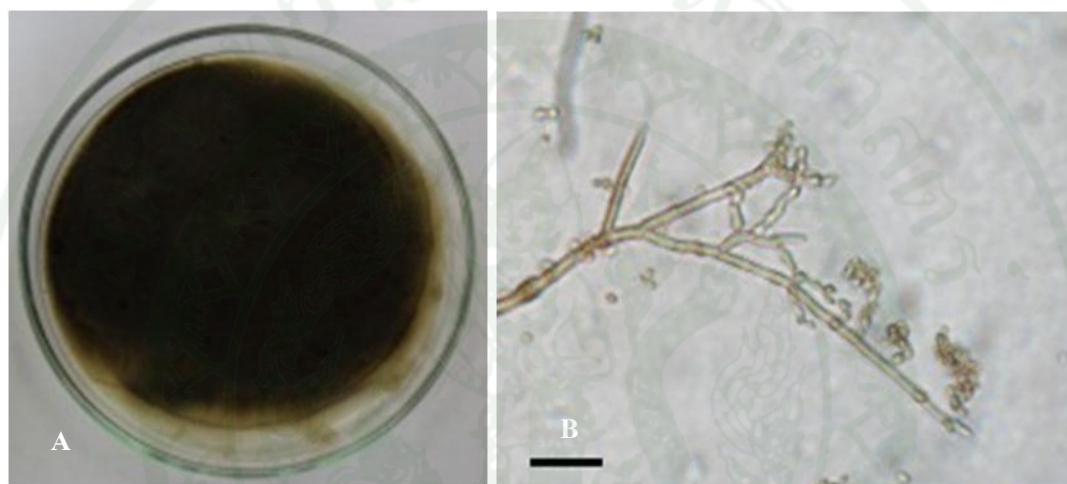
แหล่งที่พบ ดินตะกอนจากสมอเรือลึก 40 เมตร บริเวณเกาะห้า หมู่เกาะลันตา จังหวัดกระบี่ และ เกาะชัยเล็ก จังหวัดตราด

เอกสารอ้างอิง: Ellis (1971)

โคโลนีบนอาหาร PDA อายุ 7 วัน ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส มีลักษณะคล้ายกำมะหยี่ สีเขียวมะกอก เปลี่ยนสีฐานอาหารเป็นสีเขียวมะกอกอมดำ ด้านใต้โคโลนีมีสีดำเข้มแตกเป็นแฉก ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 4 เซนติเมตร (ภาพที่ 10A) สร้าง conidiophore ตั้งตรง แตกกิ่ง

ก้านที่ส่วนปลาย ผนังเรียบ ขนาด $2-5 \times 300-380$ ไมโครเมตร conidium เกิดจากการแตกหน่อ (budding) มีเซลล์เดียว ลักษณะรีปลายมนคล้ายผลมะนาว (lemon shaped) ผนังเรียบ ขนาด $3.5-8 \times 2-4$ ไมโครเมตร (ภาพที่ 10B)

Soumya *et al.* (2013) ศึกษาความหลากหลายของราที่แยกจากดินตะกอนที่ระดับชั้น และความลาดเอียงของพื้นที่ระดับต่างๆ ในประเทศอินเดีย พบรา *Cladosporium cladosporioides* และราทะเลชนิดอื่นๆ อีกหลายชนิด



ภาพที่ 10 *Cladosporium cladosporioides*: A. โคลนีสของราบน PDA อายุ 14 วัน ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส; B. ลักษณะ conidiophores และ conidia (Bar: B = 2 μ m)

2.8 *Emericella nidulans* (Eidam) Vuill. 1927 (KUFC 10004)

แหล่งที่พบ อ่าวโละสะมะ เกาะพีพีเล หมู่เกาะพีพี จังหวัดกระบี่

เอกสารอ้างอิง: Raper and Fennell (1965)

Anamorph: *Aspergillus nidulans*

โคโลนีสบนอาหาร PDA สีเขียวอมเทา grayish green ขอบโคโลนีสสีขาว ด้านใต้โคโลนีสสีขาวอมส้ม เมื่ออายุ 7 วัน มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 4.5-5.5 เซนติเมตร สร้าง ascomata เรียกว่า cleistothecium รูปร่างกลมหรือค่อนข้างกลม สีแดงอมม่วง ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 80-280 ไมโครเมตร มี hull cell รูปร่างกลม หรือเกือบกลม สี ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 9-14 ไมโครเมตร ล้อมรอบ ascomata, ascus รูปร่างกลม ภายใน ascus มี 8 ascospores สลายตัวง่าย ascospore สีม่วง

แดง ขนาด 5-6 x 3-3.5 ไมโครเมตร ลักษณะเป็นร่องด้านข้างคล้ายลูกกรอก มีส่วนที่ยื่นออกมาเป็นสัน (equatorial crests) ผนังด้านบนเรียบ

รา *Aspergillus nidulans* (anamorph) สร้าง conidial head เป็นแบบ short columnar สีเขียว conidiophore สีน้ำตาลอมเทา ผิวเรียบ ขนาด 45-150 x 3.5-7 ไมโครเมตร vesicle สีน้ำตาลอมเทา ขนาด 8-20 ไมโครเมตร เป็นแบบ biseriate *Aspergilla* มี metulae ขนาด 6-8 x 2-3.5 ไมโครเมตร และ phialide ขนาด 5.5-6.5 x 2-3 conidium รูปร่างกลม ผนังขรุขระ (rugulose) สีไม่มีสีหรือเขียวอมเทา ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2.5-3.8 ไมโครเมตร

ธิดา และคณะ (2552) รายงานพบรา *Emericella* ซึ่งเป็น teleomorph ของรา *Aspergillus* ได้แก่ *E. nidulans* และ *E. varicolor* โดยแยกได้จากกิ่งไม้บริเวณชายหาด อำเภอสัตหีบ และอำเภอบางเสร่ จังหวัดชลบุรี และได้มีรายงานว่ารา *E. nidulans* ยับยั้งการเจริญของเส้นใยรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* สาเหตุโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ (Sibounnavong *et al.*, 2009)

Samson *et al.* (2002) รายงานว่ารา *E. nidulans* สร้างสาร sterigmatocystin ซึ่งเป็นสารตั้งต้นของสารพิษ aflatoxin ที่ก่อให้เกิดโรคมะเร็ง

2.9 *Eupenicillium parvum* (Raper & Fennell) Stolk & D.B. Scott, 1967 (KUFC 10018)
(ภาพที่ 11)

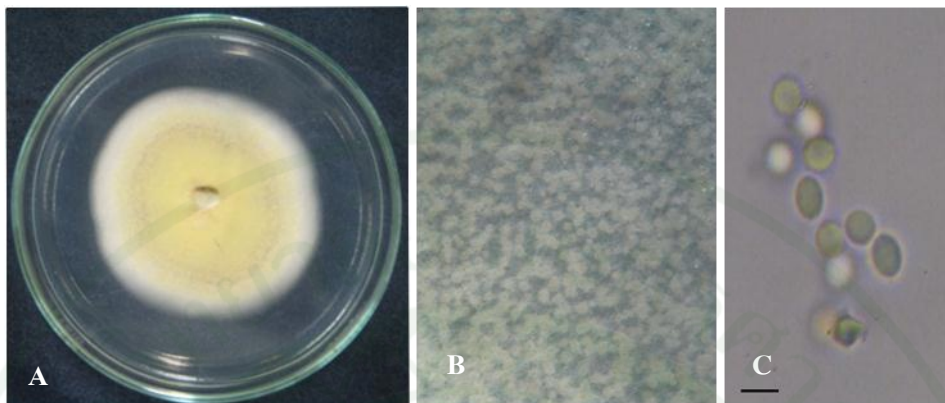
แหล่งที่พบ เกาะห้ำ หมูเถาะลันตา จังหวัดกระบี่

เอกสารอ้างอิง: Samson *et al.* (2002)

Anamorph: *Penicillium papuanum*

โคโลนีเจริญบนอาหาร PDA อายุ 14 วัน ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2.0-2.3 เซนติเมตร สร้างเส้นใยสีขาวจนถึงสีเหลือง ภาพที่)11A(สร้าง ascomata แบบ cleistothecium สีเหลืองอ่อน รูปร่างกลม ขนาด 50-200 ไมโครเมตร ภาพที่)11B(ascus รูปร่างกลม สีไม่มีสี ascospore รูปร่างเกือบกลม (subglobose) เส้นผ่านศูนย์กลาง 2.0-2.2 ไมโครเมตร ภาพที่)11C(

Habib *et al.* (2008) รายงานพบว่ารา *E. parvum* มีประสิทธิภาพในการสร้างสาร mycophenolic derivatives เช่น euparvic เป็นต้น



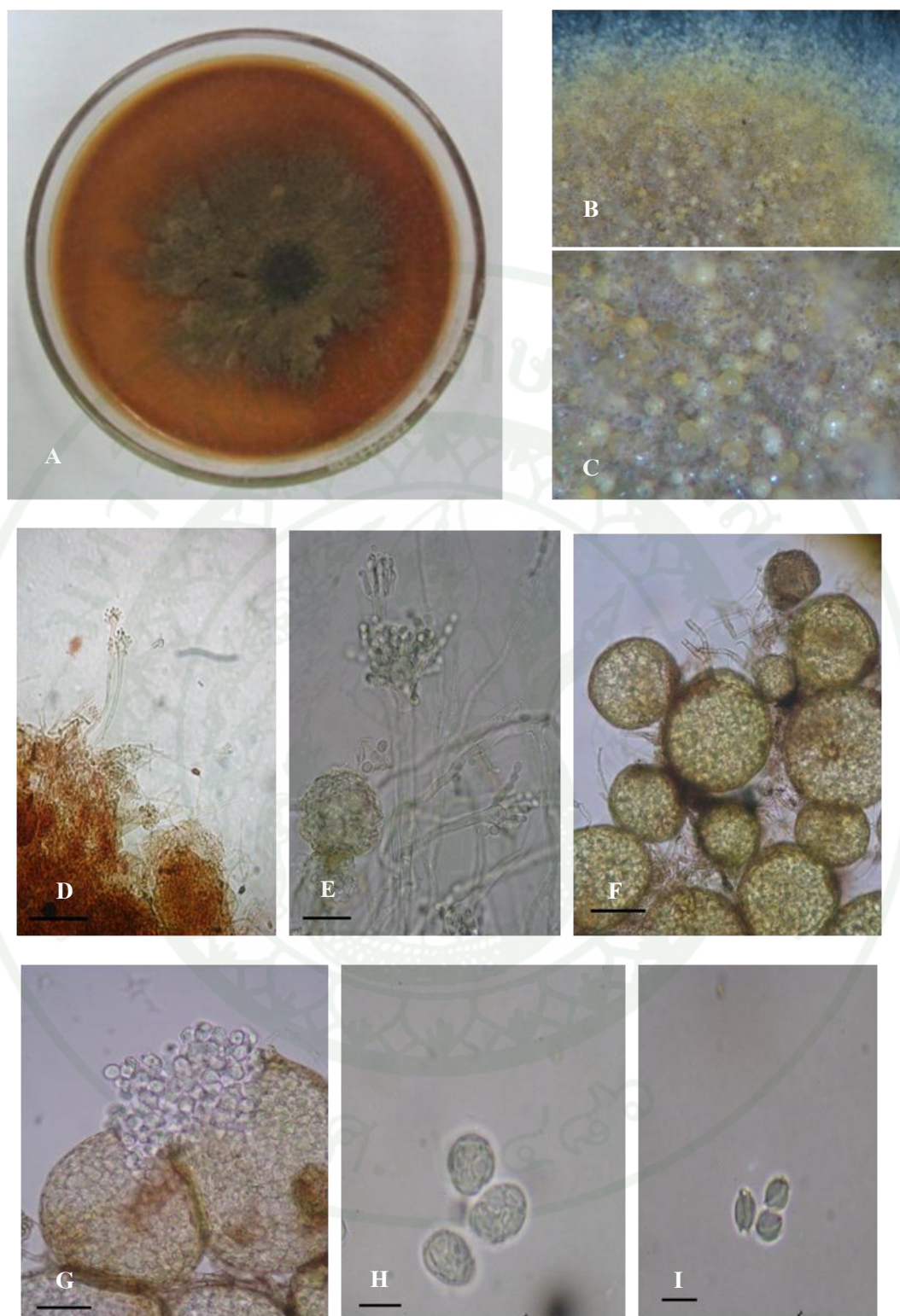
ภาพที่ 11 *Eupenicillium parvum* (KUFC 10018): A. โคลนิจของราบน PDA อายุ 14 วัน ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส; B. cleistothecia จากกล้องจุลทรรศน์แบบ stereo; C. ascospores ภายใต้อกล้องจุลทรรศน์แบบ compound (Bars: C = 1 μ m)

2.10 *Eurotium amstelodami*. (KUFC 10011) ภาพที่)12(

แหล่งที่พบ: เกาะทะลุ หมูเกาะฟิพี จังหวัดกระบี่

เอกสารอ้างอิง: Samson *et al.* (2002)

โคโลนียบนอาหาร PDA อายุ 7 วัน มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2.2-3 เซนติเมตร ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส โคลนิจบริเวณตอนกลางสีน้ำตาล ด้านล่างของโคโลนิจสีน้ำตาลแดง ภาพที่)12A(ascomata เป็นแบบ cleistothecium มีสีเหลืองหรือสีน้ำตาลขนาด 140-240 ไมโครเมตร ส่วนใหญ่อยู่กลางโคโลนิจ ภาพที่)12B, 12C, 12F(cleistothecium ภายในประกอบด้วย ascus ลักษณะกลมผนังบางใส ภาพที่)12G(ภายในมี 8 ascospores ผนัง ascus สลายตัวง่าย ascospore ขนาด 4.0-4.8 x 3.2-3.6 ไมโครเมตร ภาพที่)12H(ลักษณะเป็นร่องด้านข้างคล้ายลูกกรอก มีส่วนที่ยื่นออกมาเป็นสัน (equatorial crests) ผนังขรุขระ ภาพที่)12I(



ภาพที่ 12 *Eurotium amsterodami* (KUFC 10011): A. โคโลนีของราบน PDA อายุ 14 วัน ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส; B, C. cliethothecia; D, E. conidial heads; F, G. cliethothecia, asci และ ascospores; H. asci และ ascospores I. ascospores ภายใต้วัดกล้องจุลทรรศน์แบบ stereo และ compound (Bars: D = 20 μ m; E-I = 2 μ m)

2.11 *Neosartorya* sp. (KUFC 10037) (ภาพที่ 13)

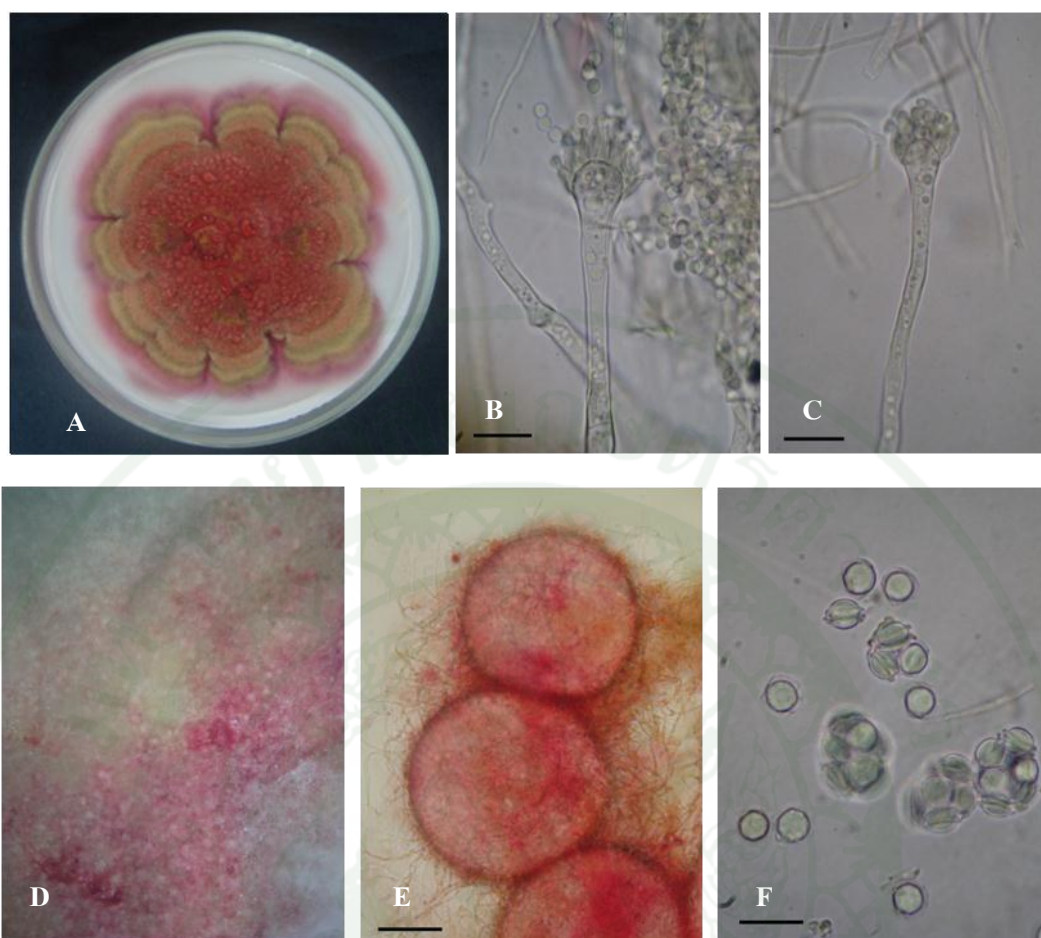
แหล่งที่พบ เกษะยักษ์เล็ก จังหวัดตราด

เอกสารอ้างอิง: Raper & Fennell (1965)

โคโลนีบนอาหาร PDA มีสีแสด สร้าง exudates สีแสด ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3-5 เซนติเมตร เมื่ออายุ 7 วัน และขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 4-6.5 เซนติเมตร เมื่ออายุ 14 วัน ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส (ภาพที่ 13A) cleistothecium ลักษณะกลมมีสีแสด ขนาด 100-190 ไมโครเมตร ผนังบาง เกิดกระจายทั่วโคโลนี (ภาพที่ 13D, 13E) ภายในมี ascus โดยที่ ascus มีรูปร่างกลม ขนาด 12.5-14.5 x 12-14 ไมโครเมตร ภายในมี 8 ascospores ลักษณะของ ascospore รูปร่างรี (lenticular) ใสไม่มีสี มี 2 equatorial crest ขนาด 5.0-5.5 x 5.0-5.5 ไมโครเมตร (ภาพที่ 13B)

จำริญ และคณะ (2557) รายงานว่า ราทะเล *Neosartorya* spp. ที่แยกจากฟองน้ำทะเล ในแนวปะการัง นำมาแยกโดยใช้วิธี tissue transplanting พบราทะเล *Neosartorya* spp. จำนวน 23 สายพันธุ์ จำแนกได้ 5 ชนิด ได้แก่ *N. fischeri*, *N. laciniosa*, *N. pualistensis*, *N. siamensis*, *N. spinosa* และยังไม่สามารถจำแนกชนิดได้อีก 2 สายพันธุ์ และได้้นำราทะเล *Neosartorya* ทั้ง 7 ชนิด มาทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมราสาเหตุโรคพืช 9 ชนิด โดยวิธี dual culture พบว่า *Neosartorya* spp. สามารถควบคุมการเจริญเติบโตราสาเหตุโรคพืช *Alternaria brassicicola*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Curvularia oryzae*, *Fusarium oxysporum*, *Lasioidiplodia theobromae*, *Phytophthora palmivora* และ *Pythium aphanidermatum* ได้ 24-98 % แต่ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของรา *Rhizoctonia oryzae* และ *Sclerotium rolfsii*

Eamvijarn (2013) รายงานพบ *Neosartorya* sp. (KUFC 6341) ที่สีของโคโลนีเป็นสี แดง โดยแยกได้จากดินในป่า เก็บมาจากเขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่าภูหลวง จังหวัดเลย เช่นเดียวกันกับ อารดา (2556) พบรา *Neosartorya* sp. (KUFC 7524) โคโลนีสีแสด เป็นราเอนโดไฟท์ แยกได้จาก กิ่ง *Mussaenda* sp. (Rubiaceae) จากอุทยานแห่งชาติหมู่เกาะสุรินทร์ จังหวัดพังงา



ภาพที่ 13 *Neosartorya* sp. (KUFC 10037): A. โคลนินของราบน PDA อายุ 7 วัน ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส; B, C. conidial heads และ conidiophores; D, E. cleistothecia; F. asci และ ascospore ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ compound (Bars: B, C = 5 μ m; E, F = 2 μ m)

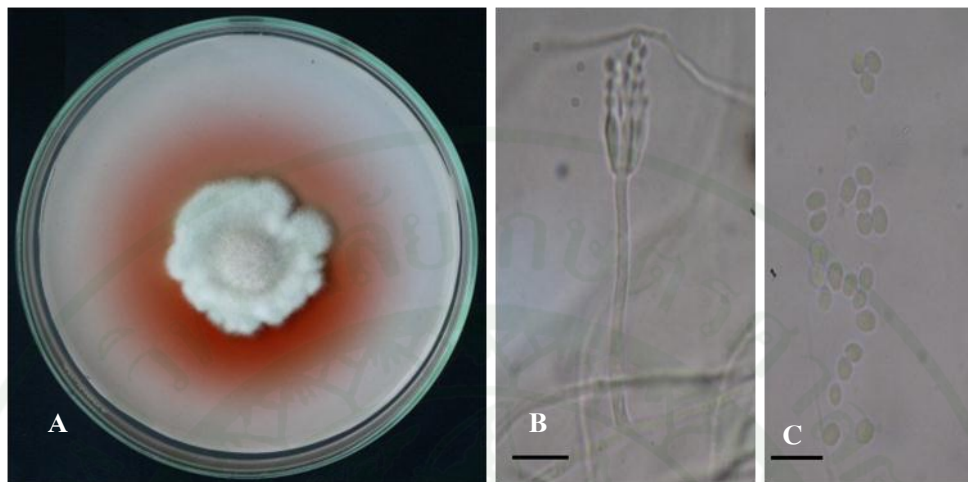
2.12 *Penicillium* sp.1 (KUFC 10001) ภาพที่ 14(

แหล่งที่พบ เกาะไผ่ หมู่เกาะพีพี จังหวัดกระบี่

เอกสารอ้างอิง: Pitt (1980)

โคโลนินบนอาหาร PDA อายุ 7 วัน ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส สีขาว ลักษณะโคโลนินแบบ floccose เจริญช้า มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 4-5 เซนติเมตร สร้าง pigment สีแดง (ภาพที่ 14A) conidiophore ตั้งตรงเป็นแบบ simple ไม่แตกกิ่งก้าน (unbranched stipe) ผนังเรียบ phialide เกิดเป็นกลุ่มบน conidiophore โดยตรง phialide รูปร่าง flask shaped (ภาพที่ 14B) conidia มีลักษณะกลมหรือเกือบกลม มีขนาด 2.5-3.0 ไมโครเมตร ผนังเรียบ ไม่มีสี (ภาพที่ 14C)

Buaruang *et al.* (2010) รายงานว่าราทะเล *Penicillium* spp. และ *Phomopsis* sp. นั้นสามารถพบได้ในฟองน้ำทะเลทั่วไปที่อาศัยอยู่ตามแนวปะการังทั้งทะเลฝั่งอ่าวไทย และอันดามัน



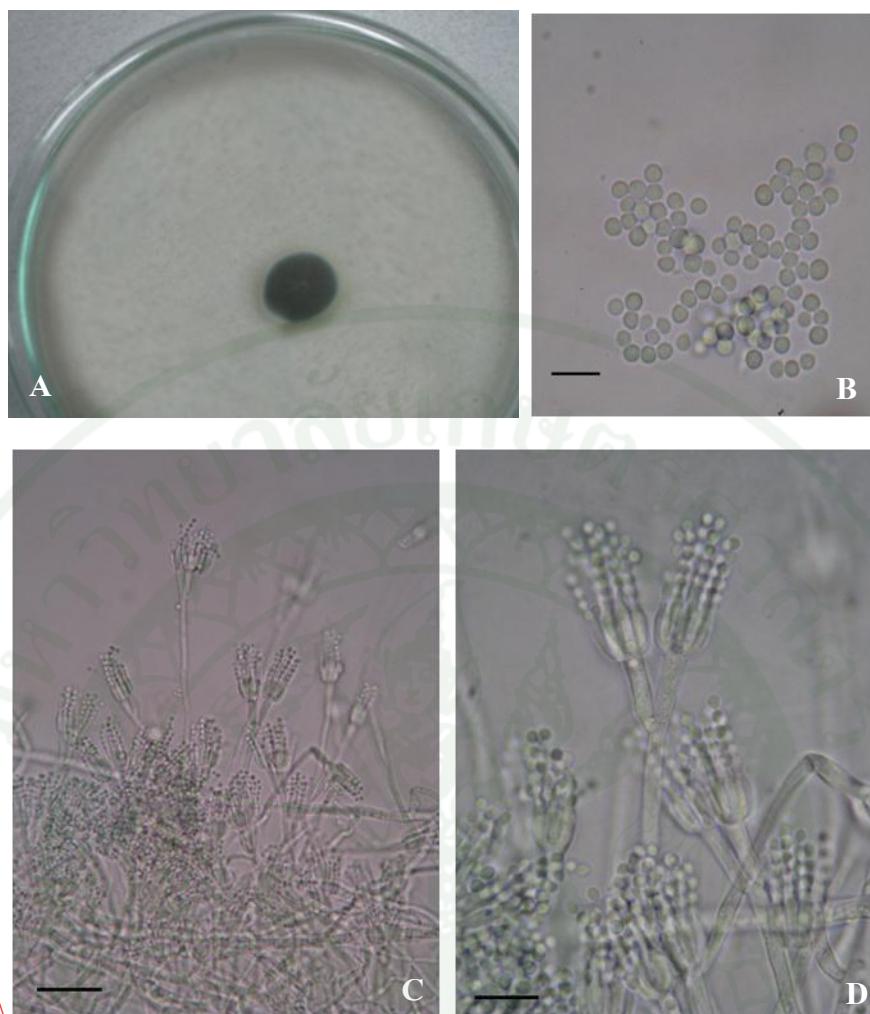
ภาพที่ 14 *Penicillium* sp.1 (KUFC 10001): A. โคลนินของราบน PDA อายุ 7 วัน ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส; B. conidiophore, phialide และ conidia; C. conidia ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ compound (Bars: B = 5 μ m; C = 2 μ m)

2.13 *Penicillium* sp.7 (KUFC 10013) (ภาพที่ 15)

แหล่งที่พบ เกาะรอกใน หมู่เกาะลันตา จังหวัดกระบี่
เอกสารอ้างอิง: Pitt, 1980

โคโลนีบนอาหาร PDA อายุ 7 วัน ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส สีเขียวอมฟ้า เจริญช้า มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 4-5 เซนติเมตร conidiophore ตั้งตรงเป็นแบบ mononematous ผนังเรียบ metulae มีกลุ่มละ 2-3 อัน phialide เกิดเป็นกลุ่ม 5-8 อันบน conidiophore โดยตรง phialide รูปร่าง flask shaped ขนาด 10-12 x 2.0 ไมโครเมตร (ภาพที่ 15C, 15D) conidia มีขนาด 2.0-3.5 ไมโครเมตร มีลักษณะกลมผนังเรียบ ไม่มีสี (ภาพที่ 15B)

Ito *et al.* (2001) รายงานพบราทะเลจากดินที่เก็บจากป่าชายเลน โดยเก็บตัวอย่างดินตะกอนบริเวณ rhizosphere ของต้น โกงกางจำนวน 8 ชนิด ในพื้นที่ศูนย์การวิจัยระนอง จังหวัดระนอง และ จังหวัดพังงา พบราทะเลจำนวน 42 สายพันธุ์ ส่วนใหญ่เป็นรา *Penicillium* spp.



ภาพที่ 15 *Penicillium* sp.7 (KUFC 10013): A. โคลนีสของราบน PDA อายุ 7 วัน ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส; B. conidia; C., D. conidiophores, phialides และ conidia ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ compound (Bars: B, D = 2 μ m; C = 5 μ m)

2.14 *Talaromyces flavus* (Klocker) Stolk and Samson, 1972 (KUFC 10046)

แหล่งที่พบ เกษะยักษ์เล็ก จังหวัดตราด

เอกสารอ้างอิง: Samson *et al.* (2002)

โคโลนีบนอาหาร PDA อายุ 7 วัน ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียสมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3.5-4.5 เซนติเมตร ลักษณะโคโลนีสลายก้ำมะหยีสีเหลืองอ่อน ascomata ลักษณะกลม ขนาด 180- 430 ไมโครเมตร ascospore มีลักษณะรี (ellipsoidal) ขนาด 2.5-3 x 1.5-2 ไมโครเมตร

รา *Talaromyces flavus* สามารถสร้างเอนไซม์ carboxymethyl cellulose, B-glucanases, chitinases และ chitosanases ซึ่งสามารถย่อยสลายผนังเซลล์ของรา *Pythium ultimum* และ *Fusarium equiseti* ได้ อีกทั้งยังมีรายงานว่าราชนิดนี้สร้างสารปฏิชีวนะยับยั้งแบคทีเรียและสเตรปโตไมซีสได้อีกด้วย (Domsch *et al.*, 1993)

Dethoup (2007) ศึกษาว่า *T. flavus* ในประเทศไทยพบว่าสามารถแยกราชนิดนี้ได้ทั่วไปในดิน และรา *T. flavus* ยังเป็นปฏิปักษ์ต่อราสาเหตุโรคพืช โดยยับยั้งการเจริญของเส้นใยราสาเหตุโรคพืชหลายชนิด

3. ผลการทดสอบประสิทธิภาพในการใช้ราที่แยกได้จากดินตะกอนใต้ทะเลยับยั้งการเจริญของเส้นใยราสาเหตุโรคพืช โดยใช้วิธี dual culture ในห้องปฏิบัติการ

การศึกษาการเป็นปฏิปักษ์ของราที่แยกจากดินตะกอนใต้ทะเลจำนวน 5 สายพันธุ์ รวม 5 ชนิด ได้แก่ *Penicillium* sp.1 (KUFC 10001), *Eurotium amstelodami* (KUFC 10011), *Eupenicillium parvum* (KUFC 10018), *Neosartorya* sp. (KUFC 10037) และ *Talaromyces flavus* (KUFC 10046) ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยราสาเหตุโรคพืช 9 ชนิด ได้แก่ *Alternaria brassicicola*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Curvularia lunata*, *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*, *Helminthosporium oryzae*, *Phytophthora palmivora*, *Pyricularia oryzae*, *Rhizoctonia solani* และ *Sclerotium rolfsii* บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 และ 14 วัน ในห้องปฏิบัติการ

ผลการทดลองพบว่า รา *Penicillium* sp.1 (KUFC 10001) ประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยรา *H. oryzae* ได้ 50.82% แต่ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยรา *C. lunata*, *F. oxysporum*, *C. gloeosporioides*, *A. brassicicola*, *P. oryzae*, *P. palmivora* และ *R. solani* โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งน้อยกว่า 50% ในขณะที่รา *Eurotium amstelodami* (KUFC 10011) ไม่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยราสาเหตุโรคพืชได้ เพราะต่างมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งน้อยกว่า 50% (ตารางที่ 6)

รา *Eupenicillium parvum* (KUFC 10018) มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยรา *Phytophthora palmivora* ได้มากที่สุด (81.48%) รองลงมาได้แก่ *C. lunata* (63.64%), *R. solani* (61.43%), *H. oryzae* (59.02%), *C. gloeosporioides* (58.82%), *A. brassicicola* (55.56%) แต่ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยรา *P. oryzae* และ *F. oxysporum* นอกจากนี้พบว่ารา *Neosartorya* sp. (KUFC 10037) มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยรา *P. oryzae* ได้มากที่สุด (62.96%) รองลงมาได้แก่ *H. oryzae* (54.09%), แต่ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของรา *C. lunata*, *C. gloeosporioides*, *P. palmivora*, *F. oxysporum*, *A. brassicicola* และ *R. solani* ได้ (ตารางที่ 6)

รา *T. flavus* (KUFC 10046) มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยรา *H. oryzae* ได้ 70.49% รองลงมาได้แก่ *C. lunata* (69.09%), *R. oryzae* (64.29%), *A. brassicicola* (62.96%), *C. gloeosporioides* (60.78%), *P. palmivora* (55.56%) และ *F. oxysporum* (54.55%) แต่ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยรา *P. oryzae* โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 44.44% (ตารางที่ 6)

อย่างไรก็ตาม ราที่แยกจากดินตะกอนทะเล ทั้ง 5 ชนิด ได้แก่ *Penicillium* sp.1 (KUFC 10001), *Eurotium amstelodami* (KUFC 10011), *Eupenicillium parvum* (KUFC 10018), *Neosartorya* sp. (KUFC 10037) และ *T. flavus* (KUFC 10046) ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยรา *S. rolfii* ในห้องปฏิบัติการ (ตารางที่ 6)

ผลทดสอบการเป็นปฏิปักษ์ของราที่แยกจากดินตะกอนใต้ทะเลในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยราสาเหตุโรคพืช 9 ชนิด เป็นเวลาทั้งสิ้น 14 วัน ในห้องปฏิบัติการ ผลการทดสอบพบว่า รา *Penicillium* sp.1 (KUFC 10001) มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยรา *C. lunata*, *A. brassicicola*, *H. oryzae*, *P. palmivora*, *P. oryzae* และ *F. oxysporum* ได้ในช่วง 52-67% แต่ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยรา *C. gloeosporioides* ได้ ส่วนรา *Eurotium amstelodami* (KUFC 10011) มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยรา *Phytophthora palmivora* ได้เพียงชนิดเดียวที่ 50.76% (ตารางที่ 7)

รา *Eupenicillium parvum* (KUFC 10018) มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยราสาเหตุโรคพืชได้ 7 ชนิด โดยยับยั้งรา *Phytophthora palmivora* ได้มากที่สุด (92.31%) ยับยั้งรา *C. gloeosporioides*, *F. oxysporum*, *H. oryzae*, *C. lunata*, *P. oryzae* และ *A. brassicicola* ได้ 51-77% ส่วนรา *Neosartorya* sp. (KUFC 10037) ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยรา *C. gloeosporioides* ได้ ส่วนรา *C. lunata*, *F. oxysporum*, *H. oryzae* และ *A. brassicicola* สามารถยับยั้งได้ในช่วง 51-63% รา *Phytophthora palmivora* และ *P. oryzae* ถูกยับยั้งได้โดย รา *Neosartorya* sp. (KUFC 10037) ที่ 75% และ 83% ตามลำดับ (ตารางที่ 7)

รา *T. flavus* (KUFC 10046) มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยรา *Alternaria brassicicola* ได้มากที่สุด (83.33%) รองลงมาได้แก่ *Phytophthora palmivora* (81.53%), และยับยั้งการเจริญของเส้นใยรา *Colletotrichum gloeosporioides*, *Fusarium oxysporum*, *Helminthosporium oryzae*, *P. oryzae* และ *C. lunata* ได้ 62-75% (ตารางที่ 7)

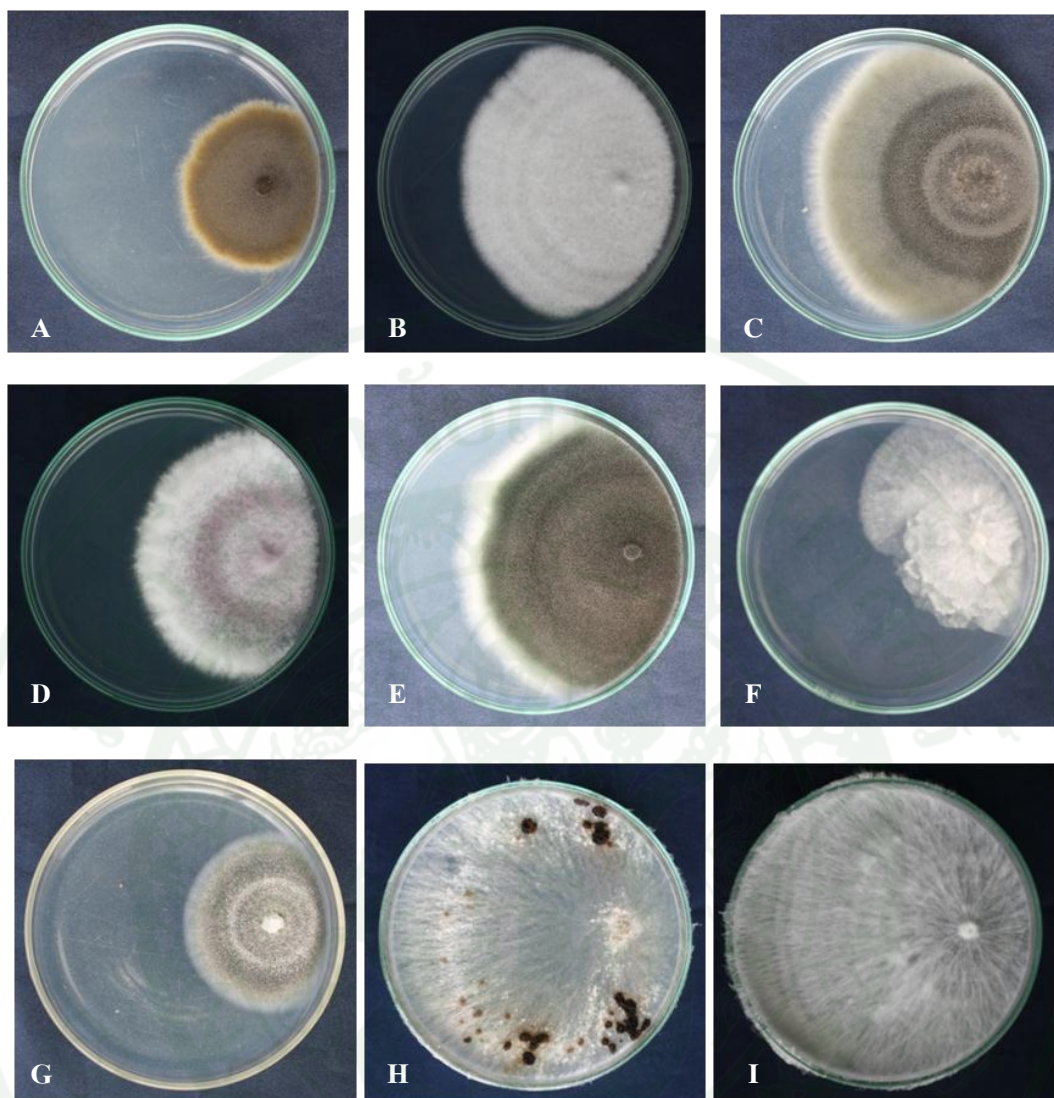
จากการศึกษาพบว่าราที่แยกจากดินตะกอนทะเล ทั้ง 5 ชนิด ได้แก่ *Penicillium* sp.1 (KUFC 10001), *E. amstelodami* (KUFC 10011), *Eupenicillium parvum* (KUFC 10018), *Neosartorya* sp. (KUFC 10037) และ *T. flavus* (KUFC 10046) ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยรา *Rhizoctonia solani* และ *Sclerotium rolfii* เมื่อทำการทดสอบเป็นเวลา 14 วันในห้องปฏิบัติการ (ตารางที่ 7)

ตารางที่ 6 การเป็นปฏิปักษ์ระหว่างราที่แยกได้จากดินตะกอนใต้ทะเลจำนวน 5 สายพันธุ์ ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยราสาเหตุโรคพืช 9 ชนิด โดยวิธี dual culture บนอาหาร potato dextrose agar บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 7 วัน

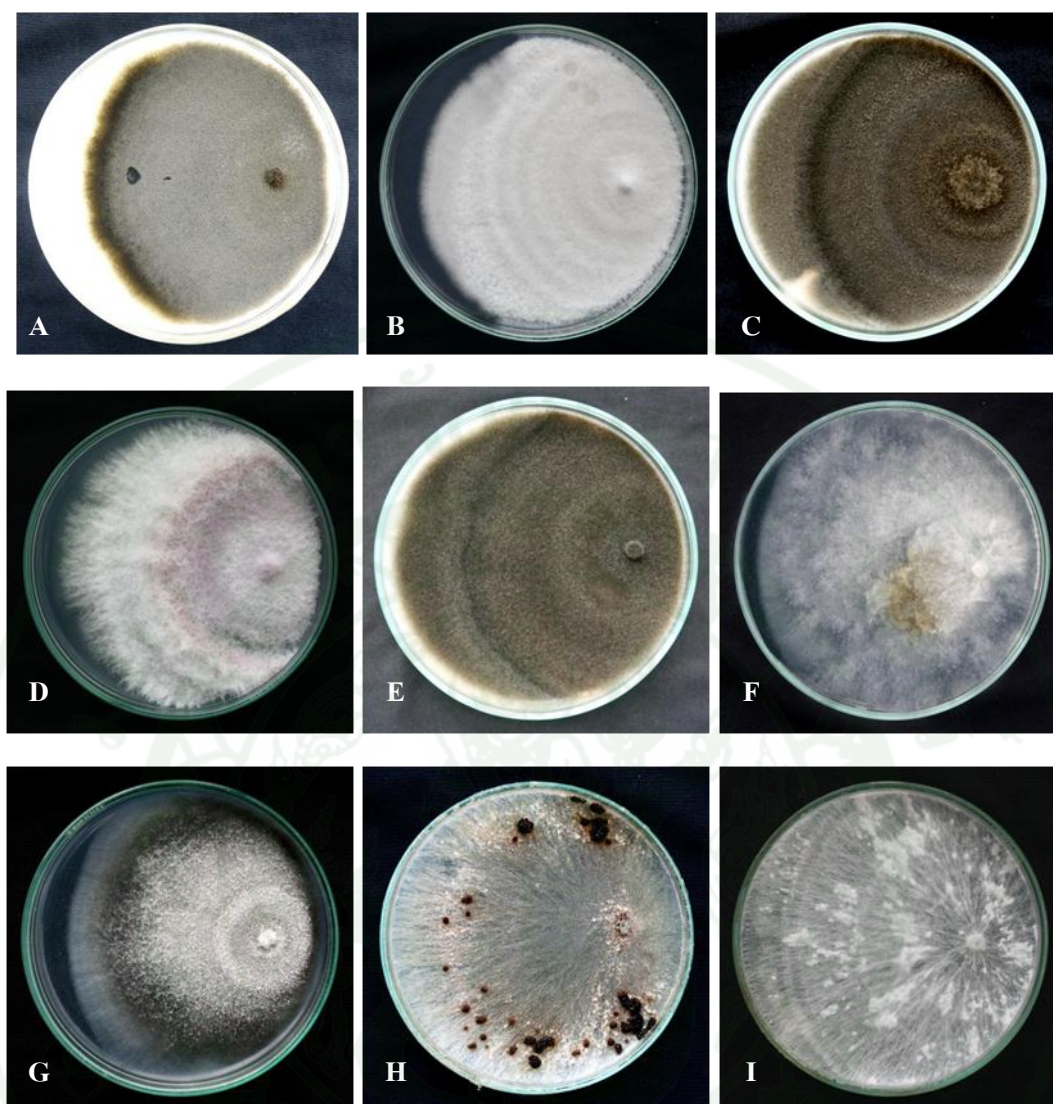
KUFC.Number		Mycelial growth inhibition of plant pathogenic fungi <i>in vitro</i> (%)								
		<i>A.brassicicola</i>	<i>C.gloeosporioides</i>	<i>C.lunata</i>	<i>F.oxysporum</i>	<i>H.oryzae</i>	<i>P.palmivora</i>	<i>P.oryzae</i>	<i>R. solani</i>	<i>S.rolfsii</i>
10001	<i>Penicillium</i> sp.1	25.93	33.33	41.82	38.65	50.82	11.11	18.52	0	0
10011	<i>Eurotium</i> <i>amstelodami</i>	14.81	17.65	30.91	9.09	29.51	22.22	14.81	0	0
10018	<i>Eupenicillium</i> <i>parvum</i>	55.56	58.82	63.64	40.91	59.02	81.48	48.15	61.43	0
10037	<i>Neosartorya</i> sp.	25.93	37.25	41.82	34.09	54.09	29.63	62.96	25.71	0
10046	<i>Talaromyces</i> <i>flavus</i>	62.96	60.78	69.09	54.55	70.49	55.56	44.44	64.29	0

ตารางที่ 7 การเป็นปฏิปักษ์ระหว่างราที่แยกได้จากดินตะกอนใต้ทะเลจำนวน 5 สายพันธุ์ ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยราสาเหตุโรคพืช 9 ชนิด โดยวิธี dual culture บนอาหาร potato dextrose agar บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 14 วัน

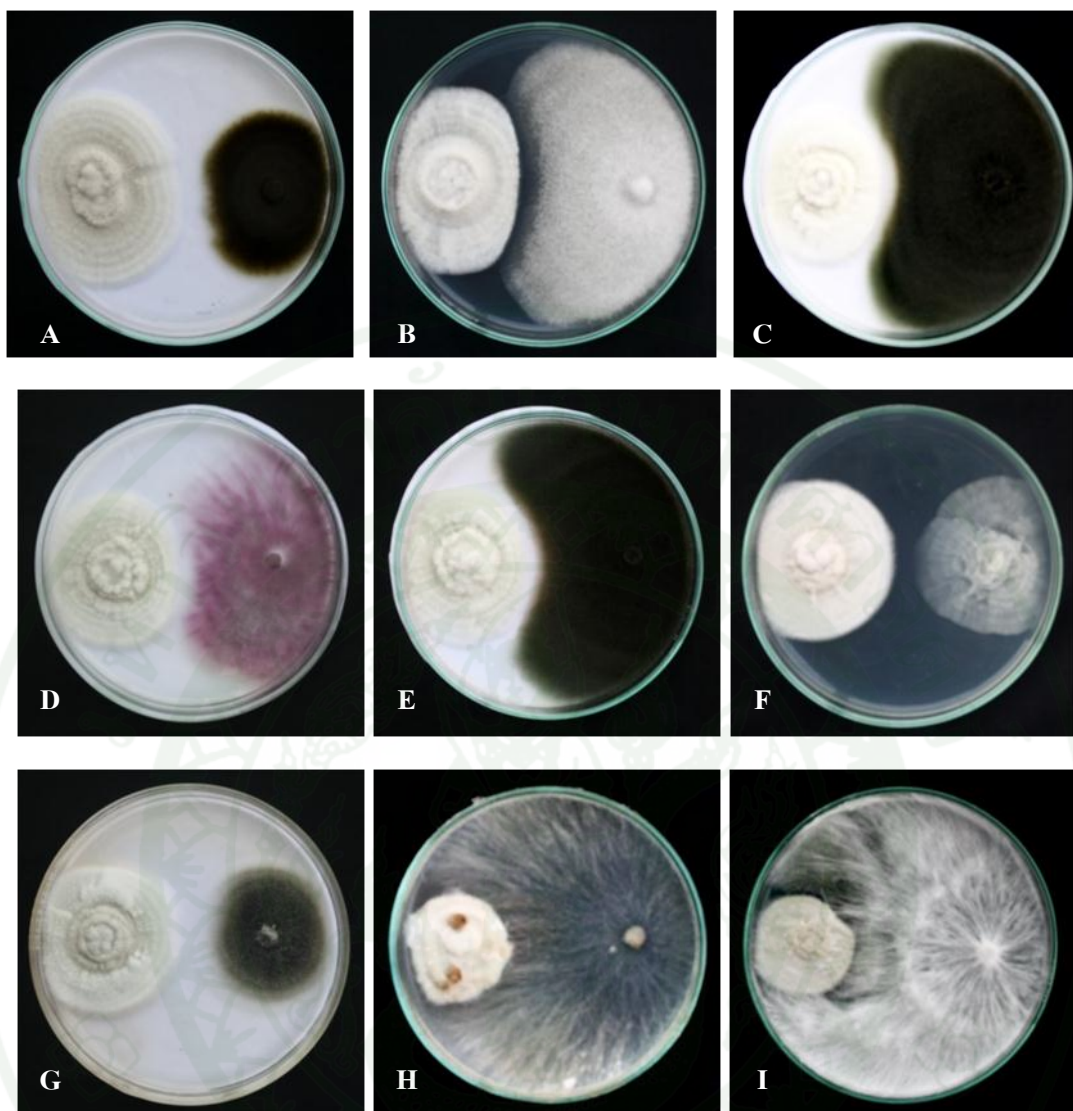
KUFC.Number	Mycelial growth inhibition of plant pathogenic fungi <i>in vitro</i> (%)								
	<i>A.brassicicola</i>	<i>C.gloeosporioides</i>	<i>C.lunata</i>	<i>F.oxysporum</i>	<i>H.oryzae</i>	<i>P.palmivora</i>	<i>P.oryzae</i>	<i>R. solani</i>	<i>S.rolfsii</i>
10001 <i>Penicillium</i> sp.1	56.67	41.38	52.86	67.16	57.14	60.00	62.90	0	0
10011 <i>Eurotium</i> <i>amstelodami</i>	41.67	13.79	35.71	32.84	35.71	50.76	38.71	0	0
10018 <i>Eupenicillium</i> <i>parvum</i>	76.67	51.72	68.57	59.70	61.43	92.31	74.19	0	0
10037 <i>Neosartorya</i> sp.	63.33	43.10	51.42	52.24	58.57	75.38	83.87	0	0
10046 <i>Talaromyces</i> <i>flavus</i>	83.33	62.07	75.71	68.66	72.86	81.53	74.19	0	0



ภาพที่ 16 ราสาเหตุโรคพืช (ชุดควบคุม) 9 ชนิด บนอาหาร PDA ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส
ระยะเวลา 7 วัน: A. *Alternaria brassicicola*; B. *Colletotrichum gloeosporioides*;
C. *Curvularia lunata*; D. *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*, E. *Helminthosporium*
oryzae; F. *Phytophthora palmivora*; G. *Pyricularia oryzae*; H. *Rhizoctonia solani* และ
I. *Sclerotium rolfsii*

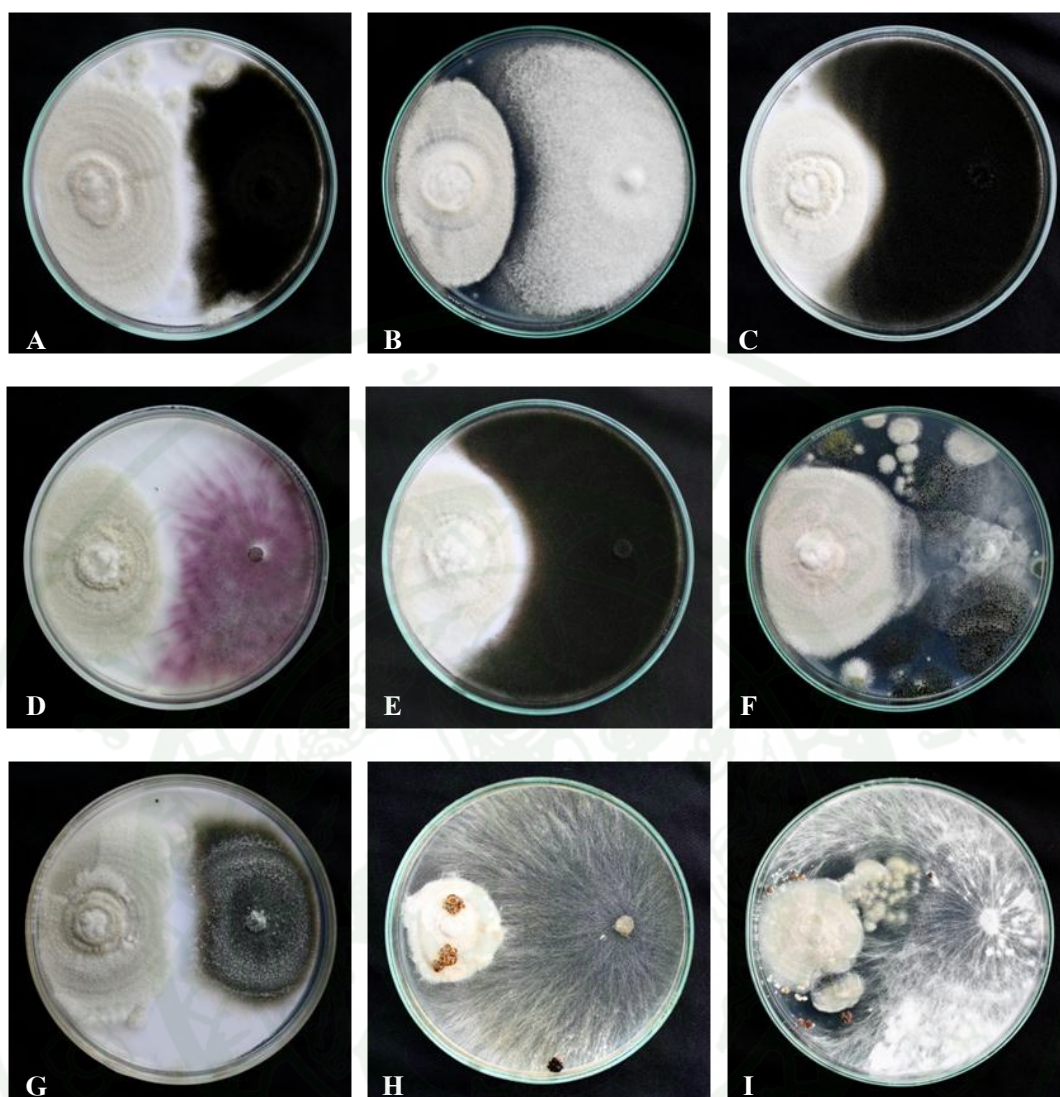


ภาพที่ 17 ราสาเหตุโรคพืช (ชุดควบคุม) 9 ชนิด บนอาหาร PDA ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส
ระยะเวลา 14 วัน: A. *Alternaria brassicicola*; B. *Colletotrichum gloeosporioides*;
C. *Curvularia lunata*; D. *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*, E. *Helminthosporium*
oryzae; F. *Phytophthora palmivora*; G. *Pyricularia oryzae*; H. *Rhizoctonia solani* และ
I. *Sclerotium rolfsii*



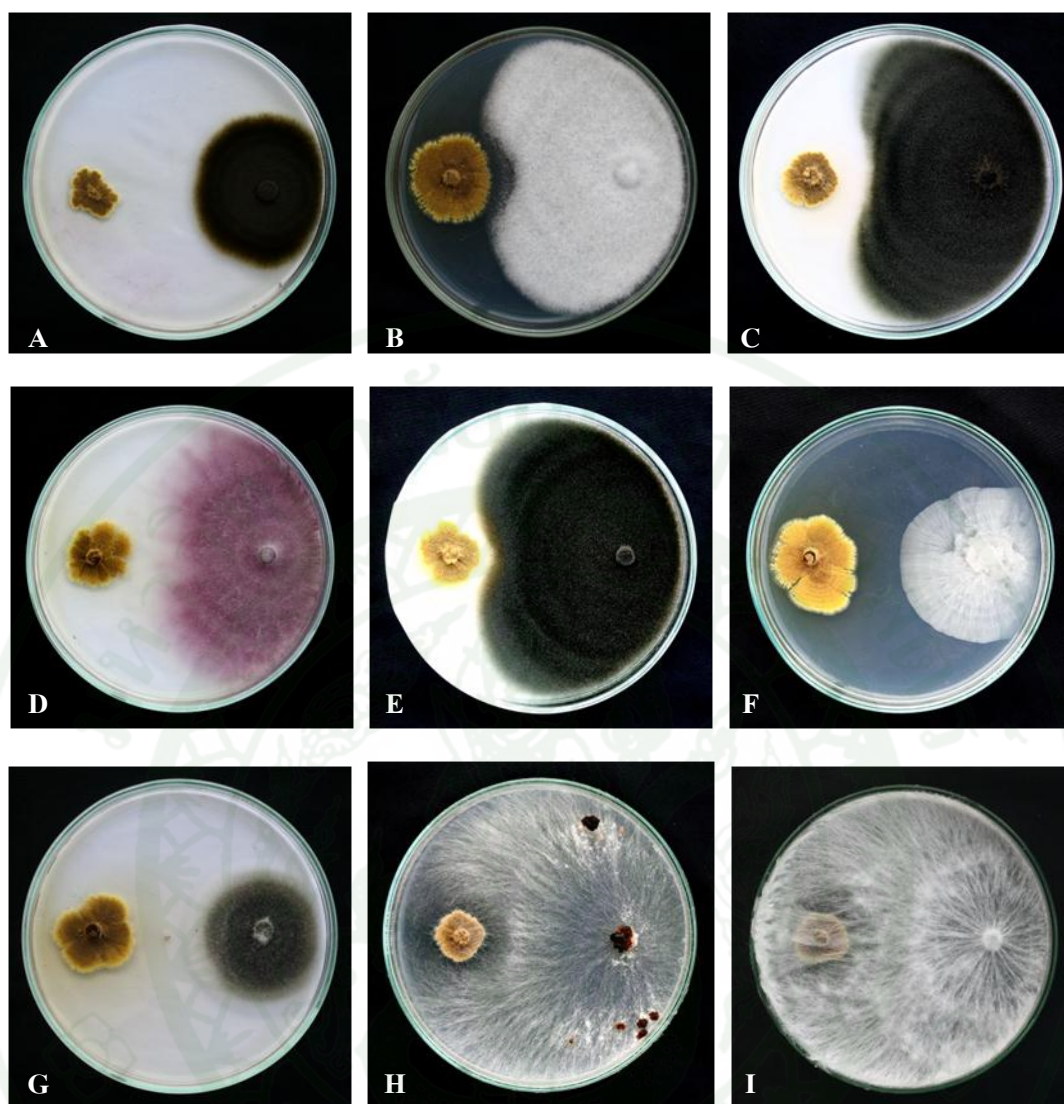
ภาพที่ 18 การเป็นปฏิปักษ์ระหว่างรา *Penicillium* sp.1 (KUFC 10001) (ซ้าย) กับราสาเหตุโรคพืช 9 ชนิด (ขวา) บนอาหาร PDA ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 7 วัน:

A. *Alternaria brassicicola*; B. *Colletotrichum gloeosporioides*; C. *Curvularia lunata*; D. *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*; E. *Helminthosporium oryzae*; F. *Phytophthora palmivora*; G. *Pyricularia oryzae*; H. *Rhizoctonia solani* และ I. *Sclerotium rolfsii*

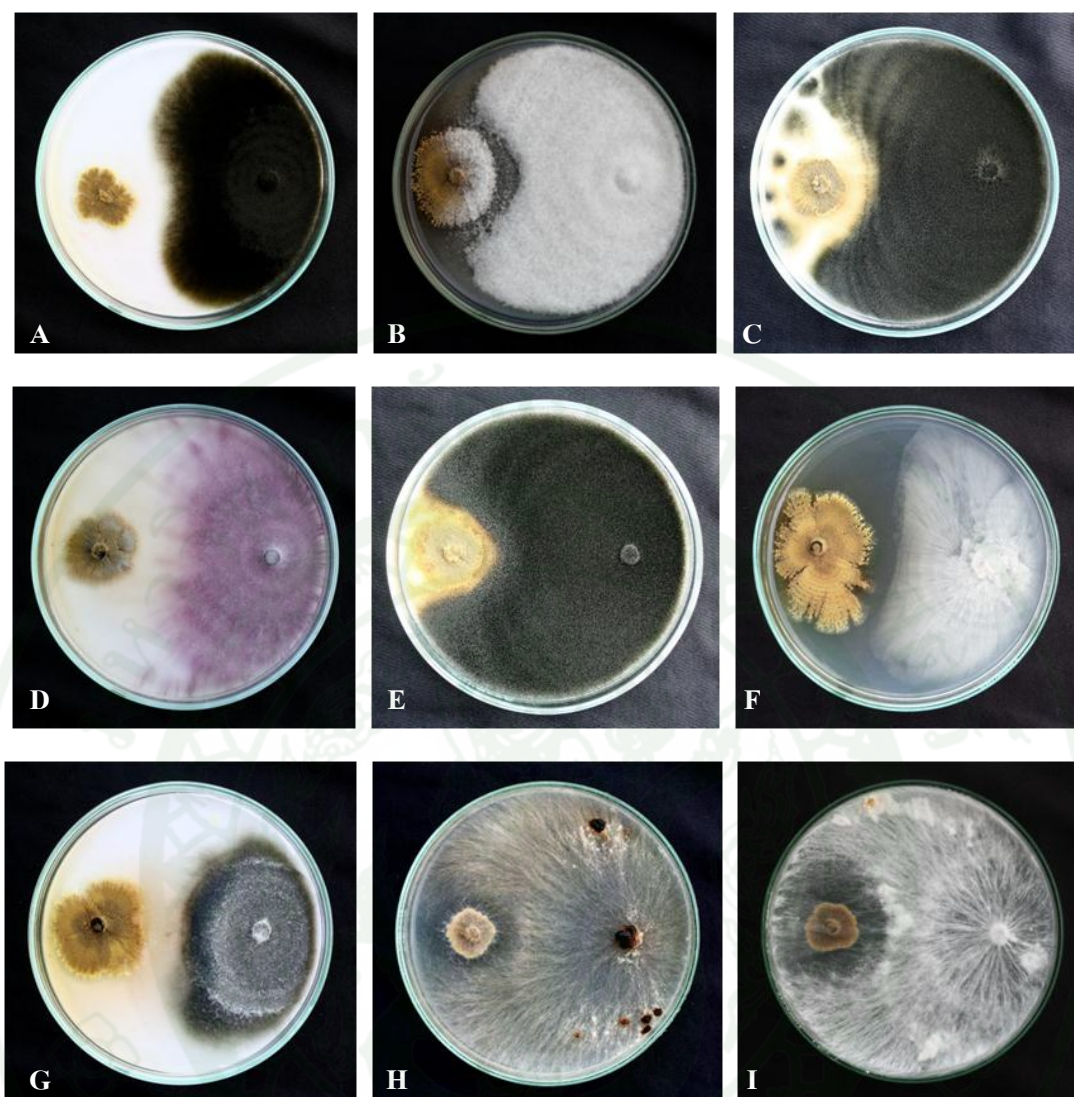


ภาพที่ 19 การเป็นปฏิปักษ์ระหว่างรา *Penicillium* sp.1 (KUFC 10001) (ซ้าย) กับราสาเหตุโรคพืช 9 ชนิด (ขวา) บนอาหาร PDA ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 14 วัน:

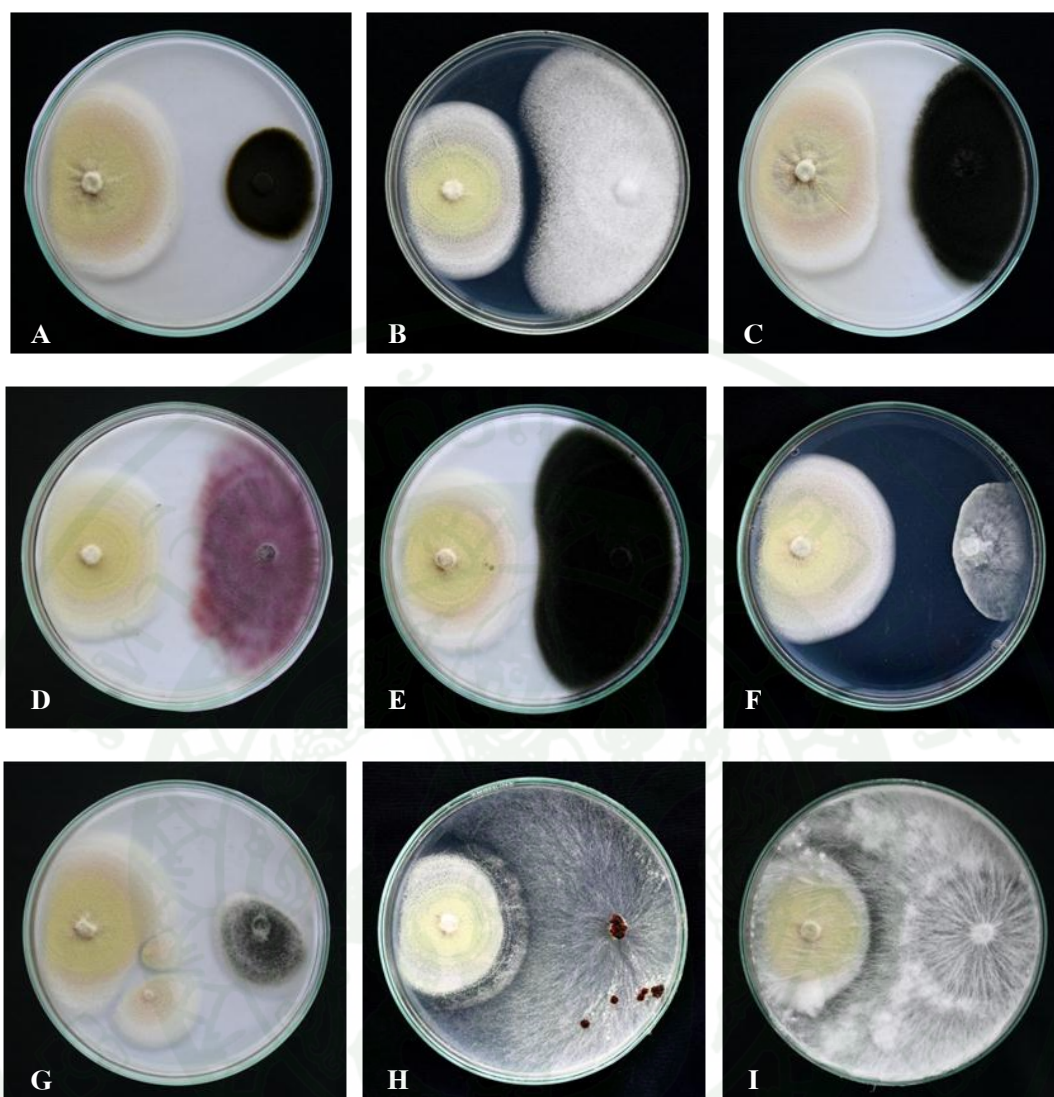
A. *Alternaria brassicicola*; B. *Colletotrichum gloeosporioides*; C. *Curvularia lunata*;
 D. *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*, E. *Helminthosporium oryzae*; F. *Phytophthora palmivora*;
 G. *Pyricularia oryzae*; H. *Rhizoctonia solani* และ I. *Sclerotium rolfsii*



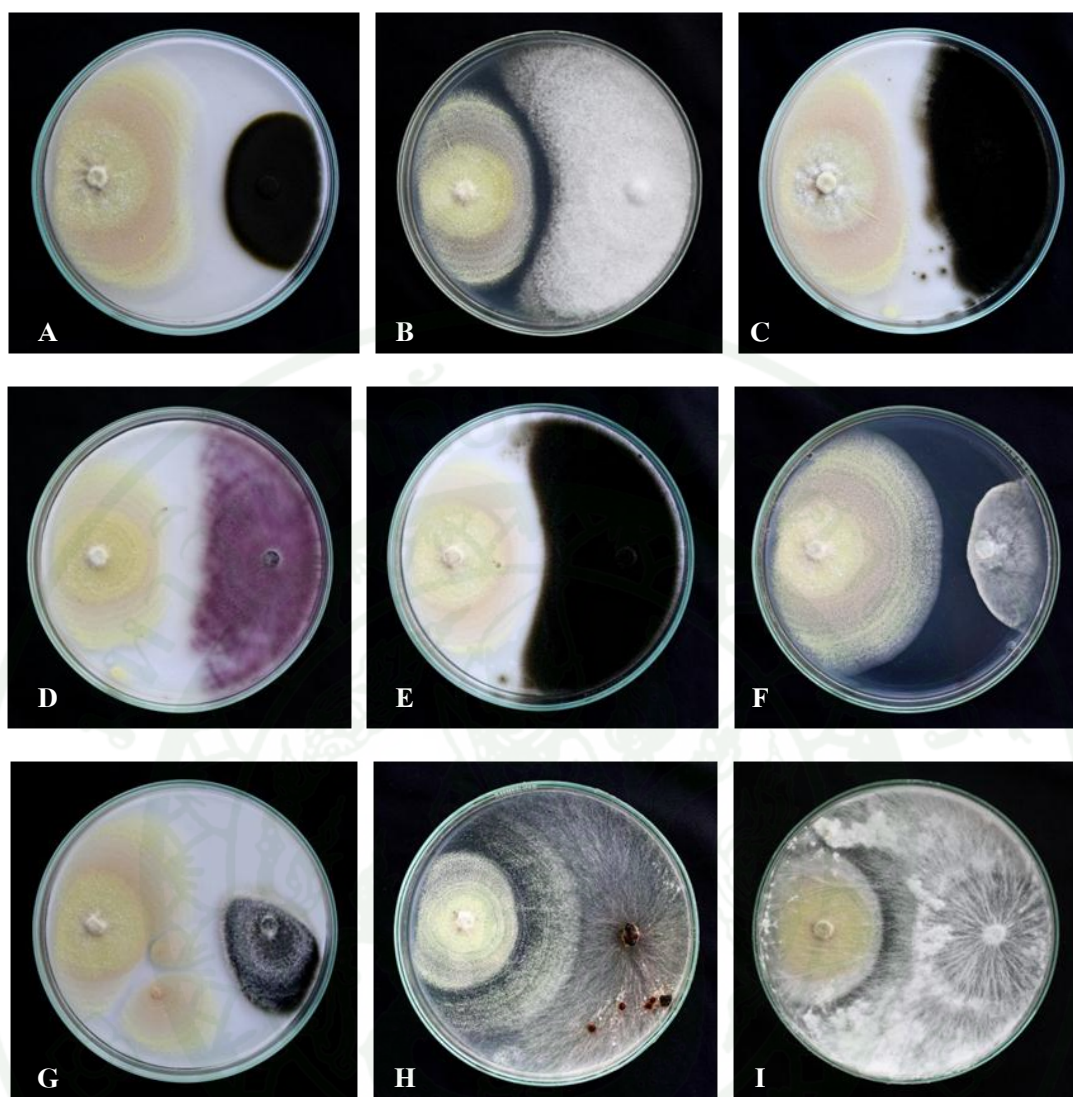
ภาพที่ 20 การเป็นปฏิปักษ์ระหว่างรา *Eurotium amstelodami* (KUFC 10011) (ซ้าย) กับราสาเหตุโรคพืช 9 ชนิด (ขวา) บนอาหาร PDA ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 7 วัน: A. *Alternaria brassicicola*; B. *Colletotrichum gloeosporioides*; C. *Curvularia lunata*; D. *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*; E. *Helminthosporium oryzae*; F. *Phytophthora palmivora*; G. *Pyricularia oryzae*; H. *Rhizoctonia solani* และ I. *Sclerotium rolfsii*



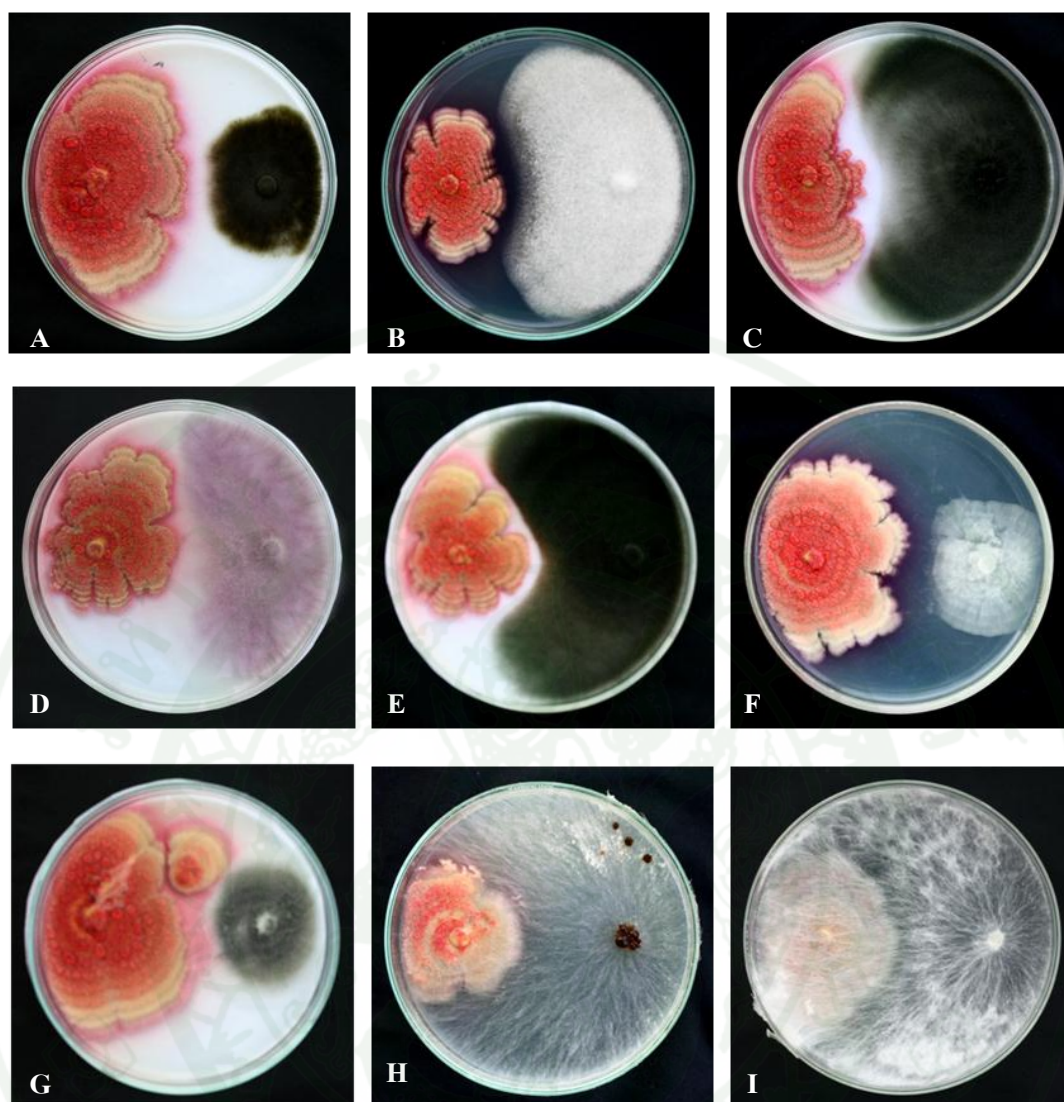
ภาพที่ 21 การเป็นปฏิปักษ์ระหว่างรา *Eurotium amstelodami* (KUFC 10011) (ซ้าย) กับราสาเหตุโรคพืช 9 ชนิด (ขวา) บนอาหาร PDA ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 14 วัน: A. *Alternaria brassicicola*; B. *Colletotrichum gloeosporioides*; C. *Curvularia lunata*; D. *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*; E. *Helminthosporium oryzae*; F. *Phytophthora palmivora*; G. *Pyricularia oryzae*; H. *Rhizoctonia solani* และ I. *Sclerotium rolfsii*



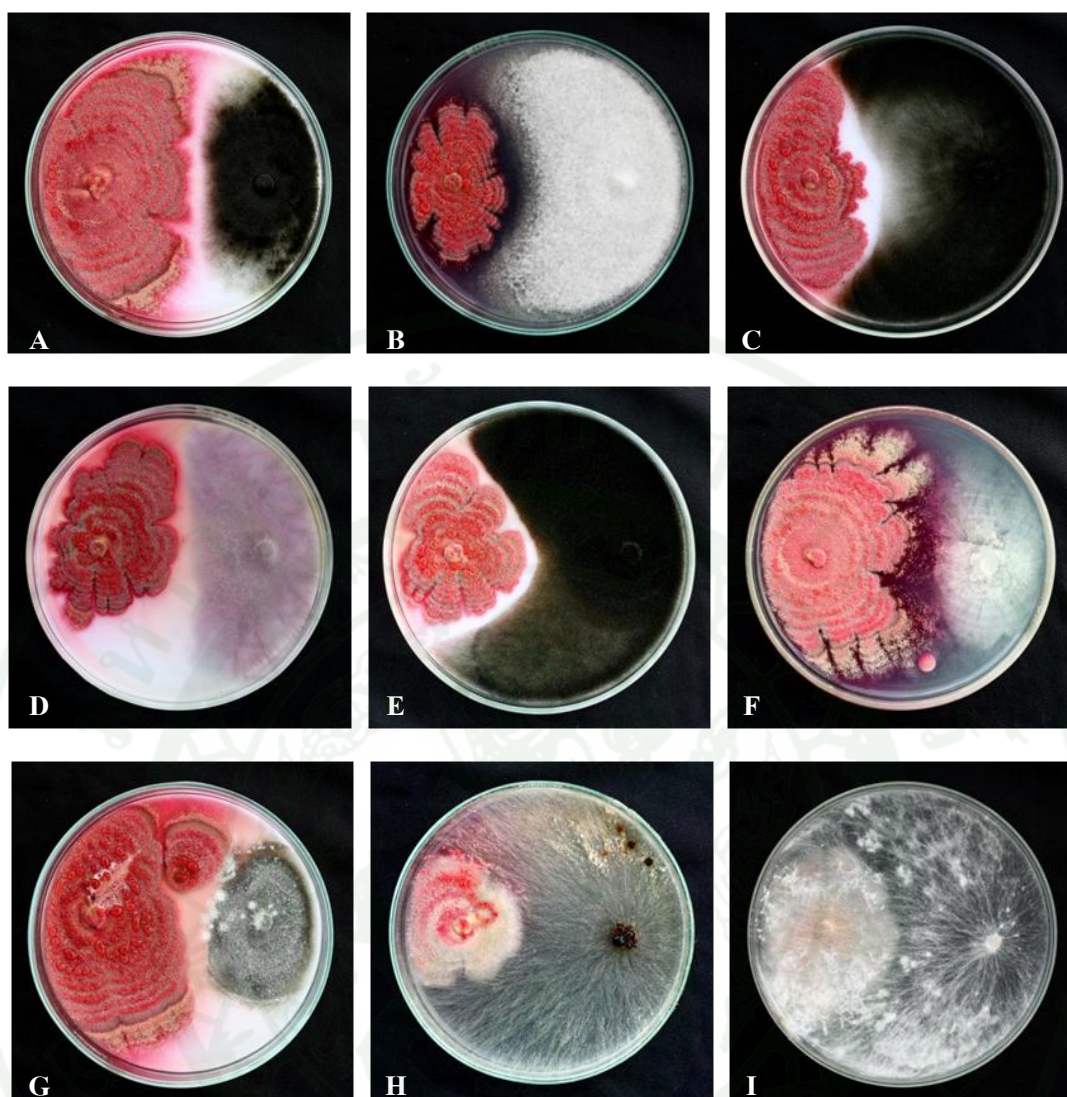
ภาพที่ 22 การเป็นปฏิปักษ์ระหว่างรา *Eupenicillium parvum* (KUFC 10018) (ซ้าย) กับราสาเหตุโรคพืช 9 ชนิด (ขวา) บนอาหาร PDA ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 7 วัน: A. *Alternaria brassicicola*; B. *Colletotrichum gloeosporioides*; C. *Curvularia lunata*; D. *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*; E. *Helminthosporium oryzae*; F. *Phytophthora palmivora*; G. *Pyricularia oryzae*; H. *Rhizoctonia solani* และ I. *Sclerotium rolfsii*



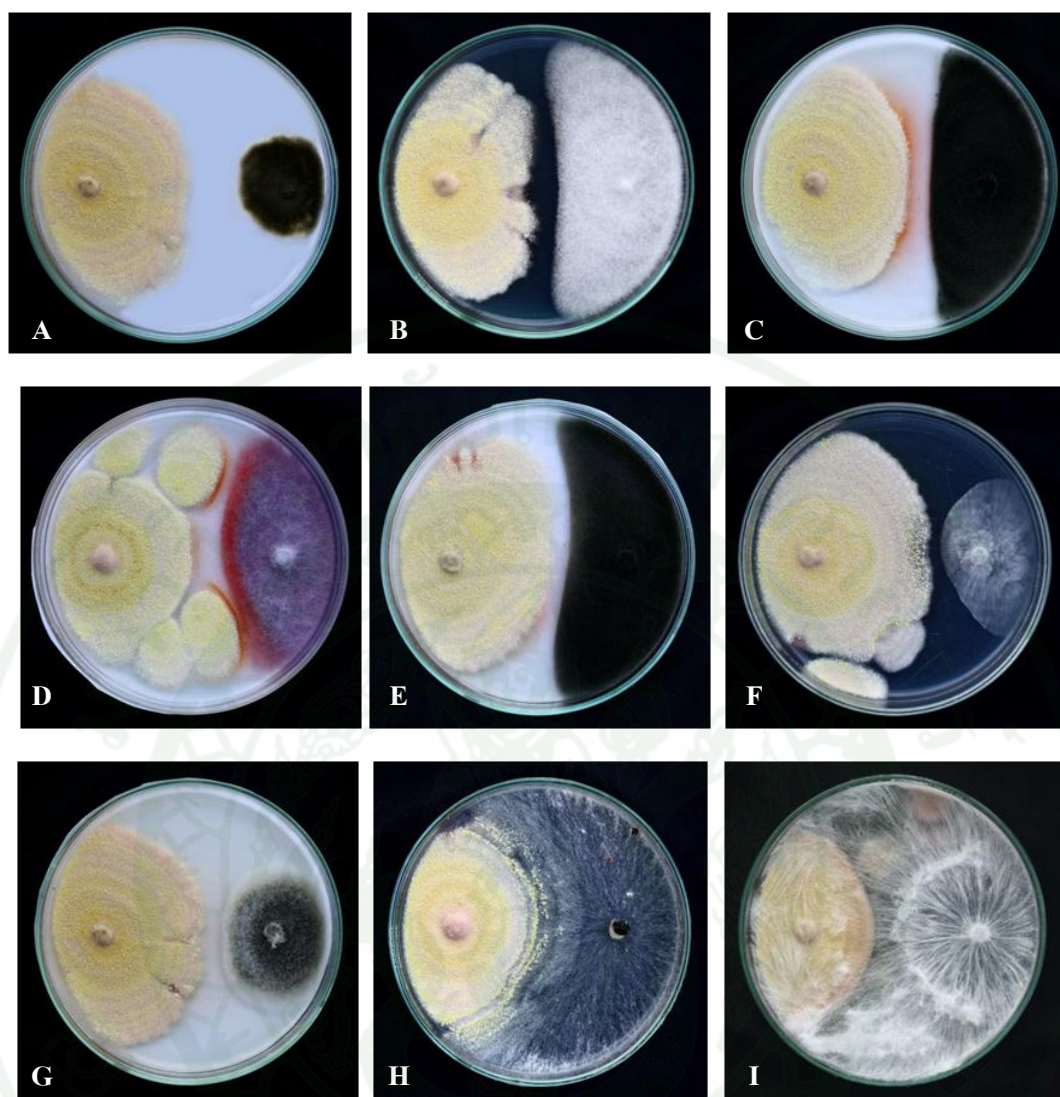
ภาพที่ 23 การเป็นปฏิปักษ์ระหว่างรา *Eupenicillium parvum* (KUFC 10018) (ซ้าย) กับราสาเหตุโรคพืช 9 ชนิด (ขวา) บนอาหาร PDA ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 14 วัน: A. *Alternaria brassicicola*; B. *Colletotrichum gloeosporioides*; C. *Curvularia lunata*; D. *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*; E. *Helminthosporium oryzae*; F. *Phytophthora palmivora*; G. *Pyricularia oryzae*; H. *Rhizoctonia solani* และ I. *Sclerotium rolfsii*



ภาพที่ 24 การเป็นปฏิปักษ์ระหว่างรา *Neosartorya* sp. (KUFC 10037) (ซ้าย) กับราสาเหตุโรคพืช 9 ชนิด (ขวา) บนอาหาร PDA ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 7 วัน:
 A. *Alternaria brassicicola*; B. *Colletotrichum gloeosporioides*; C. *Curvularia lunata*;
 D. *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*, E. *Helminthosporium oryzae*; F *Phytophthora palmivora*; G. *Pyricularia oryzae*; H. *Rhizoctonia solani* และ I. *Sclerotium rolfsii*

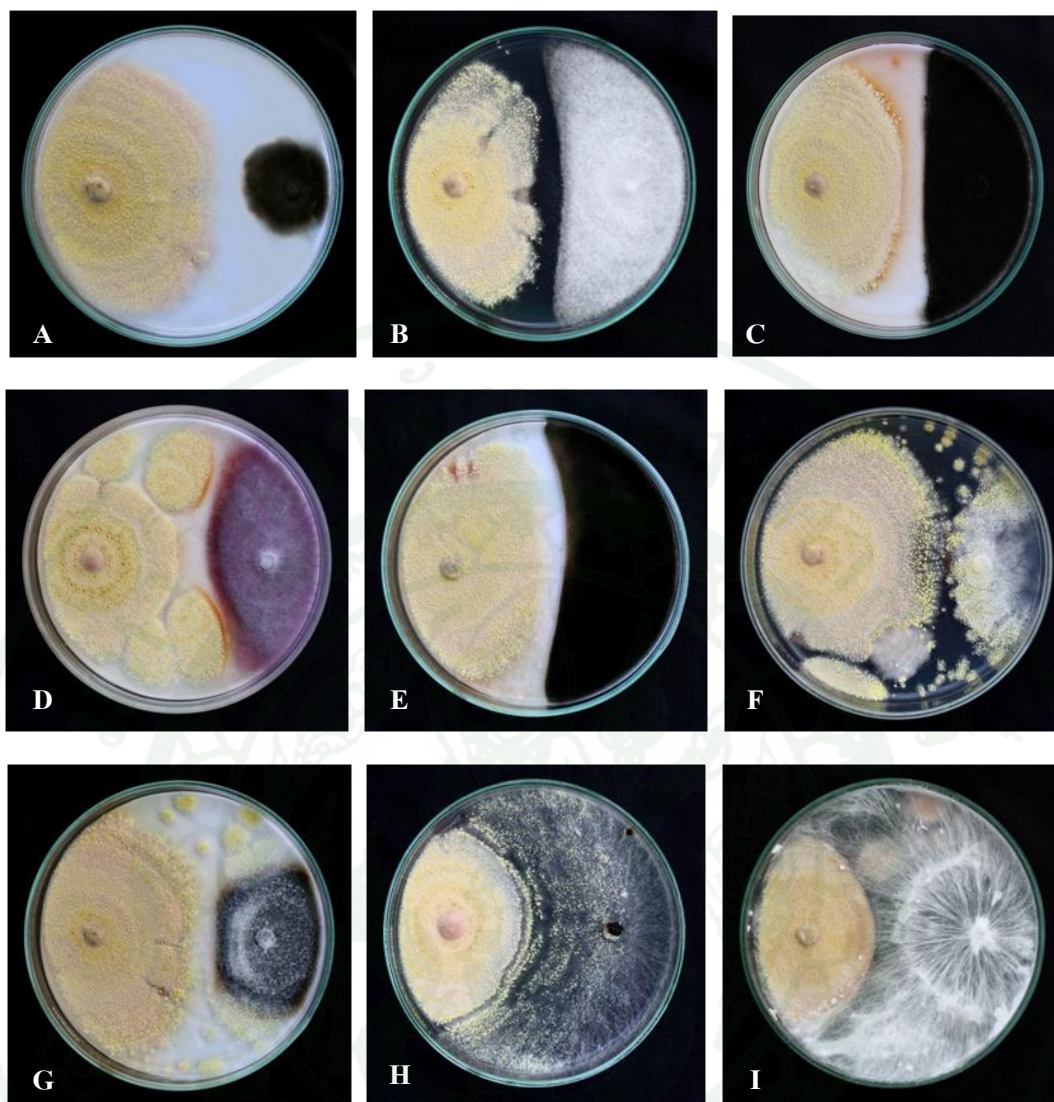


ภาพที่ 25 การเป็นปฏิปักษ์ระหว่างรา *Neosartorya* sp. (KUFC 10037) (ซ้าย) กับราสาเหตุโรคพืช 9 ชนิด (ขวา) บนอาหาร PDA ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 14 วัน:
 A. *Alternaria brassicicola*; B. *Colletotrichum gloeosporioides*; C. *Curvularia lunata*;
 D. *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*, E. *Helminthosporium oryzae*;
 F. *Phytophthora palmivora*; G. *Pyricularia oryzae*; H. *Rhizoctonia solani* และ
 I. *Sclerotium rolfsii*



ภาพที่ 26 การเป็นปฏิปักษ์ระหว่างรา *Talaromyces flavus* (KUFC 10046) (ซ้าย) กับราสาเหตุโรคพืช 9 ชนิด (ขวา) บนอาหาร PDA ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 7 วัน:

A. *Alternaria brassicicola*; B. *Colletotrichum gloeosporioides*; C. *Curvularia lunata*; D. *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*; E. *Helminthosporium oryzae*; F. *Phytophthora palmivora*; G. *Pyricularia oryzae*; H. *Rhizoctonia solani* และ I. *Sclerotium rolfsii*



ภาพที่ 27 การเป็นปฏิปักษ์ระหว่างรา *Talaromyces flavus* (KUFC 10046) (ซ้าย) กับราสาเหตุโรคพืช 9 ชนิด (ขวา) บนอาหาร PDA ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 14 วัน:
 A. *Alternaria brassicicola*; B. *Colletotrichum gloeosporioides*; C. *Curvularia lunata*;
 D. *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*, E. *Helminthosporium oryzae*;
 F. *Phytophthora palmivora*; G. *Pyricularia oryzae*; H. *Rhizoctonia solani* และ
 I. *Sclerotium rolfsii*

สรุปผลการทดลอง

ราที่พบในดินตะกอนบริเวณแนวปะการังจากอ่าวไทยและทะเลอันดามันส่วนใหญ่อยู่ในกลุ่ม mitosporic fungi (Dematiaceous Hyphomycetes) ได้แก่ *Penicillium* spp., *Aspergillus* spp., *Cladosporium cladosporioides* ราที่พบมากเป็นอันดับที่ 2 ได้แก่ รา Ascomycota (Family Trichocomaceae) ได้แก่ *Emericella nidulans*, *Eupenicillium parvum*, *Eurotium amstelodami*, *Eurotium* spp., *Neosartorya* sp., และ *Talaromyces flavus*.

พบราจำนวน 50 สายพันธุ์ (isolates) จากดินตะกอนใต้ทะเลโดยวิธีการแยกโดยตรง ลงในอาหาร potato dextrose agar (PDA) ที่ผสมน้ำทะเล 70 % จำแนกได้ 8 สกุล (genera) 12 ชนิด (species) ได้แก่ *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus ochraceus*, *Aspergillus terreus*, *Aspergillus versicolor*, *Cladosporium cladosporioides*, *Emericella nidulans*, *Eupenicillium parvum*, *Eurotium amstelodami*, *Neosartorya* sp. และ *Talaromyces flavus* พบรา *A. fumigatus* มากที่สุดจำนวน 4 สายพันธุ์ รองลงมาได้แก่ *A. flavus*, *A. terreus* และ *C. cladosporioides*, ชนิดละ 3 สายพันธุ์, *A. niger* 2 สายพันธุ์, *A. ochraceus*, *A. versicolor*, *Emericella nidulans*, *Eupenicillium parvum*, *Eurotium amstelodami* และ *T. flavus*, ชนิดละ 1 สายพันธุ์ รวมทั้งรา *Aspergillus* spp., *Eurotium* spp., *Neosartorya* sp. และ *Penicillium* spp. ที่ยังไม่ได้ระบุชนิด จำนวน 29 สายพันธุ์

ราที่พบในดินตะกอนบริเวณแนวปะการังจากทะเลอ่าวไทย ได้แก่ *A. fumigatus*, *A. ochraceus*, *A. versicolor*, *Neosartorya* sp. และ *T. flavus* ส่วนราที่แยกได้จากดินตะกอนใต้ทะเลอันดามัน ได้แก่ *A. flavus*, *Emericella nidulans*, *Eupenicillium parvum*, *Eurotium amstelodami* และ *Eurotium* spp. ส่วนรา *A. niger*, *A. terreus*, *Cladosporium cladosporioides*, *Aspergillus* spp. และ *Penicillium* spp. พบได้จากดินตะกอนใต้ทะเลทั้ง 2 แห่ง

การเป็นปฏิปักษ์ของราที่แยกจากดินตะกอนใต้ทะเลจำนวน 5 สายพันธุ์ ได้แก่ *Penicillium* sp.1 (KUFC 10001), *Eurotium* sp. (KUFC 10011), *Eupenicillium parvum* (KUFC 10018), *Neosartorya* sp. (KUFC 10037) และ *Talaromyces flavus* (KUFC 10046) ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยราสาเหตุโรคพืช 9 ชนิด ได้แก่ *Alternaria brassicicola*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Curvularia lunata*, *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*, *Helminthosporium oryzae*, *Phytophthora palmivora*, *Pyricularia oryzae*, *Rhizoctonia solani* และ *Sclerotium rolfsii*

หลังจากบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน ในห้องปฏิบัติการ พบว่า รา *E. parvum* (KUFC 10018) มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยรา *P. palmivora* ได้มากที่สุด (81.48%) รองลงมาได้แก่ รา *T. flavus* (KUFC 10046) มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยรา *H. oryzae* ได้ 70.49% และยับยั้งการเจริญของเส้นใยรา *C. lunata* ได้ 69.09%

อย่างไรก็ตาม ราที่แยกจากดินตะกอนใต้ทะเล ทั้ง 5 สายพันธุ์ ได้แก่ *Penicillium* sp.1 (KUFC 10001), *Eurotium amstelodami* (KUFC 10011), *Eupenicillium parvum* (KUFC 10018), *Neosartorya* sp. (KUFC 10037) และ *T. flavus* (KUFC 10046) ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยรา *Sclerotium rolfsii* ได้ในห้องปฏิบัติการ

ผลทดสอบการเป็นปฏิปักษ์ของราที่แยกจากดินตะกอนใต้ทะเลในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยราสาเหตุโรคพืช 9 ชนิด หลังจากบ่มเชื้อไว้เป็นเวลา 14 วัน ในห้องปฏิบัติการ ผลการทดสอบพบว่า รา *E. parvum* (KUFC 10018) มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยรา *P. palmivora* ได้มากที่สุด (92.31%) รองลงมาได้แก่รา *Neosartorya* sp. (KUFC 10037) มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยรา *P. oryzae* ได้ 83.87% และ รา *T. flavus* (KUFC 10046) มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยรา *A. brassicicola* ได้ 83.33%

ในขณะที่ราที่แยกจากดินตะกอนใต้ทะเล ทั้ง 5 สายพันธุ์ ได้แก่ *Penicillium* sp.1 (KUFC 10001), *Eurotium amstelodami* (KUFC 10011), *Eupenicillium parvum* (KUFC 10018), *Neosartorya* sp. (KUFC 10037) และ *T. flavus* (KUFC 10046) ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยรา *Rhizoctonia solani* และ *Sclerotium rolfsii* ได้

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

จริยา สากยโรจน์. 2552. “ราทะเล” ผู้ย่อยสลายในความเค็ม. แหล่งที่มา:

<http://www.biotech.or.th/biotechnology-th/newsdetail.asp?id=3313>, 10 กันยายน 2552.

จำเริญ บัวเรือง, ธิดา เดชฮวบ, เลขา มาโนช และ พงศธร พวงสมบัติ. 2553. ความหลากหลายของราที่เจริญร่วมกับสิ่งมีชีวิตในทะเลและราบนกเงือกไม้บริเวณชายหาด และประสิทธิภาพในการควบคุมราสาเหตุโรคพืชในห้องปฏิบัติการ, น. 113-119. ใน การประชุมวิชาการทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ ครั้งที่ 3. ศูนย์แสดงสินค้าและการประชุมอิมแพ็ค เมืองทองธานี, กรุงเทพฯ.

_____, เลขา มาโนช, ธิดา เดชฮวบ, อรุมา เพ็ชชัย, กลิ่นพกา ภูถาวร, กิตติวรา อยู่เย็น และอนเนก กิจเจา. 2557. ประสิทธิภาพของราทะเล *Neosartorya* spp. ที่อาศัยอยู่ร่วมกับสิ่งมีชีวิตในแนวปะการังต่อการยับยั้งการเจริญของราสาเหตุโรคพืชในห้องปฏิบัติการ, น. 74. ใน นิทรรศการเทิดพระเกียรติ สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์พระบรมราชินีนาถ และการประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์ทางทะเล ครั้งที่ 4. 10-12 มิถุนายน 2557. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, สงขลา.

_____, _____, _____, _____, ชลชญา แสนศิลา, กลิ่นพกา ภูถาวร, พรรณพร ไชยนต์ และอนเนก กิจเจา. 2556. ความหลากหลายของราที่อาศัยอยู่ร่วมกับสิ่งมีชีวิตในแนวปะการังจากบริเวณหมู่เกาะสิมิลัน จังหวัดพังงา, น. 519-530. ใน การประชุมวิชาการชมรมคณะปฏิบัติงานวิทยาการ อพ.สธ. ครั้งที่ 6 “ทรัพยากรไทย : นำสิ่งดีงามสู่ตาโลก”. 21-23 ธันวาคม พ.ศ. 2556. เชื้อนครินทร์, กาญจนบุรี.

ธิดา เดชฮวบ, เลขา มาโนช, อรวรรณ เถลิงหงส์ และเสาวภา พิลาดา. 2552. ความหลากหลายของราที่เจริญในน้ำเค็มบริเวณภาคตะวันออกของประเทศไทย, น. 570-578. ใน การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 47 (สาขาพืช). มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

เลขา มาโนช, พรพิมล อธิปัญญาคม, กัญญา เจริญไทย, คณินิจ บุศราคำ, อรุมา เข้มจิตต์, ธิดา เศษวบ, จิตรา เกาะแก้ว และ พงจิต ภูจิณญาณ. 2547. เชื้อราโรคพืชบนผลไม้ พืชผักและราดินบริเวณจอมปลวก, น. 544-552. ใน การประชุมทางวิชาการของ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ครั้งที่ 42 (สาขาพืช). มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

_____, อรุมา เพ็ชชัย, ธิดา เศษวบ, จิตรา เกาะแก้ว, อำนาจ เอี่ยมวิจารณ์, มะโนรัตน์ สุดสงวน, วิรัตน์ ลิ้มธนาวิชย์, เสียงแจ้ว พิริยพจน์ และ สุวรรณ กลิ่นภู. 2553. ความหลากหลายของรา *Emericella*, *Eurotium* และ *Neosartorya* จากดิน, น. 635-642. ใน เรื่อง เติมการประชุมวิชาการมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 48 สาขาพืช. 3-5 กุมภาพันธ์ 2553. กรุงเทพฯ.

_____, _____, _____, _____ และ เสียงแจ้ว พิริยพจน์. 2552. ความหลากหลายของราดิน ราเอนโดไฟท์ และรามูลสัตว์ บนเกาะเสม็ดสาร, น. 60-61. ใน เอกสารประชุมวิชาการ ทรัพยากรไทย : พันธุ์วิถีมโนฐานไทย (ภาคบรรยาย). 20-23 ตุลาคม 2552. สวนสัตว์เปิดเขาเขียว, ชลบุรี.

วันวิสาข์ คำสอน. 2556. ความหลากหลายของรา *Emericella* species จากดินและประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืช. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

อารดา กำเหนิดงาม. 2556. ความหลากหลายของราเอนโดไฟท์จากพืช และอิทธิพลของสารระเหยในการยับยั้งราสาเหตุโรคพืช. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

Bhadury,P., B.T. Mohammad and P.C. Wright. 2006. The current status of natural products from marine fungi and their potential as anti-infective agents. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology** 33: 325–337.

Buaruang, J., L. Manoch, T. Dethoup, O. Piasai and A. Kijjoa. 2010. Sponge-derived fungi from coral reefs in the gulf of Thailand and Andaman sea and antagonistic activity tests against plant fungi, p. 74. In **abstracts book the 5th Thai Mycological Conference**. 7 December 2010. Bangkok, Thailand.

Bugni, T.S. and C.M. Ireland. 2004. Marine derived fungi: a chemically and biologically diverse group of microorganisms. **Natural Product Reports** 21:143–163.

Chalermpongse, A. 1991. Fungal diseases in mangrove ecosystem, pp. 307-338. *In* **Proceeding, the 5th Silviculture Seminar in Thailand**. Division of Silviculture, Royal Forest Department, Bangkok, Thailand.

Che, Y., J.B. Gloer, D.T. Wicklow. 2002. Phomadecalins A–D and Phomapentenone A: new bioactive metabolites from *Phoma* sp. NRRL 25697, a fungal colonist of *Hypoxylon* stromata. **Journal of Natural Products** 65: 399–402.

Chinworrungsee, M., P. Kittakoop, M. Isaka, R. Chanphen, M. Tanticharoen and Y. Thebtaranonth. 2001. Antimalarial Halorosellinic acid from the marine fungus *Halorosellinia oceanica*. **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters** 11: 1965–1969.

_____, _____, _____, _____, _____ and _____. 2002. Halorosellins A and B, unique isocoumarin glucosides from the marine fungus *Halorosellinia oceanica*. **Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions I** 22: 2473–2476.

Daferner, M., T. Anke and O. Sterner. 2002. Zopfiellamides A and B, antimicrobial pyrrolidinone derivatives from the marine fungus *Zopfiella latipes*. **Tetrahedron** 58: 7781–7784.

Damare, S., C. Raghukumar and S. Raghukumar. 2006. Fungi in deep-sea sediments of the Central Indian Basin. **Deep-Sea Research I** 53: 14–27.

Dethoup, T. 2007. ***Talaromyces* species: Diversity, Taxonomy, Phylogeny, Antagonistic Activity Against Plant Pathogenic Fungi and Secondary Metabolites**. Ph.D. Thesis, Kasetsart University.

- _____ and L. Manoch. 2009. Diversity of Marine Fungi in Eastern Thailand. **Kasetsart Journal (Natural Science)** 43: 100–106.
- _____, _____, A. Kijjoa, M. Pinto, L. Gales, A.M. Damas, A.M.S. Silva, G. Eaton and W. Herz. 2007. Merodrimanes and other constituents from *Talaromyces thailandis*. **Journal of Natural Products** 70: 1200–1202.
- Domsch, K.H., W. Gams and T.H. Anderson. 1993. **Compendium of Soil Fungi Vol. 1**. 2nd ed. Academic Press, London.
- _____, _____ and _____. 1980. **Compendium of Soil Fungi**. Academic Press, London.
- Eamvijarn A. 2013. ***Neosartorya* species: Diversity, Morphology, Phylogeny, Antagonistic Tests against Plant Pathogenic Fungi and Secondary Metabolites of *N. pseudofischeri***. Ph.D. Thesis, Kasetsart University.
- Ebel, R. 2007. Bioactive natural products from marine-derived fungal strains, p. 8. **In Abstract of the Workshop and Seminar on Chemistry Biological Activities and Biodiversity of Marine Organisms**. 6-8 Nov. 2007. Institute of Marine Science, Burapha University, Chonburi, Thailand.
- Edrada, R.A., M. Heubes, G. Brauers, V. Wray, A. Berg, U. Grafe, M. Wohlfarth, J. Muhlbacher, K. Schaumann, S. Sudarsono, G. Bringmann and P. Proksch. 2002. Online analysis of xestodecalactones A–C, novel bioactive metabolites from the fungus *Penicillium montanense* and their subsequent isolation from the sponge *Xestospongia exigua*. **Journal of Natural Products** 65: 1598–1604.
- Ellis, M.B. 1971. **Dematiaceous Hyphomycetes**. Commonwealth Mycological Institute, Kew Surrey, England.
- Faulkner, D.J. 2001. Marine natural products. **Natural Product Reports** 18: 41-49.

- Fenical, W. 1997. New pharmaceuticals from marine organisms. **Trends Biotechnol** 15: 339–341.
- Fong, Y.K., S. Anuar, H.P. Lim, F.Y. Than and F.R. Sanderson. 2000. A modified filter paper technique for long-term preservation of some fungal cultures. **Mycologist** 14 (3): 127–130.
- Garo, E., C.M. Starks, P.R. Jensen, W. Fenical, E. Lobkovsky and J. Clardy. 2003. Trichodermamides A and B, cytotoxic modified dipeptides from the marine derived fungus *Trichoderma virens*. **Journal of Natural Products** 66: 423–426.
- Glaser, K.B. and A.M S. Mayer. 2009. A renaissance in marine pharmacology: From preclinical curiosity to clinical reality. **Biochemical Pharmacology** (in press).
- Habib, E., F. León, J.D. Bauer, R.A. Hill, P. Carvalho, H.G. Cutler and S.J. Cutler. 2008. Mycophenolic Derivatives from *Eupenicillium parvum*. **Journal of Natural Products** 71: 1915–1918.
- Höller, U. 1999. **Isolation, biological activity and secondary metabolite investigations of marine derived fungi and selected host sponges**. Ph.D. Thesis, Universität Carolo-Wilhelmina.
- _____, G.M. König and A.D. Wright. 1999. Three new metabolites from marine-derived fungi of the genera *Coniothyrium* and *Microsphaeropsis*. **Journal of Natural Products** 62: 114–118.
- Hyde, K.D. 1988. The genus *Linocarpon* from the mangrove palm *Nypa fruticans*. **Transactions of the Mycological Society of Japan** 29: 339–350.
- _____. 1989. *Caryospora mangrovei* sp. nov. and notes on marine fungi from Thailand. **Transactions of the Mycological Society of Japan** 30: 333–341.

- _____. 1992. The genus *Saccardoella* from intertidal mangrove wood. **Mycological Research** 84: 803-810.
- _____. 1995. *Lophiostoma asiana* sp. nov. from Thailand mangroves. **Mycotaxon** 60: 283-288.
- _____ and E.B.G. Jones. 1992. Intertidal mangrove fungi: *Pedumispora* gen. nov. (Diaporthales). **Mycological Research** 96: 78-80.
- _____, A. Chalermpongse and T. Boonthavikoon. 1990. Ecology of intertidal fungi at Ranong mangrove, Thailand. **Transactions of the Mycological Society of Japan** 31: 17-27.
- _____, _____ and _____. 1993. The distribution of intertidal fungi on *Rhizophora apiculata*, pp. 643-652. In B. Morton, ed. **The Marine Biology of the South China Sea**. Proceedings of the First International Conference on the Marine Biology of Hong Kong and South China Sea, Hong Kong. 1990. University of Hong Kong Press, Hong Kong.
- _____, E.B.G. Jones, S.B. Pointing, A.D. Poonyth and L.L.P. Vrijmoed. 1998. Role of fungi in marine ecosystems. **Biodiversity and Conservation** 7: 1147-1161.
- _____, V.V. Sarma and E.B.G. Jones. 2000. Morphology and taxonomy of higher marine fungi, pp. 172-201. In Hyde, K.D. and Pointing S.B., eds. **Marine Mycology. A Practical Approach**, Fungal Diversity Research Series 1. Fungal Diversity Press, Hong Kong.
- Intana, W., C. Chamswarn, W. Intanoo, C. Hongprayoon and K. Sivasithamparam. 2003. Use of mutant strains for improved efficacy of *Trichoderma harzianum* for controlling cucumber damping-off. **Thai Journal of Agricultural Science** 36: 429-439.

- Ito, T., A. Nakagiri, M. Tantichaoren and L. Manoch. 2001. **Mycobiota of mangrove forests in Thailand**. Research Communications, Institute for Fermentation, Osaka 20: 50-60.
- Jadulco, R., G. Brauers, R.A. Edrada, R. Ebel, V. Wray, S. Sudarsono and P. Proksch. 2002. New metabolites from sponge-derived fungi *Curvularia lunata* and *Cladosporium herbarum*. **Journal of Natural Products** 65: 730–733.
- _____, P. Proksch, V. Wray, Sudarsono, A. Berg and U. Grafe. 2001. New macrolides and furan carboxylic acid derivative from the sponge-derived fungus *Cladosporium herbarum*. **Journal of Natural Products** 64: 527–530.
- Jiang, Z., M.O. Barret, K.G. Boyd, D.R. Adams, A.S.F. Boyd and J.G. Burgess. 2002. JM47, a cyclic tetrapeptide HC-toxin analogue from a marine *Fusarium* species. **Phytochemistry** 60: 33–38.
- Jones, E.B.G., A. Pilantanapak, I. Chatmala, J. Sakayaroj, S. Phongpaichit and R. Choeyklin. 2006. Thai marine fungal diversity. **Songklanakarin Journal of Science and Technology** 28 (4): 687-708.
- _____, M.A. Abdel-Wahab, S.A. Alias and S-Y. Hsieh. 1999. *Dactylospora mangrovei* sp. nov. (Discomycetes, Ascomycota) from mangrove wood. **Mycoscience** 40: 317-320.
- Kijjoa, A and P. Sawangwong. 2004. Drugs and cosmetics from the Sea. **Marine Drugs** 2: 73-82.
- Klich, M.A. 2002. Biogeography of *Aspergillus* species in soil and litter. **Mycologia** 94: (in press)
- Koch, J. 1986. Some lignicolous marine fungi from Thailand, including two new species. **Nordic Journal of Botany** 6: 497-499.

- Kohlmeyer, J. 1984. Tropical marine fungi. **P.S.Z.N.I. Marine Ecology** 5: 329-378.
- _____ and B. Volkmann-Kohlmeyer. 1991. Illustrated key to the filamentous higher marine fungi. **Botanica Marina** 34: 1-61.
- Kongamol, S. 2001. **Decomposition rates and associated degradation fungi on mangrove leaf litter of *Rhizophora apiculata* and *Avicennia alaba* at Thachine estuary, Samut Sakhon Province.** Ph.D. Thesis, Kasesart University, Thailand.
- Konig, G.M., A.D. Wright, O. Sticher, C.K. Angerhofer and J.M. Pezzuto. 1994. Biological activities of selected marine natural products. **Planta Medica** 60: 532-537.
- Kuznetsova, T.A., O.F. Smetanina, S.S. Afiyatullo, M.V. Pivkin, V.A. Denisenko, G.B. Elyakov. 2001. The identification of fusidic acid, a steroidal antibiotic marine isolate of the fungus *Stilbella aciculosa*. **Biochemical Systematics and Ecology** 29: 873-874.
- Lin, W., G. Brauers, R. Ebel, V. Wray, A. Berg, Sudarsono and P. Proksch. 2003. Novel chromone derivatives from the fungus *Aspergillus versicolor* isolated from the marine sponge *Xestospongia exigua*. **Journal of Natural Products** 66: 57-61.
- Li, X., H.D. Choi, J.S. Kang, C.O. Lee and B.W. Son. 2003. New polyoxygenated farnesylcyclohexenones, deacetoxyyanuthone A and its hydro derivative from the marine-derived fungus *Penicillium* sp. **Journal of Natural Products** 66: 1499-1500.
- _____, M.K. Kim, U. Lee, S.K. Kim, J.S. Kang, H.D. Choi and B.W. Son. 2005. Myrothenones A and B, cyclopentenone derivatives with tyrosinase inhibitory activity from the marine-derived fungus *Myrothecium* sp. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin (Tokyo)** 53: 453-455.
- Liu, C.H., J.C. Meng, W.X. Zou, L.L. Huang, H.Q. Tang and R.X. Tan. 2002. Antifungal metabolite with a new carbon skeleton from *Keissleriella* sp. YS4108, a marine filamentous fungus. **Planta Medica** 68: 363-365.

Malakoff, D. 1997. Extinction on the high seas. **Science** 277: 486–488.

Malstrøm, J., C. Christophersen, A.F. Barrero, J.E. Oltra, J. Justicia and A. Rosales. 2002.

Bioactive metabolites from a marine derived strain of the fungus *Emericella variecolor*.

Journal of Natural Products 65: 364–367.

Manoch, L., O. Piasai, T. Dethoup, J. Kokaew A. Eamvijarn and S. Piriyaiprin. 2010.

Identification of *Eurotium* species (*Aspergillus glaucus*) using scanning electron microscope, p. 85. *In Proceedings of the 27th Annual Conference of the Microscopy*

Society of Thailand. 20-22 January 2010.

_____, _____, _____, _____, _____, M. Sudsanguan, W. Limthanawanit, S.

Piriyaiprin and S. Klinpoo. 2010. Diversity of *Emericella*, *Eurotium* and *Neosartorya* from soil, p. 635-642. *In the Proceeding of 48th Kasetsart University Annual*

Conference (Plant Sciences). 3-5 February 2010. Kasetsart University, Bangkok.

_____, _____, _____, _____, _____, N. Visarathanonth and C. Chamswarnng. 2008.

Biological control of plant pathogenic fungi using *Talaromyces flavus*, *Sordaria fimicola* and some endophytic fungi, p. 101. *In Program Book of The American*

Phytopathological Society Centennial Meeting 2008. 26-30 July 2008. Minneapolis, Minnesota.

_____, _____, _____, _____, _____, S. Piriyaiprin, Y. Paopun, P. Poochinya and P.

Umrung . 2009. Morphological studies of slime mold, some noteworthy Sordariaceous and synnemata fungi. **Journal of Microscopy Society of Thailand** 23 (1): 25-29.

_____, _____, _____, S. Piriyaiprin, J. Kokaew, A. Eamvijarn and S. Pikulklin.

2007. Diversity of soil fungi from mangrove swamp at Kung Krabaen Bay Royal

Development Study Center, p. 58. *In Abstract of the Workshop and Seminar on*

Chemistry Biological Activities and Biodiversity of Marine Organisms. 6-8

November 2007. Institute of Marine Science, Burapha University, Chonburi, Thailand.

- Nielsen, J., P.H. Nielsen and J.C. Frisvad. 1999. Fungal depside, guisinol, from a marine derived strain of *Emericella unguis*. **Phytochemistry** 50: 263–265.
- Osterhage, C., R. Kaminsky, G.M. König and A.D. Wright. 2000. Ascosalipyrrolidinone A, an antimicrobial alkaloid, from the obligate marine fungus *Ascochyta salicorniae*. **Journal of Organic Chemistry** 65: 6412–6417.
- Pitt, J.I. 1980. **The Genus *Penicillium* and its teleomorphic states *Eupenicillium* and *Talaromyces***. 447.
- Parvatkar, R.R., C.D. Souza, A. Tripathi and C.G. Naik. 2009. Aspernolides A and B, butenolides from a marine-derived fungus *Aspergillus terreus*. **Phytochemistry** 70 (1): 128-132.
- Pomponi, S.A. 1999. The bioprocess-technological potential of the sea. **Journal of Biotechnology** 70: 5–13.
- Raper, K.B. and D.I. Fennell. 1965. **The Genus *Aspergillus***. The Williams and Wilkins Company, Baltimore. 686.
- Renner, M.K., P.R. Jensen and W. Fenical. 1998. Neomangicols: structures and absolute stereochemistries of unprecedented halogenated sesterterpenes from a marine fungus of the genus *Fusarium*. **Journal of Organic Chemistry** 63: 8346–8354.
- Sakayaroj, J., E.B.G. Jones, I. Chatmala and S. Phongpaichit. 2004. Marine Fungi, p.107-117. In Jones, E.B.G., M. Tantichareon and K.D. Hyde, eds. **Thai Fungal Diversity**. BIOTEC, Thailand.
- Samson, R.A., E.S. Hoekstra, J.C. Frisvad and O. Filtenborg. 2002. **Introduction to Food-and Air borne Fungi**. 6th ed. Centraalbureau voor Schimmelcultures, Utrecht. The Netherlands.

- Samuel, P., L. Prince and P. Prabakaran. 2011. Antibacterial Activity of Marine derived Fungi Collected from South East Coast of Tamilnadu, India. **Journal of Microbiology and Biotechnology Research** 1 (4): 86-94.
- Shigemori, H., K. Komatsu, Y. Mikami and J. Kobayashi. 1999. Seragakinone A, a new pentacyclic metabolite from a marine derived fungus. **Tetrahedron** 55: 14925–14930.
- Sibounnavong, P., K. Soyong, C.C. Divina and S.P. Kalaw. 2009. *In – vitro* biological activities of *Emericella nidulans*, a new fungal antagonist, against *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. **Journal of Agricultural Technology** 5 (1): 75-84.
- Smith, D. and A.H.S. Onions. 1994. **The Preservation and Maintenance of Living Fungi**. 2nd ed. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey England.
- Soumya, K.S., J.C. Jacob, N.S. Correya, S.L. Smitha, K.D. Ramya, P.R.A. Kumar, M. Thomas and R. Philip. 2013. Filamentous fungal isolates from the continental shelf and slope sediments of Arabian Sea. **International Journal of Research in Marine Sciences** 2 (1): 26-31.
- Sponga, F., L. Cavaletti, A. Lazzarini, A. Borghi, I. Ciciliato, D. Losi and F. Marinelli. 1999. Biodiversity and potentials of marine-derived microorganisms. **Journal of Biotechnology** 70: 65–69.
- Sriswadskulmee, W. 2002. **Biodiversity of fungi in mangrove forest at Ranong biosphere reserve**. M.Sc. Thesis, Kasetsart University, Thailand.
- Suetrong, S., O. Supaphon, J. Sakayaroj, E.B.G. Jones and S. Phongpaichit. 2007. Contribution to Thai Marine fungal diversity, p. 60. **In Abstract of the Workshop and Seminar on Chemistry Biological Activities and Biodiversity of Marine Organisms**. 6-8 November 2007. Institute of Marine Science, Burapha University, Chonburi, Thailand.

- Sugie, Y., H. Hirai, T. Inagaki, M. Ishiguro, Y.J. Kim, Y. Kojima, T. Sakakibara, S. Sakemi, A. Sugiura, Y. Suzuki, L. Brennan, J. Duignan, L.H. Huang, J. Sutcliffe and N. Kojima. 2001. A new antibiotic CJ-17, 665 from *Aspergillus ochraceus*. **Journal of Antibiotics (Tokyo)** 54: 911–916.
- Sundari, R., S. Vikineswary, M. Yusoff and E.B.G. Jones. 1996. *Corollospora besarispora*, a new arenicolous marine fungus from Malaysia. **Mycological Research** 100: 1259–1262.
- Tsuda, M., T. Mugishima, K. Komatsu, T. Sone, M. Tanaka, Y. Mikami and J. Kobayashi. 2003. Modiolides A and B, two new 10-membered macrolides from a marine-derived fungus. **Journal of Natural Products** 66: 412–415.
- Warcup, J.H. 1950. The soil-plate method for isolation of fungi from soil. **Nature** 166: 117–118.
- Winston, J.E. 1988. The systematists' perspective, pp 1–6. In Fautin DG, ed. **Biomedical importance of marine organisms**. California Academy of Science, San Francisco.
- Wongthong, S. 2001. **Biodiversity of higher fungi in mangrove forest at Ranong Coastal Research Station**. M.Sc. Thesis, Kasesart University, Thailand.
- Yeemin, T., M. Sutthacheep and R. Pettongma. 2006. Coral reef restoration projects in Thailand. **Ocean and Coastal Management** 49: 562–575.



อาหารที่ใช้แยกเชื้อราจากดินตะกอนใต้ทะเล

1. Potato Dextrose agar with 70% of sea water

Potato extract	200	g
Dextrose	20	g
Agar	15	g
Sea water	700	ml
Distilled water	300	ml

อาหารสำหรับเลี้ยงเพื่อจำแนกชนิดเชื้อรา และทดสอบการยับยั้งการเจริญของราสาเหตุโรคพืช

1. Potato dextrose agar (PDA)

Potato extract	200	g
Dextrose	20	g
Agar	15	g
Distilled water	1,000	ml

น้ำทะเลเทียม (ความเค็ม 33 ppt)

Q-SEA salt (ชื่อทางการค้า)	37	g
Distilled water	1,000	ml

Mounting medium

1. Lactophenol mounting medium

Phenol (crystals)	20	g
Lactic acid	20	g
Glycerol	40	g
Distilled water	20	ml

2. Shear's mounting fluid

Potassium acetate	3 g
Glycerin	60 ml
95% ethanol	90 ml
Distilled water	150 ml



ประวัติการศึกษาและการทำงาน

ชื่อ	นายกอบชัย ตะนูนพงส์
เกิดวันที่	17 สิงหาคม 2530
สถานที่เกิด	จังหวัดเพชรบุรี
ประวัติการศึกษา	วท.บ. (เคมีเกษตร) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
ที่อยู่ที่สามารถติดต่อได้	72 หมู่ 5 ตำบล หนองโสน อำเภอ เมือง จังหวัด เพชรบุรี 76000
ทุนการศึกษาที่ได้รับ	ทุนวิจัยระดับบัณฑิตศึกษาเพื่อการตีพิมพ์ผลงานในวารสารวิชาการระดับนานาชาติ จากบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ประจำปีงบประมาณ 2553