



ใบรับรองวิทยานิพนธ์
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

..... วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (โรคพืช)

ปริญญา

โรคพืช โรคพืช
สาขา ภาควิชา

เรื่อง ประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืช ของสารสกัดจากกราเอนโคไฟท์
ที่แยกจากพืชป่าชายเลนบริเวณอ่าวคุ้งกระเบน จังหวัดจันทบุรี

Efficacy of Crude Extracts of Endophytic Fungi Isolated from Mangrove Plants
Collected at Kungkraben Bay, Chanthaburi Against Plant Pathogenic Fungi

นามผู้วิจัย นางสาวกมลวรรณ ศรีตะ

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก
(..... ผู้ช่วยศาสตราจารย์ธิดา เดชชวน, Ph.D.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม
(..... รองศาสตราจารย์ณรงค์ สิงห์ประอุดม, M.S.)

หัวหน้าภาควิชา
(..... ผู้ช่วยศาสตราจารย์อนงค์นุช สาสนรักกิจ, Ph.D.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

.....
(..... รองศาสตราจารย์กัญญา ชีระกุล, D.Agr.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ เดือน พ.ศ.

สิงสีทิจี มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

ประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืช ของสารสกัดจากราเอนโดไฟท์
ที่แยกจากพืชป่าชายเลนบริเวณอ่าวคุ้งกระเบน จังหวัดจันทบุรี

Efficacy of Crude Extracts of Endophytic Fungi Isolated from Mangrove Plants
Collected at Kungkraben Bay, Chanthaburi Against Plant Pathogenic Fungi

โดย

นางสาวกมลวรรณ ศรีดี

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
เพื่อขอความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (โรคพืช)

พ.ศ. 2558

กมลวรรณ ศรีดี 2558: ประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืช ของสารสกัด
จากราเอนโดไฟท์ที่แยกจากพืชป่าชายเลนบริเวณอ่าวคุ้งกระเบน จังหวัดจันทบุรี ปรินญา
วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (โรคพืช) สาขาโรคพืช ภาควิชาโรคพืช อาจารย์ที่ปรึกษา
วิทยานิพนธ์หลัก: ผู้ช่วยศาสตราจารย์ดา เดชสว, Ph.D. 98 หน้า

แยกราเอนโดไฟท์จำนวน 372 สายพันธุ์ จากกิ่ง ก้าน และใบของพืชป่าชายเลนจำนวน 40
ชนิด ที่เก็บจากบริเวณอ่าวคุ้งกระเบน จังหวัดจันทบุรี โดยพบราเอนโดไฟท์จากกิ่ง และใบเป็นส่วน
ใหญ่ ทำการคัดเลือกราเอนโดไฟท์จำนวน 20 สายพันธุ์ มาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการ
เจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช 10 ชนิด โดยวิธี dual culture พบว่าราเอนโดไฟท์สามารถยับยั้งการ
เจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช 5 ชนิด ได้มากกว่า 70 เปอร์เซ็นต์ ได้แก่ราเอนโดไฟท์ *Neosartorya*
spp. (KUFA 33, KUFA 38, KUFA 46 และ KUFA 47), ราเอนโดไฟท์ *Talaromyces trachyspermus*
(KUFA 45), ราเอนโดไฟท์ *Neosartorya sp.* (KUFA 47) และราเอนโดไฟท์ *Fusarium sp.*
(KUFA 48)

ประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากราเอนโดไฟท์ 5 สายพันธุ์ในการควบคุมเชื้อราสาเหตุ
โรคพืช ด้วยวิธี dilution plate พบว่าสารสกัดหยาบจากรา *Talaromyces trachyspermus* (KUFA 35)
มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืชได้สูงสุด รองลงมาได้แก่ สารสกัด
หยาบจากรา *Eurotium chevarii* (KUFA 39) และสารสกัดหยาบจากรา *Neosartorya sp.* (KUFA 41)

ได้แยกสารกึ่งบริสุทธิ์ (fraction) จำนวน 228 fractions จากสารสกัดหยาบของรา
Neosartorya sp. (KUFA 41) สามารถจัดกลุ่มได้ 119 กลุ่มสารบริสุทธิ์เมื่อตรวจสอบด้วย Thin
Layer Chromatography (TLC) และ พบว่า 42 กลุ่มสารกึ่งบริสุทธิ์ (group fractions) มีประสิทธิภาพ
ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum capsici* ที่ความเข้มข้น 100,000 ppm เมื่อทดสอบ
ด้วยวิธี well disc method สารกึ่งบริสุทธิ์ลำดับที่ 136 สามารถสร้าง clear zone ได้มากที่สุด รองลงมา
ได้แก่สารกึ่งบริสุทธิ์ 63 และ 88 ตามลำดับ และทดสอบสารบริสุทธิ์ลำดับที่ 119 กับเชื้อราสาเหตุ
โรคพืช 10 ชนิด พบว่าไม่มีประสิทธิภาพยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืช

ลายมือชื่อนิติ

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

Kamonwan Sreeta 2015: Efficacy of Crude Extracts of Endophytic Fungi Isolated from Mangrove Plants Collected at Kungkraben Bay, Chanthaburi Against Plant Pathogenic Fungi. Master of Science (Plant Pathology), Major Field: Plant Pathology, Department of Plant Pathology. Thesis Advisor: Assistant Professor Tida Dethoup, Ph.D. 98 pages.

Collection of 40 species of mangrove plants from Kungkraben Bay, Chanthaburi, Thailand, resulted in the isolation of a wide collection of fungal isolates, mainly endophytic fungi (372 isolates), from branches and leaves.

Screening of the antagonistic effect from 20 selected endophytic fungi against 10 phytopathogenic fungi, using the Dual Culture method, led to the identification of 6 promising fungal isolates. The fungal isolates, taxonomically identified as belonging to the genera *Neosartorya* sp. (KUFA 33, KUFA 38, KUFA 46 and KUFA 47), *Talaromyces trachyspermus* (KUFA 45) and *Fusarium* sp. (KUFA 48), displayed relevant antagonistic effect causing more than 70% of mycelial growth inhibition for the majority of the plant pathogenic fungi.

Additionally, five endophytic fungi ethyl acetate crude extracts were further evaluated for their antifungal activities using the Dilution Plate method, and the results showed that *T. trachyspermus* (KUFA 35) was the most active extract, followed by *Eurotium chevalieri* (KUFA 39) and *Neosartorya* sp. (KUFA 41) crude extracts, also displaying strong inhibitory mycelial growth activity.

Neosartorya sp. (KUFA 41) fractionation resulted in the collection of 288 fractions, grouped into 119 fractions, after evaluation of their chromatographic profile through Thin Layer Chromatography analysis. Further mycelial growth inhibitory activity was evaluated and 42 fractions displayed antifungal activity against the plant pathogen *Colletotrichum capsici*, at 100,000 ppm, using the Well Disc method. Fraction 136 was identified as the most active, generating a maximum clear zone, followed by fractions 63 and 88.

An unidentified compound isolated from fraction 119, was tested for its antifungal activity against 10 plant pathogenic fungi, but displayed no activity.

Student's signature

Thesis Advisor's signature

กิตติกรรมประกาศ

ขอกราบขอบพระคุณ ผศ.ดร. ธิดา เศษวบ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก รศ. ณรงค์
สิงห์บุระอุดม อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่ให้คำแนะนำในการเรียนการค้นคว้าวิจัย อบรม
สั่งสอน ตลอดจนให้คำแนะนำปรึกษา และตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์จนกระทั่งเสร็จสมบูรณ์ได้ด้วยดี

ขอกราบขอบพระคุณ ศ.ดร. อนเนก กิจเจา จากมหาวิทยาลัยปอร์โต ประเทศโปรตุเกสที่ให้
คำแนะนำในเรื่องสารสกัด และวิเคราะห์สารด้วยวิธี Column chromatography และ Thin layer
chromatography

ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ และบุคคลในครอบครัวทุกคน ที่ให้ความรัก ความ
ห่วงใย คำแนะนำปรึกษาและเป็นกำลังใจ คอยช่วยเหลือด้านการศึกษาของข้าพเจ้ามาโดยตลอด

ขอขอบพระคุณสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.) ที่ให้การสนับสนุนงานวิจัย
ภายใต้การอุดหนุนงานวิจัย ประเภทบัณฑิตศึกษา ระดับปริญญาโท ประจำปี 2556

ขอขอบพระคุณ เจ้าหน้าที่ภาควิชาโรคพืช มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน
ทุกๆ ท่านที่ให้ความช่วยเหลือแนะนำสิ่งต่างๆ ในการทำวิจัยจนสำเร็จได้ด้วยดี

ขอขอบคุณ พี่ๆ เพื่อนๆ และน้องๆ ทุกคน ที่ให้ความช่วยเหลือในการทำวิจัยและอื่นๆ อีก
ทั้งยังเป็นกำลังใจที่ดีเสมอมา ตลอดเวลาที่ทำการศึกษาวิจัย

สุดท้ายนี้ ประโยชน์และคุณค่าอันเนื่องมาจากวิทยานิพนธ์เล่มนี้ จะพึงมีเพียงใด ขอมอบแด่
คุณพ่อ คุณแม่ และคณาจารย์ทุกท่าน ที่ได้เมตตาอบรมสั่งสอนความรู้มาจนถึงปัจจุบัน

กมลวรรณ ศรีดี๊ะ

พฤศจิกายน 2557

สารบัญ

หน้า

สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(4)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	3
การตรวจเอกสาร	4
อุปกรณ์และวิธีการ	22
อุปกรณ์	22
วิธีการ	24
ผลและวิจารณ์	33
สรุปและข้อเสนอแนะ	85
สรุป	85
ข้อเสนอแนะ	86
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	87
ภาคผนวก	95
ประวัติการศึกษาและการทำงาน	98

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ประสิทธิภาพของสารจากราเอนโดไฟท์ที่แยกจากพืชป่าชายเลน	20
2	เชื้อราสาเหตุโรคพืชที่ใช้ในการทดสอบ	25
3	ราเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากพืชป่าชายเลน 40 ชนิดที่เก็บจากอ่าวคุ้งกระเบน จังหวัดจันทบุรี	33
4	การกระจายตัวของราเอนโดไฟท์ที่พบในพืชป่าชายเลน	35
5	สายพันธุ์ราเอนโดไฟท์ จำนวน 20 ไอโซเลตที่คัดเลือกเพื่อใช้ทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช	37
6	ผลการทดสอบประสิทธิภาพของราเอนโดไฟท์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช 10 ชนิด โดยวิธี dual culture	43
7	เปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช 10 ชนิด โดยสารสกัดจากรา <i>Talaromyces trachyspermus</i> (KUFA 35) บนอาหาร PDA	57
8	เปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช 10 ชนิด โดยสารสกัดจากรา <i>Eurotium chevalieri</i> (KUFA 39) บนอาหาร PDA	58
9	เปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช 10 ชนิด โดยสารสกัดจากรา <i>Neosartorya</i> sp. (KUFA 41) บนอาหาร PDA	59
10	เปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช 10 ชนิด โดยสารสกัดจากรา <i>Neosartorya</i> sp. (KUFA 47) บนอาหาร PDA	60
11	เปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช 10 ชนิด โดยสารสกัดจากรา <i>Nigrospora</i> sp. (KUFA 50) บนอาหาร PDA	61
12	ผลการแยกสารกึ่งบริสุทธิ์ (fraction) จากสารสกัดหยาบของรา <i>Neosartorya</i> sp. (KUFA 41) ด้วยวิธี column chromatography	67

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
13	เปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช 10 ชนิดบนอาหาร PDA โดยสารบริสุทธิ์จากราเอนโดไฟท์ <i>Neosartorya</i> sp. (KUFA 41) เมื่อทดสอบด้วยวิธี paper disc method	80
14	ประสิทธิภาพของสารกึ่งบริสุทธิ์ (fractions) ของรา <i>Neosartorya</i> sp. (KUFA 41) ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา <i>Colletotrichum apsici</i> โดยวิธี well disc	83

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1 โครงสร้างทางเคมีของสาร 3-benzylidene-8,8a-dihydroxy-2-methyl-hexahydro-pyrrolo[1,2-a]pyrazine-1,4-dione (A) และ 4-hydroxy-6-(hydroxy-phenylmethyl)-N-(3-methyl-butyryl)-nicotinamide (B)	11
2 โครงสร้างทางเคมีของสาร leposphaerone C (A), penicillenone (B), arugosin I (C), 9-demethyl FR-901235 (D), bacillosporin A (E), bacillosporin C (F), Sequoiatone A (G) และ Sequoiatone B (H)	12
3 โครงสร้างทางเคมีของสาร (3 <i>R</i> *,4 <i>S</i> *)-6,8-dihydroxy-3,4,7-trimethylisocoumarin (A), (3 <i>R</i> ,4 <i>S</i>)-6,8-dihydroxy-3,4,5-trimethylisocoumarin และ (3 <i>R</i> ,4 <i>S</i>)-6,8-dihydroxy-3,4,7 trimethylisocoumarin (B), (S)-3-(3',5'-dihydroxy-2',4'-methylphenyl) butan-2-one (C) และ phenol A (D)	13
4 โครงสร้าง และ cytotoxicity ค่า IC ₅₀ สารประกอบ 1-14 ชนิด	14
5 โครงสร้างทางเคมีของสาร quinazolone indole (1), alkaloid (2) และ fiscalin (3)	16
6 โครงสร้างทางเคมีของสาร NK372135 A-C (1-3)	17
7 โครงสร้างทางเคมีของสาร cyclopentannone derivatives (1), isoterrein alkaloid (2), fischeacid (3) และ fischexanthone (4)	17
8 โครงสร้างทางเคมีของสาร glablamycin A (1), glablamycin B (2) และ glablamycin C (3)	58
9 โครงสร้างทางเคมีของสาร 3-hydroxy-5-methylphenyl 2,4-dihydroxy-6-methylbenzoate A (1), 3,8-diacetyl-4-(3-methoxy-4,5-methylenedioxy)benzyl-7-phenyl-6-oxa-3,8-diazabicyclo [3.2.1] octane (2A และ 2B), quinazolinone-containing indole alkaloid pseudofischerine (3) และ cytotoxic pyrrolinolesesquiterpenoid, named fischerindoline (4)	19

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
10	โครงสร้างทางเคมีของสาร prenylated dihydrosocoumarin derivative, PF1223
11	วิธีการทดสอบประสิทธิภาพของราเอนโคไฟท์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืชโดยวิธี dual culture บนอาหาร PDA
12	ภาพแสดงวิธีทดสอบเชื้อโดยวิธี paper disc ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA
13	ภาพแสดงวิธีทดสอบเชื้อโดยวิธี well disc ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA
14	ราเอนโคไฟท์ที่แยกได้จากพืชป่าชายเลน
15	ประสิทธิภาพของราเอนโคไฟท์ <i>Pestalotiopsis</i> sp. (KUFA 31) (ก-ช) และ <i>Neosartorya</i> sp. (KUFA 32) (ฉ-ณ) (ซ้าย) ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช (ขวา) เมื่อทดสอบด้วยวิธี dual culture
16	ประสิทธิภาพของราเอนโคไฟท์ <i>Neosartorya</i> sp. (KUFA 33) (ก-ช) และ (KUFA 34) (ฉ-ณ) (ซ้าย) ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช (ขวา) เมื่อทดสอบด้วยวิธี dual culture
17	ประสิทธิภาพของราเอนโคไฟท์ <i>Talaromyces trachyspermus</i> (KUFA 35) (ก-ช) และ <i>Pestalotiopsis</i> sp. (KUFA 36) (ฉ-ณ) (ซ้าย) ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช (ขวา) เมื่อทดสอบด้วยวิธี dual culture
18	ประสิทธิภาพของราเอนโคไฟท์ <i>Talaromyces trachyspermus</i> (KUFA 37) (ก-ช) และ <i>Neosartorya</i> sp. (KUFA 38) (ฉ-ณ) (ซ้าย) ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช (ขวา) เมื่อทดสอบด้วยวิธี dual culture
19	ประสิทธิภาพของราเอนโคไฟท์ <i>Eurotium chevalieri</i> (KUFA 39) (ก-ช) และ <i>Neosartorya</i> sp. (KUFA 40) (ฉ-ณ) (ซ้าย) ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช (ขวา) เมื่อทดสอบด้วยวิธี dual culture
20	ประสิทธิภาพของราเอนโคไฟท์ <i>Neosartorya</i> sp. (KUFA 41) (ก-ช) และ (KUFA 42) (ฉ-ณ) (ซ้าย) ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช (ขวา) เมื่อทดสอบด้วยวิธี dual culture

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
21	ประสิทธิภาพของราเอนโดไฟท์ (KUFA 43) (ก-ช) และ <i>Pestalotiopsis</i> sp. (KUFA 44) (ฉ-ณ) (ซ้าย) ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช (ข้าว) เมื่อทดสอบด้วยวิธี dual culture 50
22	ประสิทธิภาพของราเอนโดไฟท์ <i>Talaromyces trachyspermus</i> (KUFA 45) (ก-ช) และ <i>Neosartorya</i> sp. (KUFA 46) (ฉ-ณ) (ซ้าย) ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช (ข้าว) เมื่อทดสอบด้วยวิธี dual culture 51
23	ประสิทธิภาพของราเอนโดไฟท์ <i>Neosartorya</i> sp. (KUFA 47) (ก-ช) และ <i>Fusarium</i> sp. (KUFA 48) (ฉ-ณ) (ซ้าย) ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช (ข้าว) เมื่อทดสอบด้วยวิธี dual culture 52
24	ประสิทธิภาพของราเอนโดไฟท์ <i>Pestalotiopsis</i> sp. (KUFA 39) (ก-ช) และ <i>Nigrospora</i> sp. (KUFA 40) (ฉ-ณ) (ซ้าย) ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช (ข้าว) เมื่อทดสอบด้วยวิธี dual culture 53
25	ประสิทธิภาพของสารสกัดของราเอนโดไฟท์ <i>Talaromyces trachyspermus</i> (KUFA 35) ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืชที่ความเข้มข้น 10,000 1,000 100 10 ppm เปรียบเทียบกับชุดควบคุม (control) เมื่อทดสอบด้วยวิธี dilution plate 62
26	ประสิทธิภาพของสารสกัดของราเอนโดไฟท์ <i>Eurotium chevalieri</i> (KUFA 39) ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืชที่ความเข้มข้น 10,000 1,000 100 10 ppm เปรียบเทียบกับชุดควบคุม (control) เมื่อทดสอบด้วยวิธี dilution plate 63
27	ประสิทธิภาพของสารสกัดของราเอนโดไฟท์ <i>Neosartorya</i> sp. (KUFA 41) ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืชที่ความเข้มข้น 10,000 1,000 100 10 ppm เปรียบเทียบกับชุดควบคุม (control) เมื่อทดสอบด้วยวิธี dilution plate 64
28	ประสิทธิภาพของสารสกัดของราเอนโดไฟท์ <i>Neosartorya</i> sp. (KUFA 47) ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืชที่ความเข้มข้น 10,000 1,000 100 10 ppm เปรียบเทียบกับชุดควบคุม (control) เมื่อทดสอบด้วยวิธี dilution plate 65

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า	
29	ประสิทธิภาพของสารสกัดของราเอนโดไฟท์ <i>Nigrospora</i> sp. (KUFA 50) ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืชที่ความเข้มข้น 10,000 1,000 100 10 ppm เปรียบเทียบกับชุดควบคุม (control) เมื่อทดสอบด้วยวิธี dilution plate	66
30	โครมาโตแกรมของสารกึ่งบริสุทธิ์ (fractions) 1-60 ที่แยกจากสารสกัดหยาบของรา <i>Neosartorya</i> sp. (KUFA 41) เมื่อตรวจสอบด้วยไอโอไดน์	75
31	โครมาโตแกรมของสารกึ่งบริสุทธิ์ (fractions) 55-117 ที่แยกจากสารสกัดหยาบของรา <i>Neosartorya</i> sp. (KUFA 41) เมื่อตรวจสอบด้วยไอโอไดน์	76
32	โครมาโตแกรมของสารกึ่งบริสุทธิ์ (fractions) 116-174 ที่แยกจากสารสกัดหยาบของรา <i>Neosartorya</i> sp. (KUFA 41) เมื่อตรวจสอบด้วยไอโอไดน์	77
33	โครมาโตแกรมของสารกึ่งบริสุทธิ์ (fractions) 174-224 ที่แยกจากสารสกัดหยาบของรา <i>Neosartorya</i> sp. (KUFA 41) เมื่อตรวจสอบด้วยไอโอไดน์	78
34	โครมาโตแกรมของสารกึ่งบริสุทธิ์ (fractions) 223-284 ที่แยกจากสารสกัดหยาบของรา <i>Neosartorya</i> sp. (KUFA 41) เมื่อตรวจสอบด้วยไอโอไดน์	79
35	ประสิทธิภาพของสารบริสุทธิ์จากราเอนโดไฟท์ <i>Neosartorya</i> sp. (KUFA 41) ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืชที่ความเข้มข้น 10,000 1,000 100 และ 10 ppm เปรียบเทียบกับชุดควบคุม (control) เมื่อทดสอบด้วยวิธี paper disc	81
36	ผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารกึ่งบริสุทธิ์ (fraction) ของรา <i>Neosartorya</i> sp. (KUFA 41) ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา <i>Colletotrichum capsici</i> โดยวิธี well disc	84

ประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืช ของสารสกัดจากราเอนโดไฟท์ ที่แยกจากพืชป่าชายเลนบริเวณอ่าวคุ้งกระเบน จังหวัดจันทบุรี

Efficacy of Crude Extracts of Endophytic Fungi Isolated from Mangrove Plants Collected at Kungkraben Bay, Chanthaburi Against Plant Pathogenic Fungi

คำนำ

ราเอนโดไฟท์ (endophytic fungi) เป็นราชนิดหนึ่งที่ดำรงชีวิตอยู่ภายในส่วนต่างๆ ของเนื้อเยื่อพืช โดยการดำรงชีวิตแบบพึ่งพาอาศัยกัน และไม่ส่งผลกระทบต่อพืชอาศัย ซึ่งพืชทำหน้าที่เป็นแหล่งอาหารให้กับราเอนโดไฟท์ (Tanaka *et al.*, 2002) จากงานวิจัยที่ผ่านมา พบว่าราเอนโดไฟท์สามารถสร้างออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ที่มีฤทธิ์ต้านจุลชีพ และมีคุณสมบัติทางยา (Park *et al.*, 2005; Xu *et al.*, 2009; Chaeprasert *et al.*, 2010) ทั้งยังมีความหลากหลายทางชีวภาพ เนื่องจากสามารถพบราเอนโดไฟท์ได้ในพืชตระกูลต่างๆ เป็นจำนวนมากรวมทั้งพืชป่าชายเลน คุณสมบัติเหล่านี้ของราเอนโดไฟท์เป็นประโยชน์ต่อการนำมาใช้ประโยชน์ในด้านต่าง ๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในด้านเกษตรกรรม (Saikkonen, 2007) จึงมีการศึกษาวิจัยราเอนโดไฟท์กันอย่างกว้างขวางในปัจจุบัน

ในประเทศไทยมีรายงานว่าราเอนโดไฟท์จากพืชป่าชายเลนมีความหลากหลายทางชีวภาพ และสามารถสร้างเอนไซม์ที่มีประโยชน์ (ประไพพิศ, 2551) รวมทั้งสารสกัดหยาบจากราเอนโดไฟท์หลายชนิดมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเซลล์มะเร็งได้ เช่นเซลล์มะเร็งผิวหนัง เซลล์มะเร็งลำไส้ เซลล์มะเร็งกระเพาะอาหาร เซลล์มะเร็งตับ และเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว (สุกัญญา, 2552)

มีรายงานการพบสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจำนวนมากจากราเอนโดไฟท์ที่แยกจากพืชป่าชายเลน เช่นสาร cytosporone B และ C จากรา *Phomopsis* sp. ZSU-H76 สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Candida albicans* และ *Fusarium oxysporum* ได้ (Huang *et al.*, 2008) ราเอนโดไฟท์สายพันธุ์ 1893 ที่แยกจากต้นรังกะแต้ (*Kandelia candel*) บริเวณทะเลจีนใต้ ประเทศจีน สร้างสารที่แสดงความเป็นพิษต่อ NCI4460 และ Bel-7402 และมีความสามารถในการยับยั้งหนอนเจาะสมอฝ้าย *Heliothis armigera* (Hühner) และ *Sinergasilus* spp. สูง (Chen *et al.*, 2003) นอกจากนี้พบ

สารประกอบ 14 ชนิด ในกลุ่ม anthracenedione derivatives จากราเอนโดไฟท์ *Halorosellinia* sp. (No. 1403) และ *Guignardia* sp. (No. 4382) ที่แยกจากพืชป่าชายเลน พบว่าสารประกอบชนิดที่ 9 และ 10 แสดงฤทธิ์ในการยับยั้งเซลล์ KB และ KBv200 ขณะที่สารประกอบที่ 6 มีฤทธิ์ในการยับยั้งเซลล์ KB และ KBv200 มีค่า IC_{50} ที่ 3.17 และ 3.21 ตามลำดับ (Zhang *et al.*, 2010) รวมทั้งมีรายงานประสิทธิภาพของสารจากราเอนโดไฟท์ที่แยกจากพืชป่าชายเลน 12 ชนิดในการยับยั้งเชื้อราและเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคของมนุษย์ ได้แก่ *Staphylococcus aureus* ATCC25923, *S. aureus* (MRSA) SK1, *Escherichia coli* ATCC25922 และ *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853 พบว่าราเอนโดไฟท์ 92 สายพันธุ์ มีฤทธิ์ในการยับยั้ง *S. aureus* ได้ 61.3 เปอร์เซ็นต์ และ 28.32 เปอร์เซ็นต์ Buatong *et al.* (2011) พบรา *Fusarium* sp. (ZZF60) สร้างสาร furanocoumarin ซึ่งมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเซลล์ KB และ KBv200 (Huang *et al.*, 2011)

การควบคุมโรคพืชทางชีววิธี เป็นทางเลือกหนึ่งที่สามารถนำมาใช้ควบคุมโรคพืชได้ และมีความปลอดภัยกว่าการใช้สารเคมี ซึ่งอาจใช้ราในรูปเชื้อสดควบคุมเชื้อสาเหตุโรคพืชได้โดยตรง หรืออาจใช้สารสกัดควบคุมเชื้อราที่เป็นสาเหตุโรคพืช (Hostettmann and Marston, 1994; Intana *et al.*, 2005; Xie *et al.*, 2008) การใช้สารสกัดจากราเอนโดไฟท์ยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืช มีผู้ให้ความสนใจมากขึ้น เนื่องจากพบว่าราเอนโดไฟท์สามารถสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืชได้หลายชนิด (Park *et al.*, 2005)

ดังนั้นการศึกษาราเอนโดไฟท์ พบว่ามีความน่าสนใจมากในปัจจุบัน ทั้งนี้เนื่องจากสามารถนำมาพัฒนาเป็นชีวภัณฑ์ในการควบคุมโรคและแมลงศัตรูพืชโดยชีววิธี (biological control) ทดแทนการใช้สารเคมีเพื่อนำไปสู่การทำการเกษตรแบบยั่งยืนซึ่งจะส่งผลให้เกษตรกร และผู้บริโภคมีคุณภาพชีวิตที่ดียิ่งขึ้นต่อไปในอนาคต

วัตถุประสงค์

1. จัดจำแนกชนิดของราเอนโดไฟท์ที่แยกจากกิ่ง งาม และใบ ของพืชป่าชายเลน ที่เก็บจาก
อ่าวคุ้งกระเบน จังหวัดจันทบุรี
2. ทดสอบคุณสมบัติปฏิปักษ์ของราเอนโดไฟท์ 20 ชนิด ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา
สาเหตุโรครีซ 10 ชนิด โดยใช้วิธี dual culture
3. สกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากราเอนโดไฟท์ 5 ชนิด และทดสอบประสิทธิภาพของ
สารสกัดยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรครีซ 10 ชนิด โดยวิธี
dilution plate method
4. แยกสารสกัดยับยั้งการเจริญของราเอนโดไฟท์ *Neosartorya* sp. (KUFA 41) ให้เป็นสารกึ่ง
บริสุทธิ์ (fraction) โดยวิธี column chromatography
5. ทดสอบประสิทธิภาพของสารกึ่งบริสุทธิ์ที่แยกได้ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา
สาเหตุโรครีซ โดยวิธี paper disc method
6. ทดสอบฤทธิ์ของสารบริสุทธิ์จาก fractions 119 ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา
Colletotrichum capsici โดยวิธี well disc method

การตรวจเอกสาร

1. ความหลากหลายของราเอนโดไฟท์ที่เจริญร่วมกับพืชป่าชายเลนในประเทศไทย

ประไพพิศ (2551) ศึกษาราเอนโดไฟท์ที่แยกจากพืชป่าชายเลนที่สามารถสร้างเอนไซม์ไลเปส เอนไซม์เซลลูเลส เอนไซม์อะไมเลส และเอนไซม์โปรติเอส โดยสุ่มเลือก 300 สายพันธุ์ นำมาศึกษาการสร้างเอนไซม์ไลเปส และเอนไซม์เซลลูเลส สุ่มเลือก 180 สายพันธุ์ นำมาศึกษาการสร้างเอนไซม์อะไมเลส และเอนไซม์โปรติเอส จากนั้นคัดเลือกราเอนโดไฟท์ จำนวน 47 สายพันธุ์ โดยทดสอบเอนไซม์ไลเปส และเอนไซม์เซลลูเลส ด้วยชุดทดสอบ API ZYM โดยราทุกสายพันธุ์สามารถสร้างกรด phosphatase (100%) รองลงมาคือ naphthol-AS BI phosphohydrolase (91.5%) และราส่วนใหญ่สร้างเอนไซม์ไลเปส เมื่อนำราเอนโดไฟท์ที่มีศักยภาพในการสร้างเอนไซม์ไลเปส และเอนไซม์เซลลูเลส รวมทั้งสิ้นจำนวน 21 สายพันธุ์มาจัดจำแนกโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและวิเคราะห์ลำดับเบสบน ribosomal DNA, Internal Transcribed Spacers (ITS1-5.8S2, ITS) และ large subunit (LSU) สามารถจัดจำแนกได้ 19 สายพันธุ์ โดยพบว่าราจัดอยู่ใน Phylum Basidiomycota และ Phylum Ascomycota รวม 6 Orders ได้แก่ Order Agaricales, Order Capnariales, Order Pleosporales, Order Botryosphaeriales, Order Diaporthales และ Order Xylariales โดยมี 2 สายพันธุ์ ที่ไม่สามารถจัดจำแนกได้คือสายพันธุ์ MA132 และ MA148 สำหรับราเอนโดไฟท์ที่สร้างเอนไซม์ไลเปสได้แก่ รา *Diaporthe* sp. และ *Cladosporium* sp. ซึ่งแยกได้จากต้นแสมดำ (*Avicennia officinalis*) ส่วนราเอนโดไฟท์ที่สร้างเอนไซม์เซลลูเลสได้แก่รา *Botryosphaeriales* sp. แยกได้จากต้นตะบูน (*Xylocarpus granatum*), รา *Pleosporales* sp. แยกได้จากต้นโกงกางใบใหญ่ (*Rhizophora mucronata*) และรา *Massarina* sp. แยกได้จากต้นฝาดดอกแดง (*Lumnitzera littorea*) จากผลการทดลองทั้งหมดแสดงให้เห็นว่าราเอนโดไฟท์ จากพืชป่าชายเลนมีความหลากหลายทางชีวภาพ และสามารถสร้างเอนไซม์ไลเปส และเอนไซม์เซลลูเลสได้

จิรายุ (2552) คัดเลือกราเอนโดไฟท์ที่สร้างสารต้านจุลินทรีย์จากพืชป่าชายเลน โดยทำการแยกเชื้อราเอนโดไฟท์จากพืชป่าชายเลน 18 ชนิด ใน 4 จังหวัดทางภาคใต้ของประเทศไทย สามารถแยกได้ทั้งหมด 619 ไอโซเลต พบมากที่สุดจากต้นถั่วขาว (*Bruguiera cylindrica*) โดยสามารถแยกเชื้อราเอนโดไฟท์ได้จากส่วนกิ่งมากที่สุด และสุ่มเลือกเชื้อราเอนโดไฟท์ที่มีลักษณะโคโลนีแตกต่างกัน 150 isolates เพาะเลี้ยงในอาหาร potato dextrose broth (PDB) แล้วนำไปสกัดด้วย ethyl acetate นำสารสกัดที่ได้มาทดสอบฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ก่อโรค 7 ชนิด ได้แก่ *Staphylococcus aureus* ATCC25923, Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* SK1 (MRSA-SK1), *Escherichia coli*

ATCC25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853, *Candida albicans* ATCC90028, *Cryptococcus neoformans* ATCC90112 และ *Microsporium gypseum* MU-SH4 ด้วยวิธี colorimetric microdilution และ หาค่า minimal inhibitory concentration (MIC) และ minimal bactericidal concentration (MBC) หรือ minimal fungicidal concentration (MFC) พบว่าสารสกัด 181 ชนิด มีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ทั้งหมด สกัดจากเชื้อราเอนโดไฟต์ 92 isolates โดยสารสกัดส่วนใหญ่ แสดงฤทธิ์ต้านเชื้อ Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* SK1 (MRSA-SK1) และ *S. aureus* ATCC25923 โดยราเอนโดไฟต์ *Xylariales* sp. (สายพันธุ์ MA34) สร้างสารต้านเชื้อ *S. aureus* ATCC25923 และ Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* SK1 (MRSA-SK1) ได้ดีที่สุด สารสกัดจากราเอนโดไฟต์สายพันธุ์ MA96 มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อ *M. gypseum* MU-SH4 ได้ดีที่สุด ราเอนโดไฟต์สายพันธุ์ MA12 และสายพันธุ์ MA194 สามารถต้านเชื้อ *C. neoformans* ATCC90112 ได้ดีที่สุด ราเอนโดไฟต์ *Pestalotiopsis* sp. (สายพันธุ์ MA99) และสายพันธุ์ MA194 สามารถต้านเชื้อ *C. albicans* ATCC90028 ได้ดีที่สุด ขณะที่ราเอนโดไฟต์สายพันธุ์ MA82 และสายพันธุ์ MA125 สามารถต้านเชื้อ *P. aeruginosa* ATCC27853 ได้

สุกัญญาณี (2552) รายงานการแพร่กระจายของราเอนโดไฟต์ในพืชป่าชายเลนจาก 3 แหล่งพื้นที่ของประเทศไทยได้แก่ อ่าวคุ้งกระเบน จังหวัดจันทบุรี วนอุทยานแห่งชาติปราณบุรี จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ และศูนย์ชีวมณฑล จังหวัดระนอง โดยแยกจากใบพืชป่าชายเลน 7 วงศ์ได้แก่ วงศ์โกกงาง (ต้นโกกงางใบใหญ่ ต้นโกกงางใบเล็ก และต้นโปรงขาว) วงศ์ลำพู (ต้นลำพูทะเล) วงศ์ฝาด (ต้นฝาดดอกขาว) วงศ์แสม (ต้นแสมขาว) วงศ์เหียงอกปลาหม้อ (ต้นเหียงอกปลาหม้อดอกม่วง) วงศ์ตะบูน (ต้นตะบูนขาว และต้นตะบูนดำ) และวงศ์โพ (ต้นโพทะเล) สามารถแยกราเอนโดไฟต์ได้ทั้งหมด 1,965 สายพันธุ์ พบว่ารา *Phyllosticta* sp. สามารถแยกได้ในพืชป่าชายเลนทุกชนิดที่เก็บจากจังหวัดจันทบุรี นอกจากนี้ยังพบจากใบของต้นโกกงางใบเล็ก และต้นโปรงขาวที่เก็บจากจังหวัดประจวบคีรีขันธ์ ส่วนในจังหวัดระนอง พบรา *Phyllosticta* sp. ในต้นเหียงอกปลาหม้อดอกม่วงและต้นตะบูนดำ ในขณะที่รา *Phoma* sp. สามารถแยกได้จากใบของต้นโพทะเล จังหวัดระนอง นอกจากนี้ยังพบรา *Cladosporium* sp. ในใบพืชต้นโกกงางใบเล็ก รา *Pestalotiopsis* sp. ในใบพืชต้นโกกงางใบใหญ่ และรา *Glomerella* sp. ในใบต้นตะบูนขาว ราเอนโดไฟต์ที่พบในใบพืชป่าชายเลนส่วนใหญ่ ได้แก่ รา *Cladosporium* sp., *Colletotrichum* sp., *Daldinia* sp., *Pestalotiopsis* sp., *Phomopsis* sp. และ *Xylaria* sp. รวมทั้งรายงานการทดสอบฤทธิ์สารสกัดจากรา *Phomopsis* sp. และ *Xylaria* sp. สามารถสร้างสารยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก (*Bacillus subtilis* ATCC 6633 และ *Staphylococcus aureus* ATCC 25923) แบคทีเรียแกรมลบ (*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 และ *Escherichia coli* ATCC 25922) และยีสต์ (*Saccharomyces cerevisiae* ATCC

5169 และ *Candida albicans* ATCC 10231) รวมทั้งรายงานประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากราเอนโดไฟท์ในการยับยั้งเซลล์มะเร็ง 5 ชนิด ได้แก่ เซลล์มะเร็งผิวหนัง เซลล์มะเร็งลำไส้ เซลล์มะเร็งกระเพาะอาหาร เซลล์มะเร็งตับ และเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว พบว่าสารสกัดจากราเอนโดไฟท์ 7 ชนิดสามารถยับยั้งเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว 40 เปอร์เซ็นต์ และสารสกัดของราเอนโดไฟท์ *Phomopsis* sp. (R 2) ที่แยกจากใบต้นเหียงอกปลาหมอสามารถสร้างสารยับยั้งอย่างจำเพาะกับเซลล์มะเร็งลำไส้ที่ 9.82 เปอร์เซ็นต์

วัชรินทร์ (2555) ศึกษาราเอนโดไฟท์จำนวน 4 ไอโซเลทที่แยกจากพืชป่าชายเลน และหญ้าทะเล โดยพบว่าราเอนโดไฟท์ *Acremonium* sp. PSU-MA70 ที่แยกได้จากกิ่งโกงกางใบเล็ก (*Rhizophora apiculata*) สร้างสาร (+)-brefeldin A และ 8-deoxytrichothecin ที่มีฤทธิ์ต่อต้านเชื้อรา *Candida albicans* และสาร trichodermol มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อรา *Cryptococcus neoformans* ในระดับปานกลาง นอกจากนี้สาร 2-chloro-5-methoxy-3-methylcyclohexa-2,5-diene-1,4-dione ที่แยกได้จากราเอนโดไฟท์ *Xylaria cubensis* PSU-MA34 ที่แยกจากกิ่งถั่วดำ (*Bruguiera parvifolia*) มีฤทธิ์ยับยั้งในระดับต่ำต่อเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* และ methicillin-resistant *S. aureus* สำหรับราเอนโดไฟท์ *Fusarium* sp. PSU-ES73 ที่แยกจากหญ้าทะเล (*Thalassia hemprichii*) สร้างสาร zearalenone ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus*, methicillin-resistant *S. aureus* และเชื้อรา *C. neoformans* ในระดับต่ำมาก

จิราภรณ์ และอภิรดี (2555) ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของราเอนโดไฟท์ TH121 ที่แยกได้จากใบโพทะเล พบว่าอยู่ใน Class Coelomycetes และศึกษาความเค็มของอาหารและชนิดของอาหาร ได้แก่ half PDB, potato dextrose broth ที่ลดสารอาหารลงครึ่งหนึ่ง (0.5xPDB), Sabouraud dextrose broth (SDB), yeast malt broth (YMB) และ low nutrient broth (LNB) ในการเลี้ยงรา TH121 เพื่อกระตุ้นให้สร้างสารออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของราสาเหตุโรคพืช *Alternaria brassicicola* มากที่สุด พบว่าเมื่อเลี้ยงรา TH121 ในอาหาร half PDB ที่เตรียมจากน้ำกลั่น เชื้อราสามารถสร้างสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งดีที่สุด โดยเมื่อนำสารสกัดปริมาตร 20 ไมโครลิตร ปริมาตร 100 มิลลิลิตร มาละลายในสารละลาย 50 % DMSO ปริมาตร 1 มิลลิลิตร มาทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญ *A. brassicicola* ด้วยวิธี disc diffusion พบบริเวณยับยั้งสูงสุด (Inhibition distance) 0.46 เซนติเมตร

2. ความหลากหลายของราเอนโดไฟท์ที่เจริญร่วมกับพืชป่าชายเลนในต่างประเทศ

Suryanarayanan *et al.* (1998) แยกราเอนโดไฟท์จากใบของพืชป่าชายเลนจำนวน 2 ชนิด ได้แก่ ต้นโกงกางใบใหญ่ (*Rhizophora mucronata*) และต้นโกงกางใบเล็ก (*Rhizophora apiculata*) ที่เก็บจากป่าชายเลน Pichavaram เมือง Tamil Nadu ภาคใต้ของประเทศไทย โดยเก็บตัวอย่างใบของพืชทั้ง 2 ชนิด ชนิดละ 300 ใบ ในสภาพอากาศที่แตกต่างกัน 2 ช่วง คือในช่วงที่มีอากาศแห้งแล้งและในช่วงฤดูฝน พบว่าราเอนโดไฟท์จะพบได้มากในช่วงฤดูฝนมากกว่าช่วงอากาศแห้งแล้ง และราเอนโดไฟท์ส่วนใหญ่ที่พบส่วนมากจะจัดอยู่ใน Class Hyphomycetes มากกว่า Class Ascomycetes และ Class Coelomycetes นอกจากนี้พบว่าราเอนโดไฟท์ *Sporormiella minima* และ *Acremonium* sp. พบได้มากในทุกช่วงของสภาพอากาศ

Suryanarayanan and Kumaresan (2000) รายงานราเอนโดไฟท์จากพืชป่าชายเลน 4 ชนิด ได้แก่ เหงือกปลาหมอดอกม่วง (*Acanthus ilicifolius*) *Arthrocnemum indicum* ชะคราม (*Suaeda maritime*) และผักเบี้ยทะเล (*Sesuvium portulacastrum*) ที่เก็บจากทางตอนใต้ของเมือง Tamil Nadu ของประเทศไทย สามารถจัดจำแนกราเอนโดไฟท์ตามลักษณะพื้นฐานวิทยา ได้ 4 กลุ่ม คือ 1) Ascomycetes ได้แก่รา *Guignardia* sp., *Sporormiella minima* และ Ascomycete, 2) Hyphomycetes ได้แก่รา *Acremonium* sp., *Alternaria* sp.1, *A. alternata*, *Ampullifera* sp., *Cladosporium* sp., *Fusarium* sp.1 และ *Fusarium* sp.2, 3) Coelomycetes ได้แก่รา *Camarosporium palliatum*, *C. propinquum*, *Colletotrichum* sp.1, *Colletotrichum* sp.2, *Phomopsis* sp.1, *Phomopsis* sp.2 และ *Phyllosticta* sp. และ 4) เป็นกลุ่ม Sterile mycelium

Kumaresan and Suryanarayanan (2001) ศึกษาการกระจายตัวของราเอนโดไฟท์ของพืชที่เจริญในป่าชายเลน Pichavaram เมือง Tamil Nadu ประเทศไทย โดยทำการเก็บตัวอย่างจากพืชป่าชายเลนจำนวน 7 ชนิดที่พบในบริเวณพื้นที่น้ำกร่อย ได้แก่ เล็บมือนาง (*Aegiceras corniculatum*) แสมทะเล (*Avicennia marina*) แสมดำ (*A. officinalis*) ถั่วขาว (*Bruguiera cylindrical*) โปรงขาว (*Ceriops decandra*) ตาคุ่มทะเล (*Excoecaria agallocha*) และฝาดดอกขาว (*Lumnitzera racemosa*) พบว่าราเอนโดไฟท์มีการแพร่กระจายในฝาดดอกขาว (*L. racemosa*) มากที่สุดและพบน้อยที่สุด ได้แก่ เล็บมือนาง (*A. corniculatum*) โดยเล็บมือนาง (*A. corniculatum*) พบราเอนโดไฟท์ Sterile mycelium MG 242 มากที่สุดคิดเป็น 37.1 เปอร์เซ็นต์ แสมทะเล (*A. marina*) พบราเอนโดไฟท์ *Phoma* sp. มากที่สุดคิดเป็น 47.1 เปอร์เซ็นต์ แสมดำ (*A. officinalis*) พบราเอนโดไฟท์ *Paecilomyces* sp. คิดเป็น 30.4 เปอร์เซ็นต์ ถั่วขาว (*B. cylindrical*) พบราเอนโดไฟท์ *Colletotrichum*

gloeosporioides คิดเป็น 88.8 เปอร์เซ็นต์ โปร่งขาว (*C. decandra*) พบราเอนโดไฟท์ Sterile mycelium MG 302 คิดเป็น 47.5 เปอร์เซ็นต์ ตาคุ่มทะเล (*E. agallocha*) และฝาดดอกขาว (*L. racemosa*) พบราเอนโดไฟท์ *Glomerella* sp. และ *Phyllosticta* sp. มากที่สุดคิดเป็น 24.6 และ 22.4 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

Ananada and Sridhar (2002) ศึกษาความหลากหลายของราเอนโดไฟท์ในรากพืชที่เก็บจากบริเวณชายฝั่งของ Udyavary เมือง Karnatake ทางตะวันตกของประเทศอินเดีย ได้แก่ ต้นเหงือกปลาหมอดอกม่วง (*Acanthus ilicifolius*) ต้นแสมดำ (*Avicennia officinalis*) ต้นโกงกางใบใหญ่ (*Rhizophora mucronata*) และต้นลำพู (*Sonneratia caseolaris*) โดยนำมาแยก ราเอนโดไฟท์โดยบ่มไว้ในอุณหภูมิห้องที่มีความชื้นปกติ และห้องที่มีความชื้นมากกว่าปกติ พบว่าที่เก็บในอุณหภูมิห้องที่มีความชื้นปกติจะพบราเอนโดไฟท์มากที่สุด โดยพบราเอนโดไฟท์จากรากของต้นโกงกางใบใหญ่ (*R. mucronata*) และจากรากของต้นแสมดำ (*A. officinalis*) ราที่พบอยู่ใน Class Hyphomycetes, *Mycocentrospora acerina* และในรากของโกงกางใบใหญ่ (*R. mucronata*) และลำพู (*S. caseolaris*) พบรา *Triscelophorus acuminatus* มากที่สุด

Shang *et al.* (2006) ศึกษาความหลากหลายของราเอนโดไฟท์จากต้นรังกะแท้ (*Kandelia candel*) และต้นฟังกาหัวส้มดอกแดง (*Bruguiera gymnorhiza*) ที่เก็บจากป่าชายเลน Fugong เมือง Fujian ประเทศจีน โดยเก็บในช่วงฤดูกาลที่แตกต่างกัน เริ่มตั้งแต่ช่วงเดือนธันวาคม ค.ศ. 2003 ถึงเดือนสิงหาคม ค.ศ. 2004 พบราเอนโดไฟท์ทั้งหมด 290 สายพันธุ์ ราที่พบแบ่งเป็น 2 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มที่สร้างสปอร์ จากได้แก่ รา *Penicillium* sp., *Alternaria* sp. และ *Dothiorella* sp. และกลุ่มที่ไม่สร้างสปอร์

Liu *et al.* (2007) แยกราเอนโดไฟท์จำนวน 200 สายพันธุ์จากพืชที่เก็บจากป่าชายเลน สามารถจัดจำแนกชนิด เป็น genera *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Colletotrichum*, *Fusarium*, *Paecilomyces*, *Penicillium*, *Pestalotiopsis*, *Phoma*, *Phomopsis*, *Phyllosticta* และ *Trichoderma* ซึ่งพบว่าราเอนโดไฟท์หลายชนิดมีพืชอาศัยกว้าง และมีราเอนโดไฟท์บางส่วนที่มีพืชอาศัยจำเพาะเจาะจงกับพืชแต่ละชนิด

Pang *et al.* (2008) ศึกษาราเอนโดไฟท์จากต้นและใบของต้นรังกะแท้ (*Kandelia candel*) วงศ์ Rhizophoraceae ที่เก็บจากเมือง Mai Po ส่องกง โดยทำการเก็บตัวอย่าง 2 ช่วง ได้แก่ ช่วงเดือนเมษายน และเดือนมิถุนายน สามารถแยกราเอนโดไฟท์จากส่วนของลำต้นจำนวน 880 สายพันธุ์

และจากส่วนของใบจำนวน 595 สายพันธุ์ ที่เก็บในช่วงเดือนเมษายน และพบราจากลำต้น 674 สายพันธุ์ และใบ 63 สายพันธุ์ ที่เก็บในช่วงเดือนมิถุนายน ซึ่งจากการแยกراثั้ง 2 ช่วง พบว่ามีรา 4 ชนิด ที่พบมากได้แก่ *Phomopsis* sp., *Pestalotiopsis* sp., *Guignardia* sp. และ *Xylaria* sp.

Nambiar and Raveendran (2009) แยกราเอนโดไฟท์ 26 genera จากต้นโกงกาง ที่เก็บจากบริเวณน้ำนิ่ง Kavvai-kunhimangalam เมือง Kerala บริเวณตอนใต้ของประเทศอินเดีย โดยจัดจำแนกออกได้ 3 Classes ได้แก่ 1) Ascomycetes 20 สายพันธุ์ได้แก่ *Aigialus grandis*, *A. chesapeakei*, *A. haispora*, *A. mangrovei*, *Aniptodera salsuginosa*, *Ascocratera manglicola*, *Biatrispora marina*, *Dactylospora haliotrepha*, *Halorosellinia oceanic*, *Halosarpheia marina*, *H. minuta*, *Leptosphaeria australiensis*, *Lignincola laevis*, *L. tropica*, *Lulworthia grandispora*, *Marinosphaera mangrovei*, *Panorbis viscosus*, *Savoryella paucispora*, *S. lignicola* และ *Verruculina enalia* 2) Basidiomycete 1 สายพันธุ์ได้แก่ *Halocyphina villosa* และ 3) mitosporic fungi 5 สายพันธุ์ได้แก่ *Cirrenalia pygmaea*, *Periconia prolific*, *Phoma* sp., *Trichocladium alopallonellum* และ *Zalerion varium*

Xing *et al.* (2011) ศึกษาความหลากหลายของราเอนโดไฟท์จากพืชป่าชายเลน 4 ชนิด ในวงศ์ Rhizophoraceae ที่เก็บจากบริเวณชายฝั่งทางตอนใต้ของประเทศจีน ได้แก่ ต้นโปรงแดง (*Ceriops tagal*) ต้นโกงกางใบเล็ก (*Rhizophora apiculata*) ต้นโกงกาง (*R. stylosa*) และต้นฟังกาหัวส้ม (*Bruguiera sexangula*) พบรา 295 สายพันธุ์ นำมาจัดจำแนกชนิดของราตามลักษณะทางสัณฐานวิทยาและทางระดับอนุชีวโมเลกุล สามารถจัดจำแนกได้ 38 ชนิด โดยพบรา *Pestalotiopsis* sp. และ *Phomopsis* sp. มากที่สุดในพืชทั้ง 4 ชนิด และพบว่าการครอบครองพื้นที่ของราเอนโดไฟท์จะพบในส่วนของลำต้นมากกว่าในส่วนของราก

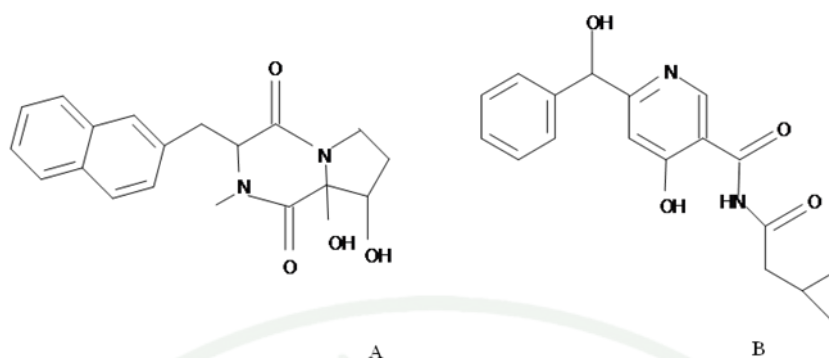
3. สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากราเอนโดไฟท์และประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อจุลินทรีย์สาเหตุโรคพืชและมนุษย์

Chen *et al.* (2003) ศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของราเอนโดไฟท์สายพันธุ์ 1893 ที่แยกจากต้นรังกะแพ้ว (*Kandelia candel*) ที่เก็บจากป่าชายเลน บริเวณทะเลจีนใต้ ประเทศจีน พบสารที่แสดงความเป็นพิษต่อ NCI4460 และ Bel-7402 สามารถยับยั้งหนอนเจาะสมอฝ้าย *Heliothis armigera* (Hühner) และ *Sinergasilus* spp. สารที่พบจากราเอนโดไฟท์สายพันธุ์นี้เป็นสารอนุพันธ์ของ lactones ได้แก่ 1893A และ 1893B ซึ่งประกอบด้วย 5(p - hydroxybenzyl) hydantoin, 2 cyclodipeptides, cyclo-(Ser-Leu) และ cyclo-(Phe-Gly)

Shang *et al.* (2006) ศึกษาฤทธิ์ของสารที่ได้จากราเอนโดไฟท์จำนวน 280 สายพันธุ์ ที่แยกจากต้นรังกะแพ้ว (*Kandelia candel*) และต้นพังกาหัวส้มดอกแดง (*Bruguiera gymnorrhiza*) โดยนำมาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ พบว่ามีจำนวน 40 สายพันธุ์มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ได้ และทำการคัดเลือกสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์จำนวน 17 สายพันธุ์ นำมาทดสอบกับเซลล์เนื้องอก พบว่ารา *Penicillium* sp., *Alternaria* sp. และ *Paecilomyces* sp. มีฤทธิ์ในการยับยั้งเซลล์เนื้องอก

Chen *et al.* (2007) ศึกษาสารทุติยภูมิจากราเอนโดไฟท์ *Penicillium thomi* ที่แยกจากรากของต้นพังกาหัวส้ม (*Bruguiera sexangula*) พบสารใหม่ 4',5-dihydroxy-2,3-dimethoxy-4-(hydroxypropyl)-biphenyl และสารประกอบอื่นๆ อีก 11 ชนิด ได้แก่ b-sitosterol, cholesterol, ergosta-7,22-diene-3b,5a,6b-triol, uracil, cyclo-(Ala-Gly), cyclo-(Pro-Gly), cyclo-(Ala-Pro), (^)-1-monopalmitin, succinic acid, N-(2-hydroxy-4-methoxyphenyl)acetamide และ dibutylphthalate พบว่าสารชนิดใหม่นี้มีฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็ง A549, HepG2 และ HT29 ได้

Chen *et al.* (2008) รายงานการพบสาร 3-benzylidene-8, 8a-dihydroxy-2-methyl-hexahydro-pyrrolo[1,2-a]pyrazine-1,4-dione และ 4-hydroxy-6-(hydroxy-phenylmethyl)-N-(3-methyl-butyl)-nicotinamide จากราเอนโดไฟท์สายพันธุ์ ZZF-22 ที่แยกจากต้นเหียงอกปลาหมอ ดอกม่วง (*Acanthus ilicifolius* Linn) เก็บจากป่าชายเลน ประเทศจีน (ภาพที่ 1)

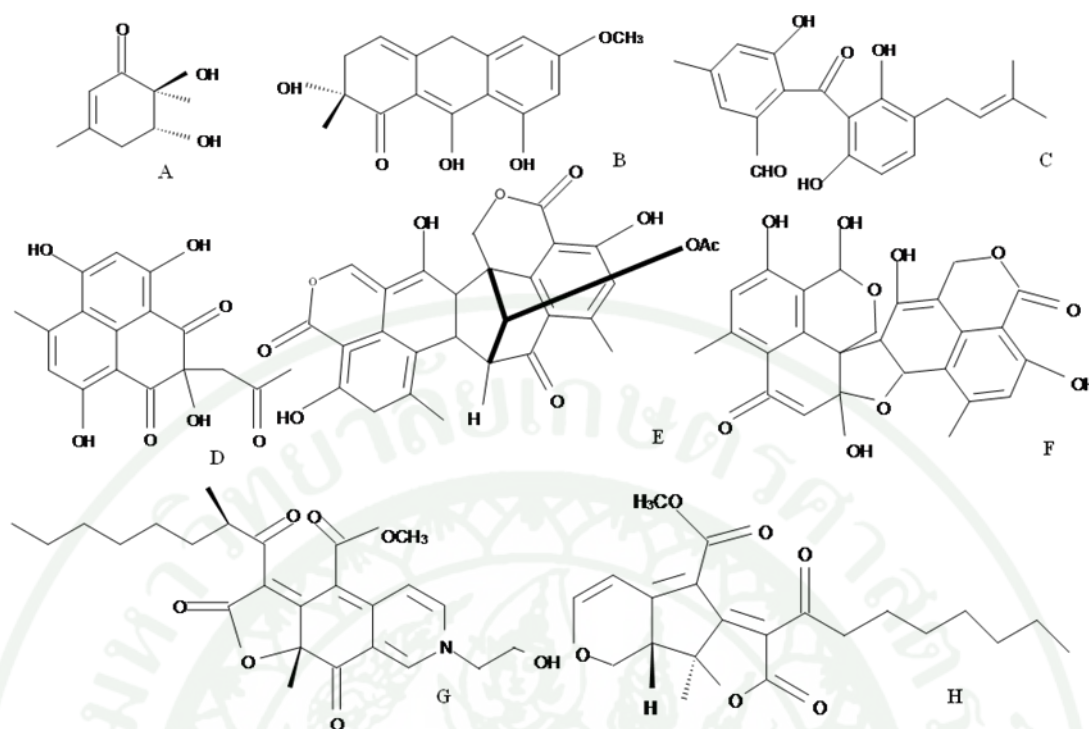


ภาพที่ 1 โครงสร้างทางเคมีของสาร 3-benzylidene-8,8a-dihydroxy-2-methyl-hexahydro-pyrrolo [1,2-a]pyrazine-1,4-dione (A) และ 4-hydroxy-6-(hydroxy-phenylmethyl)-N-(3-methyl-butyl)-nicotinamide (B)

Huang *et al.* (2008) ศึกษาประสิทธิภาพของสาร phomopsins A-C, cytosporone B และ C จากรา *Phomopsis* sp. ZSU-H76 ที่แยกได้จากต้นตาลคุ่มทะเล (*Excoecaria agallocha*) เก็บจากป่าชายเลน บริเวณ Dong Zai เมือง Hainan ประเทศจีน ในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืช และโรคมนุษย์ พบว่าสาร phomopsins A-C ไม่สามารถควบคุมการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช และโรคมนุษย์ได้ แต่สารประกอบ cytosporone B และ C สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Candida albicans* และ *Fusarium oxysporum* ได้ดี

Li *et al.* (2008) แยกสาร Sch54796, Sch54794, 4-hydroxybenzoic acid, urail, succinic acid และ vermopyrone จากรา *Penicillium* sp. สายพันธุ์ 2556 ที่แยกจากพืชป่าชายเลน พบว่าสาร Sch54796 และ Sch54794 มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็ง hep2 และ hepG2 ได้

Lin *et al.* (2008) รายงานสารใหม่ leposphaerone C, penicillenone, arugosin I และ 9-demethyl FR-901235 จากรา *Penicillium* sp. (JP-1) ที่แยกได้จากต้นเล็บมือนาง (*Aegiceras corniculatum*) รวมทั้งสารที่เคยรายงานมาก่อนได้แก่สาร bacillosporin A, bacillosporin C, sequoiamonascin D, sequoiatone A และ sequoiatone B นอกจากนี้ยังพบว่าสาร leposphaerone C มีความเป็นพิษต่อเซลล์ A-549 และสาร penicillenone มีฤทธิ์ในการยับยั้งเซลล์ P 388 (ภาพที่ 2)

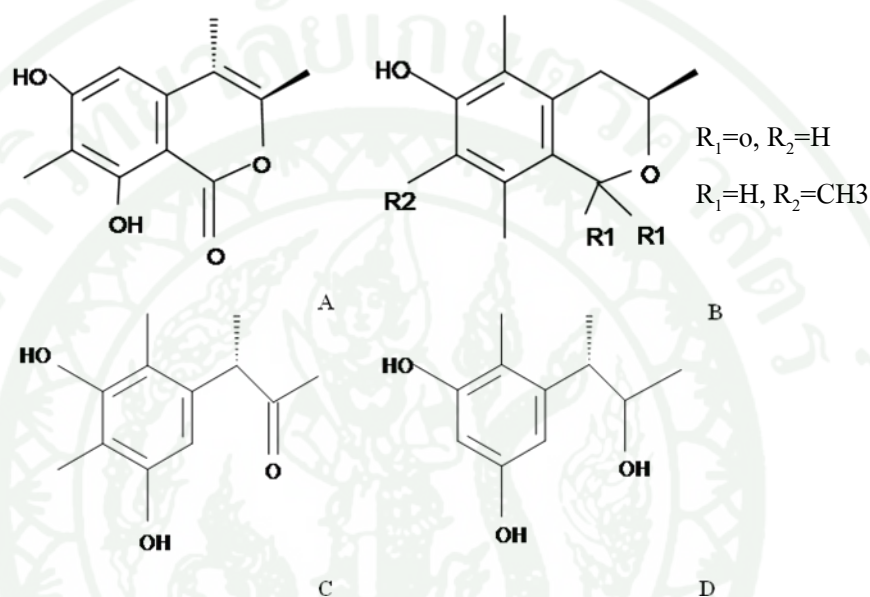


ภาพที่ 2 โครงสร้างทางเคมีของสาร leposphaerone C (A), penicillenone (B), arugosin I (C), 9-demethyl FR-901235 (D), bacillosporin A (E), bacillosporin C (F), Sequoiatone A (G) และ Sequoiatone B (H)

Tan *et al.* (2008) ศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของราเอนโดไฟท์สายพันธุ์ 2240 ที่แยกจากพืชป่าชายเลน เก็บจากป่าชายเลนทะเลจีนใต้ ประเทศจีน พบสาร (+)-3,3',7,7',8,8'-hexahydroxy-5,5'-dimethylbianthraquinone ซึ่งมีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ h Topo I ได้ 59.1 เปอร์เซ็นต์ ที่ความเข้มข้น 4.65 $\mu\text{mol/l}$

Guo *et al.* (2009) รายงานการที่พบสาร 7-hydroxyjanthinone, janthinone และ citrinin จากราเอนโดไฟท์ *Penicillium* sp. (SBE8) แยกจากพืชป่าชายเลน และพบว่าสาร 7-hydroxyjanthinone และ janthinone ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเซลล์มะเร็ง KB และ KBv ส่วนสาร janthinone มีฤทธิ์ในการยับยั้งเซลล์มะเร็งได้เล็กน้อย

Han *et al.* (2009) รายงานสาร (3*R**,4*S**)-6,8-dihydroxy-3,4,7-trimethylisocoumarin, (3*R*,4*S*)-6,8-dihydroxy-3,4,5-trimethylisocoumarin, (3*R*,4*S*)-6,8-dihydroxy-3,4,7-trimethylisocoumarin, (S)-3-(3',5'-dihydroxy-2',4'-methylphenyl) butan-2-one และ phenol จากราเอนโดไฟท์ *Penicillium* sp. สายพันธุ์ 091402 ที่แยกจากรากของต้นพังกาหัวส้มดอกขาว (*Bruguiera sexangula*) พบว่าสารจากราสายพันธุ์นี้ มีฤทธิ์ในการยับยั้งเซลล์มะเร็ง K562 และ SGC-7901 ได้ (ภาพที่ 3)



ภาพที่ 3 โครงสร้างทางเคมีของสาร (3*R**,4*S**)-6,8-dihydroxy-3,4,7-trimethylisocoumarin (A), (3*R*,4*S*)-6,8-dihydroxy-3,4,5-trimethylisocoumarin และ (3*R*,4*S*)-6,8-dihydroxy-3,4,7-trimethylisocoumarin (B), (S)-3-(3',5'-dihydroxy-2',4'-methylphenyl) butan-2-one (C) และ phenol A (D)

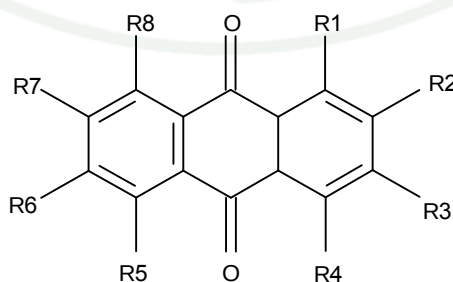
Shao *et al.* (2009) พบสารชนิดใหม่ในกลุ่ม benzaldehyde derivatives ได้แก่ 6-ethyl-2-hydroxy-4-methoxy-3-methylbenzaldehyd, 6-ethyl-2,4-dihydroxy-3-methylbenzaldehyde และ 2,4-dihydroxy-3,6-dimethylbenzaldehyde จากราเอนโดไฟท์สายพันธุ์ ZZF 32 ที่แยกจากพืชที่เจริญในพืชป่าชายเลนทางทะเลจีนใต้ประเทศจีน

Huang *et al.* (2010) รายงานการพบสาร 5-O-methyl-2'-methoxy-3'-methylalpinumisoflavone 6-methoxy-5,7,4'-trihydroxyisoflavone, 6-methoxy-7,4'-dihydroxyisoflavone , (+)-marmesin และ 4-methylbenzoic จากรา *Fusarium* sp. (ZZF41) ที่แยกได้

จากพืชป่าชายเลน และทดสอบประสิทธิภาพของสารในการยับยั้งเซลล์มะเร็ง พบว่าสาร 6-methoxy-5,7,4'-trihydroxyisoflavone มีประสิทธิภาพยับยั้งเซลล์มะเร็ง HEp-2 และ HepG2 โดยมีค่า IC_{50} ที่ 4 และ 11 $\mu\text{m/ml}$ ตามลำดับ

Xiaoling *et al.* (2010) ศึกษาการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ topoisomerase I ของราเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากพืชป่าชายเลนได้แก่ ต้นลำพู (*Sonneratia caseolaris*) ต้น Brine fern ต้นฟังกาหัวส้มดอกแดง (*Bruguiera gymnorhiza*) ต้นขลุ่ย (*Pluchea indica*) ต้นลำพู (*Sonneratia apetala*) ต้นรังกะแท้ (*Kandelia candel*) ต้นเล็บมือนาง (*Aegiceras corniculatum*) และต้นหงอนไก่ทะเล (*Heritiera littoralis*) ที่เก็บจากเกาะ Qi'ao เมือง จูไห่ ประเทศจีน นำราเอนโดไฟท์มาจัดจำแนกชนิดด้วยวิธีทางสัณฐานวิทยาและชีวโมเลกุล พบราเอนโดไฟท์ 54 สายพันธุ์ โดยพบราเอนโดไฟท์จากต้นลำพู 14 สายพันธุ์ ต้น *B. fern* 6 สายพันธุ์ ต้นขลุ่ย 2 สายพันธุ์ ต้นฟังกาหัวส้มดอกแดง 8 สายพันธุ์ ต้นลำพู 2 สายพันธุ์ ต้นรังกะแท้ 4 สายพันธุ์ ต้นเล็บมือนาง 12 สายพันธุ์ และ ต้นหงอนไก่ทะเล 6 สายพันธุ์ จากนั้นนำสารสกัดหยาบจากราทั้ง 54 สายพันธุ์ มาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งเซลล์มะเร็ง พบว่าสารสกัดหยาบ 19 สายพันธุ์ มีฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็ง KB และ KBv200 ซึ่งสารสกัดหยาบ 16 สายพันธุ์ มีฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็ง KB ได้ดี และพบว่าราเอนโดไฟท์ 9 สายพันธุ์ สร้างสาร topoisomerase I ที่ยับยั้งเซลล์มะเร็ง KBv200 ได้ สามารถจัดจำแนกได้ 7 ชนิด ได้แก่ *Curvularia* sp., *Fusarium* sp., *Cladosporium* sp., *Alternaria* sp., *Gloeosporium* sp., *Diaporthe* sp. และ *Talaromyces* sp.

Zhang *et al.* (2010) แยกสารอนุพันธ์ของ anthracenedione จากรา *Halorosellinia* sp. (No. 1403) และ *Guignardia* sp. (No. 4382) ซึ่งเป็นราเอนโดไฟท์ที่แยกจากพืชป่าชายเลน พบว่าสารประกอบที่ 6 มีฤทธิ์ในการยับยั้งเซลล์มะเร็ง KB และ KBv200 มีค่า IC_{50} ที่ 3.17 และ 3.21 ตามลำดับ (ภาพที่ 4)



ภาพที่ 4 โครงสร้าง และ cytotoxicity ค่า IC_{50} สารประกอบ 1-14 ชนิด

Buatong *et al.* (2011) ศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากราเอนโดไฟท์ที่แยกจากพืชป่าชายเลนจำนวน 12 ชนิด ได้แก่ เล็บมือนาง (*Aegiceras corniculatum*) แสมขาว (*Avicennia alba*) แสมดำ (*Avicennia officinalis*) พังกาหัวสุมดอกแดง (*Bruguiera gymnorrhiza*) ถั่วดำ (*Bruguiera parviflora*) ฝาดดอกแดง (*Lumnitzera littorea*) โกงกางใบเล็ก (*Rhizophora apiculata*) โกงกางใบใหญ่ (*Rhizophora mucronata*) ลำพู (*Sonneratia caseolaris*) สี่ง่า (*Scyphiphora hydrophyllacea*) ตะบูนขาว (*Xylocarpus granatum*) และตะบูนดำ (*Xylocarpus moluccensis*) โดยทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากราเอนโดไฟท์ 150 สายพันธุ์ ในการยับยั้งเชื้อราและเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคของมนุษย์ได้แก่ *Staphylococcus aureus* ATCC25923, *S. aureus* MRSA SK1, *Escherichia coli* ATCC25922 และ *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853 ด้วยวิธีการ colorimetric microdilution method พบว่ารา 92 สายพันธุ์มีฤทธิ์ในการยับยั้ง *S. aureus* นอกจากนี้ นำสารสกัดหยาบของราเอนโดไฟท์ 6 ชนิด ได้แก่ รา *Acremonium* sp., *Diaporthe* sp., *Hypoxylon* sp., *Pestalotiopsis* sp., *Phomopsis* sp. และ *Xylaria* sp. มาทดสอบกับแบคทีเรียแกรมบวก ยีสต์และ *Microsporum sypseum* พบว่าสารสกัดจากรา *Phomopsis* sp. MA 194 (GU592007, GU592018) ที่แยกจากต้นโกงกางใบเล็กมีฤทธิ์ในการยับยั้งที่ความเข้มข้นต่ำสุด ($8-32 \mu\text{g ml}^{-1}$)

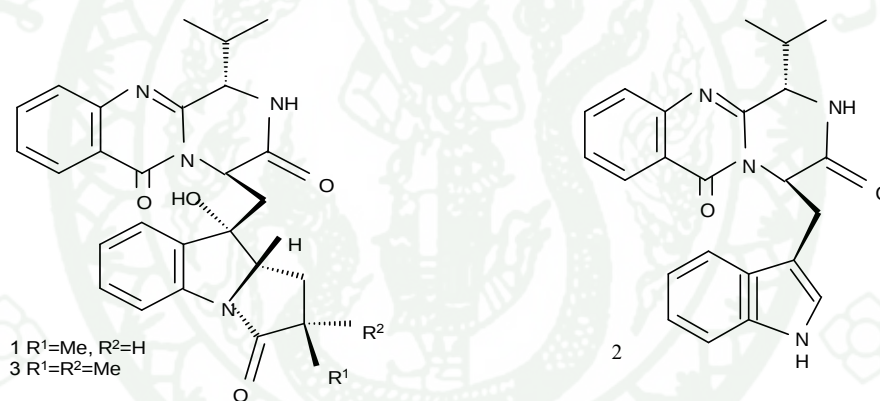
Huang *et al.* (2011a) รายงานสาร 5-hydroxy-7-methoxy-4'-O-(3-methylbut-2-enyl), eriodictyol, vittarin-B, 3,6,7-trihydroxy-1-methoxyxanthone, 1,3,6-Trihydroxy-8-methylxanthone และ cyclo (Phe-Tyr) จากรา *Fusarium* sp. (ZZF60) ที่แยกได้จากพืชป่าชายเลน บริเวณทะเลจีนใต้ ประเทศจีน

Huang *et al.* (2011b) รายงานสาร furanocoumarin ชนิดใหม่ได้แก่ 5-methyl-8-(3-methylbut-2-enyl) furanocoumarin และสารอื่นๆ อีก 7 ชนิด ได้แก่ sterequinone C, cyclo(6,7-en-Pro-L-Phe), bergapten, scopoletin, umbelliferone, 1,7-dihydroxyxanthone และ 3,5-dimethoxybiphenyl จากรา *Penicillium* sp. (ZH16) ที่แยกจากพืชป่าชายเลนทางทะเลจีนใต้ ประเทศจีน โดยพบว่าสาร sterequinone C มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเซลล์ KB และ KBv200 ในห้องปฏิบัติการโดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 5 และ $10 \mu\text{g/mL}^{-1}$ ตามลำดับ

4. สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากรา Genus *Neosartorya*

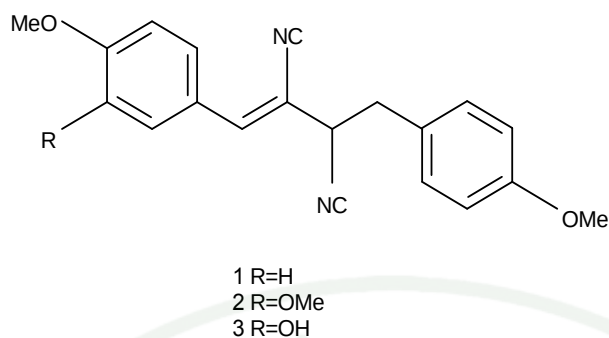
Neosartorya sp. เป็นระยะสืบพันธุ์แบบใช้เพศ (teleomorphic state) ของรา *Aspergillus* ใน Section *Fumigati* รา *Neosartorya* มีความสำคัญต่อมนุษย์และสัตว์ มีรายงานว่า *Neosartorya quadricincta* สร้างสาร dihydroisocoumarin ซึ่งพืชต่อระบบประสาทส่วนหัวของแมลงวันบ้านซึ่งสามารถนำไปพัฒนาเป็นยาฆ่าแมลงในอนาคตได้ (Ozoe *et al.*, 2004)

Wong *et al.* (1992) แยกรา *N. fischeri* (SC4) จากบริเวณรากพืช ไกล่ไม้ตก Chi ประเทศไต้หวัน และพบสารชนิดใหม่จาก *N. fischeri* (SC4) ในกลุ่ม quinazalone indole alkaloids ได้แก่ fiscalins A-C (ภาพที่ 5) ซึ่งสามารถยับยั้ง radiolabeled substance P (SP) ligand และ neurokinin (NK-1) ในมนุษย์ ค่า K_i คือ 57,174 และ 68 μM ตามลำดับ



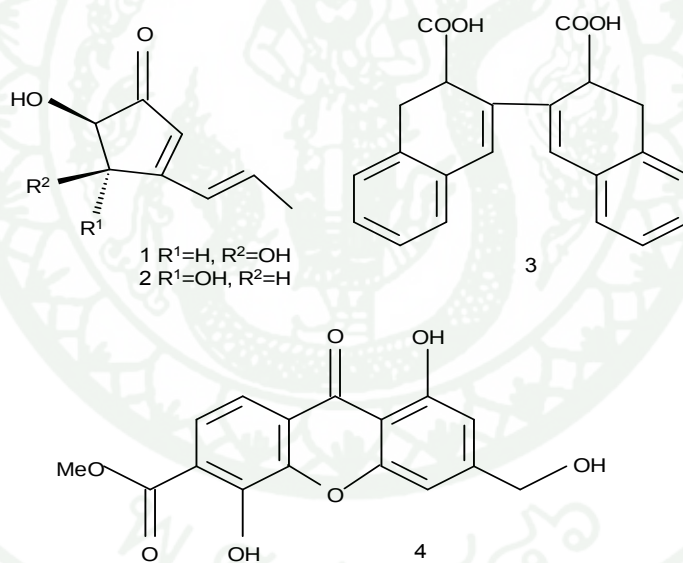
ภาพที่ 5 โครงสร้างทางเคมีของสาร quinazalone indole (1), alkaloid (2) และ fiscalin (3)

Morino *et al.* (1994) รายงานสาร 3 ชนิด NK372135 A-C (ภาพที่ 6) ที่แยกจาก *N. fischeri* var. *glabra* สายพันธุ์ IF09857 ซึ่งสารทั้ง 3 ชนิด สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Candida albicans* มีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.27 $\mu\text{g/ml}$



ภาพที่ 6 โครงสร้างทางเคมีของสาร NK372135 A-C (1-3)

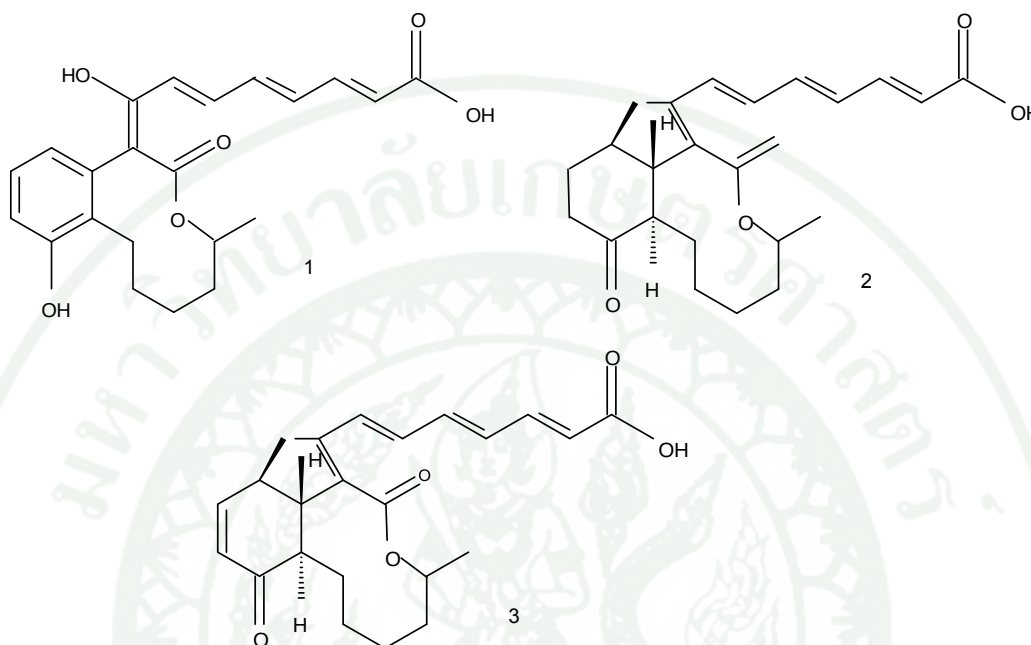
Tan *et al.* (2012) รายงานการพบสารใหม่ 2 ชนิด ได้แก่ isoterrein และ terrain จากเชื้อรา *N. fischeri* สายพันธุ์ IFM52672 (Wakana *et al.*, 2006) ในขณะที่ fischeacid และ fischexanthone (ภาพที่ 7) พบจากเชื้อรา *N. fischeri* สายพันธุ์ 1008F1



ภาพที่ 7 โครงสร้างทางเคมีของสาร cyclopentannone derivatives (1), isoterrein alkaloid (2), fischeacid (3) และ fischexanthone (4)

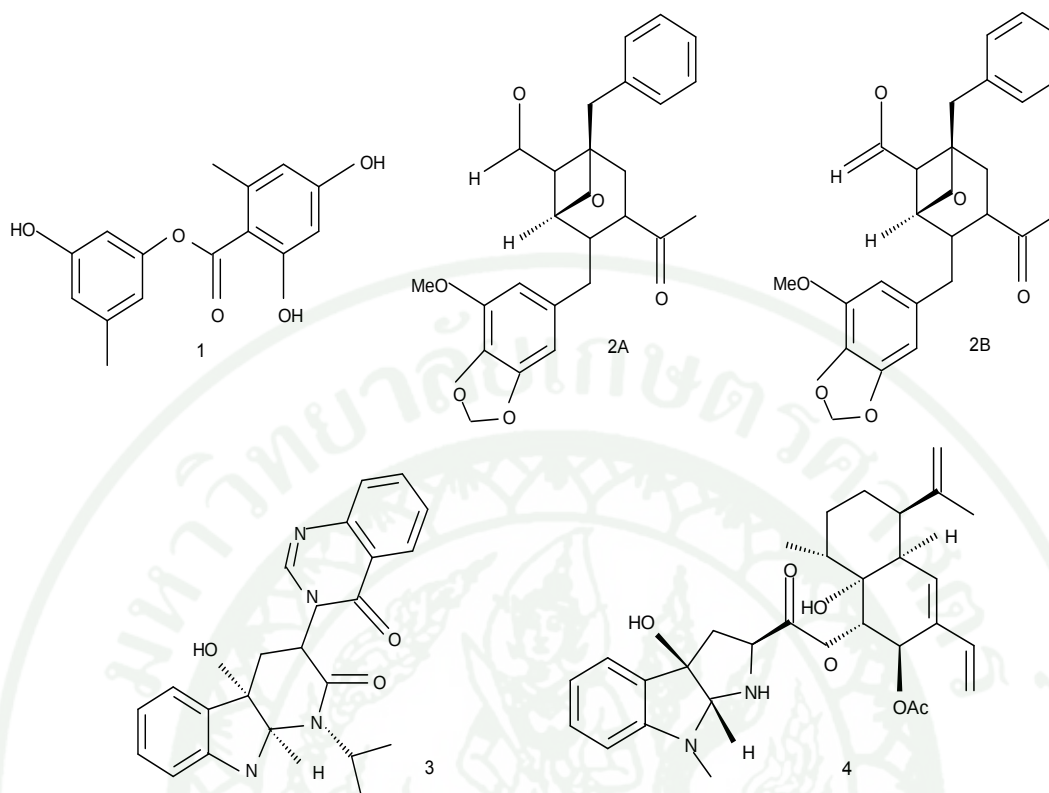
Jayasuriya *et al.* (2009) รายงานการพบสาร bicyclic lactones ชนิดใหม่ 3 ชนิด ได้แก่ glablamycins A-C (ภาพที่ 8) จากรา *N. glabra* สายพันธุ์ MF7030 และ F-155,700 ซึ่งพบว่าสาร glablamycins ทั้ง 3 ชนิดมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย ในขณะที่ glablamycin C

มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *Streptococcus aureus* ที่ค่า MIC 2 และ 16 $\mu\text{g/mL}$ ตามลำดับ นอกจากนี้ Kijjoa *et al.* (2011) รายงานสาร satoryglabrin A-C จากเชื้อรา *N. glabra* ที่แยกจากดินในประเทศไทย



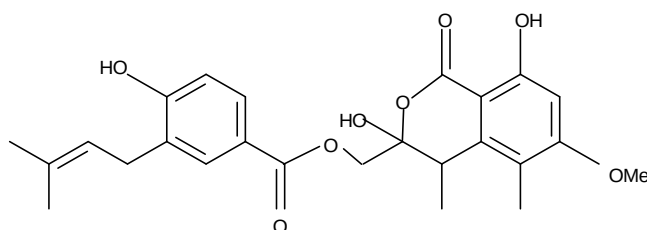
ภาพที่ 8 โครงสร้างทางเคมีของสาร glablamycin A (1), glablamycin B (2) และ glablamycin C (3)

Eamvijarn *et al.* (2012) รายงานสารทุติยภูมิจากรา *N. pseudofischeri* KUFC 6422 ที่แยกจากดิน ประเทศไทย ได้แก่ 3-hydroxy-5-methylphenyl 2,4-dihydroxy-6-methylbenzoate (1), 3,8-diacetyl-4-(3-methoxy-4,5-methylenedioxy)benzyl-7-phenyl-6-oxa-3,8-diazabicyclo [3.2.1] octane (2A และ 2B) และ quinazolinone-containing indole alkaloid pseudofischerine (ภาพที่ 9) ขณะที่รา *N. pseudofischeri* สายพันธุ์ (CBS 404.67) สามารถสร้างสาร pyrrolinolesesquiterpenoid คือ fischerindoline มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเซลล์มะเร็งได้ (Masi *et al.*, 2013)



ภาพที่ 9 โครงสร้างทางเคมีของสาร 3-hydroxy-5-methylphenyl 2,4-dihydroxy-6-methylbenzoate A (1), 3,8-diacetyl-4-(3-methoxy-4,5-methylenedioxy)benzyl-7-phenyl-6-oxa-3,8-diazabicyclo [3.2.1] octane (2A และ 2B), quinazolinone-containing indole alkaloid pseudofischerine (3) และ cytotoxic pyrrolinolesesquiterpenoid, named fischerindoline (4)

Ozoe *et al.* (2004) รายงานสารอนุพันธ์ชนิดใหม่ของ prenylated dihydrosocoumarin, PF1223 (ภาพที่ 10) จากเชื้อรา *N. quadricincta* ซึ่งมีฤทธิ์ยับยั้ง [H]ethynylbicycloorthobenzoate [H]EBOB insect GABA ที่ 22 μM ได้ 65 เปอร์เซ็นต์



ภาพที่ 10 โครงสร้างทางเคมีของสาร prenylated dihydrosocoumarin derivative, PF1223

Debbab *et al.* (2013) รวบรวมรายงานการพบสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและประสิทธิภาพของสารจากราเอนโดไฟท์ มีฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็งและเชื้อจุลินทรีย์ ช่วงระหว่างปี 2005-2013 (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 ประสิทธิภาพของสารจากราเอนโดไฟท์ที่แยกจากพืชป่าชายเลน

สารประกอบ	ชนิดของ ราเอนโดไฟท์	พืช	ฤทธิ์ของสาร	อ้างอิง
pullularins A และ verticillin D	<i>Bionectria ochroleuca</i>	<i>Sonneratia caseolaris</i>	cytotoxic	Ebrahim <i>et al.</i> 2012
talaperoxides B และ talaperoxides D	<i>Talaromyces flavus</i>	<i>S. apetala</i>	cytotoxic	Li <i>et al.</i> 2011
asperterpenoid A	<i>Aspergillus</i> sp.	south China sea	antibacterial	Huang <i>et al.</i> 2013
9- dehydroxyeurotinone	<i>Eurotium rubrum</i>	<i>Hibiscus tiliaceus</i>	antimicrobial	Yan <i>et al.</i> 2012
2,3-didehydro-19a- hydroxy-14- epicochlioquinone B, griseophenone C, Tetrahydrobostrycin, 4-deoxy analog และ 3,6,8-trihydroxy-1- methylxanthone	<i>Nigrospora</i> sp.	<i>Pongamia pinnata</i>	cytotoxic and antibacterial	Shang <i>et al.</i> 2012
tremulenolide A	<i>Flavodon flavus</i>	<i>Rhizophora apiculata</i>	antibacterial	Klaiklay <i>et al.</i> 2012c
(+)-brefeldin A, 8- deoxytrichothecin และ trichodermol	<i>Acremonium sp.</i>	<i>R. apiculata</i>	antifungal	Rukachaisirikul <i>et al.</i> 2012

ตารางที่ 1 (ต่อ)

สารประกอบ	ชนิดของ ราเอนโคไฟท์	พืช	ฤทธิ์ของสาร	อ้างอิง
2-chloro-5-methoxy- 3-methylcyclohexa- 2,5- diene-1,4-dione และ cytochalasin D cytosporone B และ C	<i>Xylaria</i> <i>cubensis</i> <i>Phomopsis</i> sp.	<i>Bruguiera</i> <i>parviflora</i> <i>Excoecaria</i> <i>agallocha</i>	cytotoxic and antibacterial antifungal	Klaiklay <i>et al.</i> 2012d Huang <i>et al.</i> 2008
dimethyl-8- methoxy-9-oxo-9H- xanthene-1,6- dicarboxylate Phomopsanthraquino ne	<i>Penicillium</i> sp. <i>Guignardia</i> sp.	<i>Acanthus</i> <i>ilicifolius</i> <i>R. apiculata</i>	antifungal antibacterial	Shao <i>et al.</i> 2008 Klaiklay <i>et al.</i> 2012a
Guignardones I และ guignardone B	<i>Guignardia</i> sp.	<i>Scyphiphora</i> <i>hydrophyllacea</i>	antibacterial	Mei <i>et al.</i> 2012
R-3-hydroxy undecanoic acid methylester-3-O- α - L-rhamnopyranoside	<i>Guignardia</i> sp.	<i>S. hydrophyllacea</i>	antibacterial	Zeng <i>et al.</i> 2012
aspergillumarins A และ B	<i>Aspergillus</i> sp.	<i>Bruguiera</i> <i>gymnorhiza</i>	antibacterial	Li <i>et al.</i> 2012
pestalotethers A-B, pestalolide, pestheic acid, chloroisosulochrin dehydrate และ chloroisosulochrin	<i>Pestalotiopsis</i> sp.	<i>R. apiculata</i>	antifungal	Klaiklay <i>et al.</i> 2012b

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์สำหรับเก็บตัวอย่างพืช

- 1.1 กรรไกรตัดกิ่ง
- 1.2 มีดตัดตัวอย่าง
- 1.3 ปากกาเขียนพลาสติก
- 1.4 ถุงพลาสติก และถุงกระดาษสำหรับเก็บตัวอย่าง
- 1.5 ถุงมือ
- 1.6 กล้องถ่ายรูป
- 1.7 สมุดบันทึกรายละเอียดการเก็บตัวอย่าง

2. อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ

- 2.1 ปากกาเขียนแก้ว (permanent marker)
- 2.2 ปากคืบ
- 2.3 เข็มเย็บ
- 2.4 จานเลี้ยงเชื้อ (petridish)
- 2.5 หลอดทดลอง
- 2.6 บีกเกอร์
- 2.7 ช้อนตักสารขนาดเล็ก (microspatula)
- 2.8 หลอด capillary tube
- 2.9 ขวดปากเกลียว
- 2.10 แผ่นกระจก TLC
- 2.11 โหลแก้วขนาด 2000 มิลลิลิตร
- 2.12 ขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร
- 2.13 แท่งกัม
- 2.14 อะลูมิเนียมฟอยล์
- 2.15 ถุงพลาสติก
- 2.16 slide และ coverslip
- 2.17 สำลี

- 2.18 silica gel
- 2.19 ตู้เย็น
- 2.20 อาหารวุ้น
- 2.21 เครื่อง water bath
- 2.22 เครื่องชั่งน้ำหนัก
- 2.23 ตู้อบความร้อนแห้ง
- 2.24 หม้อนึ่งความดัน (autoclave)
- 2.25 ตะเกียงแอลกอฮอล์
- 2.26 เทปซิลแอลกอฮอล์ความเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ และ 95 เปอร์เซ็นต์
- 2.27 น้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อ
- 2.28 Lactophenol
- 2.29 แอลกอฮอล์ความเข้มข้น 40 เปอร์เซ็นต์
- 2.30 กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo
- 2.31 กล้องจุลทรรศน์แบบ compound
- 2.32 กล้องจุลทรรศน์ติดกล้องถ่ายรูป
- 2.33 กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron Microscope)
- 2.34 เครื่องระเหย Rotary Vacuum Evaporatory

3. อาหารเลี้ยงเชื้อ

- 3.1 Glucose Peptone Yeast extract (GPY)
- 3.2 Gause I (GI)
- 3.3 Half Potato Dextrose Agra (1/2 PDA)
- 3.4 Malt Extract Agar (MEA)
- 3.5. Potato Dextrose Broth (PDB)

4. สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

- 4.1. Methanol
- 4.2. Ethyl acetate
- 4.3. Chloroform
- 4.4. Petroleum ether

วิธีการ

1. การเก็บตัวอย่าง และการแยกราเอนโดไฟท์จากพืชป่าชายเลน

เก็บตัวอย่างพืชป่าชายเลนจำนวน 40 ชนิด (ตารางที่ 1) ณ บริเวณอ่าวคุ้งกระเบน จังหวัดจันทบุรี โดยเก็บตัวอย่างจากส่วนต่างๆ ของพืชได้แก่ กิ่ง ก้าน และใบ ที่มีลักษณะสมบูรณ์ไม่ปรากฏลักษณะอาการของโรค จากนั้นนำมาแยกด้วยวิธี tissue transplanting โดยนำตัวอย่างพืชมาล้างให้สะอาดด้วยน้ำเปล่า และแอลกอฮอล์ความเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์ ตัดเนื้อเยื่อจากส่วนต่างๆ ของพืชให้มีขนาดประมาณ 0.5 x 0.5 เซนติเมตร วางในอาหาร 4 ชนิด ดังนี้ 1. Glucose Peptone Yeast extract, 2. Gause I, 3. Half PDA และ 4. Malt agar โดยอาหารแต่ละชนิดจะผสม streptomycin เพื่อป้องกันการปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรีย วางชิ้นตัวอย่างพืช 5 จุด บนอาหารเลี้ยงเชื้อแต่ละชนิด อย่างละ 3 ซ้ำ นำไปบ่มไว้นาน 3-7 วัน ที่อุณหภูมิห้อง จนกระทั่งเส้นใยของเชื้อราเจริญออกมาจากชิ้นตัวอย่าง จึงใช้เข็มเย็บตัดปลายของเส้นใยไปวางไว้ในหลอดอาหาร PDA เพื่อใช้ในการทดสอบและจัดจำแนกชนิดของราเอนโดไฟท์ นำราเอนโดไฟท์ไปจัดจำแนกโดยใช้ลักษณะสัณฐานวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ เปรียบเทียบกับเอกสารอ้างอิงที่เคยมีรายงานมาก่อน

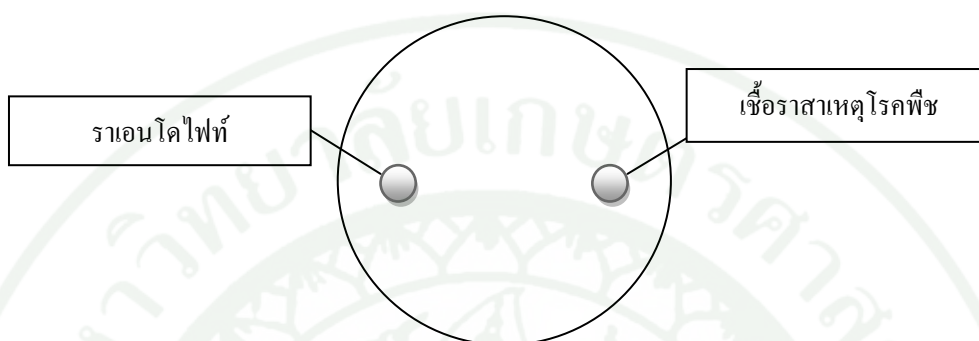
2. การทดสอบประสิทธิภาพของราเอนโดไฟท์ที่เจริญร่วมกับเชื้อราสาเหตุโรคพืช 10 ชนิด โดยวิธี dual culture

นำราเอนโดไฟท์ที่แยกจากพืชป่าชายเลน ณ บริเวณอ่าวคุ้งกระเบน จังหวัดจันทบุรีจำนวน 20 ชนิดมาเลี้ยงบนจานอาหาร PDA บ่มไว้เป็นเวลานาน 7 วัน หลังจากนั้นใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร เจาะบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีเส้นใยของราเจริญอยู่ นำไปวางบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA โดยวางให้ห่างจากขอบ 1 เซนติเมตร จากนั้นใช้ cork borer ขนาดเดียวกันเจาะเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคพืชที่เจริญบนอาหาร PDA โดยนำมาวางตรงข้ามกับราเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากพืชป่าชายเลน (ภาพที่ 11) บ่มไว้ในที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7 วัน ทำการทดสอบกับเชื้อราสาเหตุโรคพืช 10 ชนิด (ตารางที่ 2) อย่างละ 3 ซ้ำ ทำการประเมินผลเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช โดยเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่วางเฉพาะเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคพืชคัดเลือกรายที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคพืชที่ดีที่สุด เพื่อนำไปสกัดสารทุติยภูมิต่อไป

$$\% \text{ การยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช} = \frac{A-B}{A} \times 100$$

A = เส้นผ่าศูนย์กลางของโคโลนีของเชื้อราสาเหตุโรคพืช (control)

B = เส้นผ่าศูนย์กลางของโคโลนีของเชื้อราสาเหตุโรคพืชที่เจริญบนอาหาร PDA



ภาพที่ 11 วิธีการทดสอบประสิทธิภาพของราเอนโดไฟท์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืชโดยวิธี dual culture บนอาหาร PDA

ตารางที่ 2 เชื้อราสาเหตุโรคพืชที่ใช้ในการทดสอบ

ลำดับ	เชื้อราสาเหตุโรคพืช	สาเหตุโรคพืช
1	<i>Colletotrichum capsici</i>	โรคแอนแทรคโนสของพริก
2	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	โรคแอนแทรคโนสของมะม่วง
3	<i>Lasiodiplodia theobromae</i>	โรคผลเน่ามังคุด
4	<i>Sclerotium rolfsii</i>	โรคเน่าคอดินของถั่วเขียว
5	<i>Rhizoctonia solani</i>	โรคกาบใบแห้งในข้าว
6	<i>Phytophthora palmivora</i>	โรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียน

ตารางที่ 2 (ต่อ)

ลำดับ	เชื้อราสาเหตุโรคพืช	สาเหตุโรคพืช
7	<i>Pythium aphanidermatum</i>	โรคกล้าเน่าของแตงกวา
8	<i>Fusarium oxysporum</i>	โรคเหี่ยวของมะเขือเทศ
9	<i>Helminthosporium maydis</i>	โรคใบไหม้ของข้าวโพด
10	<i>Alternaria solani</i>	โรคใบไหม้ของมะเขือเทศ

3. การสกัดสารทุติยภูมิจากราเอนโดไฟท์ที่เจริญร่วมกับพืชป่าชายเลน และการทดสอบประสิทธิภาพสารสกัดหยาบจากราเอนโดไฟท์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืชด้วยวิธี Dilution Plate

นำราเอนโดไฟท์ที่เจริญร่วมกับพืชป่าชายเลน 5 ชนิด ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืชที่ดีที่สุดจากการทดสอบในข้อ 2 มาเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เมื่อราเจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ จึงนำมาเพิ่มปริมาณในอาหารเหลว PDB ปริมาตร 250 มิลลิลิตร บรรจุในขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer flask) ขนาด 500 มิลลิลิตร บ่มไว้บนเครื่องเขย่า (rotary shaker) ที่ความเร็วรอบ 120 rpm อุณหภูมิห้อง เป็นเวลานาน 7 วัน เทใส่ในขวดสุกบรรจุในถุงปริมาณ 200 กรัม ที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว บ่มทิ้งไว้เป็นเวลา 30 วัน นำข้าวที่มีราเจริญมาใส่ในโหลขนาดลิตร สกัดสารจากราด้วย ethyl acetate ทิ้งไว้ 7 วัน แล้วเทแยกส่วนของ ethyl acetate ใส่ในขวดรูปชมพู่ กรองด้วยตะแกรงกรอง นำสารสกัดที่ได้ไประเหยเอา ethyl acetate ออกด้วยเครื่อง rotary vacuum evaporator จนได้สารสกัดหยาบ (crude extract)

ชั่งสารสกัดหยาบของราที่เจริญร่วมกับพืชป่าชายเลน จำนวน 1 กรัม ละลายในน้ำนิ่งฆ่าเชื้อ 10 มิลลิลิตร จะได้สารที่มีความเข้มข้น 100,000 ppm จากนั้นนำไปเจือจางด้วยน้ำให้ได้ความเข้มข้น 10,000 1,000 100 และ 10 ppm นำสารสกัดแต่ละความเข้มข้น จำนวน 1 มิลลิลิตร ผสมในหลอดอาหารที่บรรจุอาหาร PDA ที่หลอมเหลว 9 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง vortex แล้วเทใส่ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร ทำความเข้มข้นอย่างละ 3 ซ้ำ จากนั้นใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร เจาะเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคพืชที่ต้องการทดสอบวางกลางจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมด้วยสารสกัดจากราที่เจริญร่วมกับพืชป่าชายเลน บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3-7 วัน

บันทึกผลการทดลองโดยการวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของโคโลนีเชื้อราสาเหตุโรคพืชที่เจริญบนอาหาร PDA ที่ผสมกับสารสกัดหยาบจากราเอนโดไฟท์ เปรียบเทียบกับชุดควบคุม (control) คำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคพืช โดยใช้สูตร

$$\% \text{ การยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช} = \frac{A-B}{A} \times 100$$

A = เส้นผ่าศูนย์กลางของโคโลนีของเชื้อราสาเหตุโรคพืช (control)

B = เส้นผ่าศูนย์กลางของโคโลนีของเชื้อราสาเหตุโรคพืชที่เจริญบนอาหาร PDA ที่ผสมสารสกัดหยาบของเชื้อราเอนโดไฟท์

4. การแยกสารจากเชื้อราให้บริสุทธิ์

4.1 การแยกสารด้วยวิธี column chromatography

นำสารสกัดหยาบที่ได้มาบดกับ silica gel ในอัตราส่วนน้ำหนัก 1:1 บดให้สารสกัดเกาะกับ silica gel จนแห้งเป็นผงเนื้อเดียวกัน จากนั้นทำการเตรียมคอลัมน์ตามขั้นตอนดังนี้

4.1.1 นำเอาสำลีมารดปลายคอลัมน์ จากนั้นทำการเททรายละเอียดลงบนสำลีนานาประมาณ 1 เซนติเมตร ทำหน้าทรายให้เรียบ

4.1.2 เทตัวทำละลายเริ่มต้น (petroleum ether : chloroform = 50 : 50) ให้ท่วมทรายที่เทลงไปเปิดก๊อกให้ระบบตัวละลายไหลผ่าน เพื่อไล่ฟองอากาศออก

4.1.3 ผสมตัวละลาย (petroleum ether : chloroform = 50 : 50) กับ silica gel ทำการผสมในบีกเกอร์ โดยจะใช้ในอัตราส่วนของ silica gel : crude extract = 5 : 1 คนเพื่อทำการไล่ฟองอากาศออกให้หมด จากนั้นทำการค่อยๆ เทลงไปคอลัมน์ เปิดก๊อกให้ระบบตัวละลายไหลผ่าน เพื่อไล่อากาศออกจาก silica gel ให้หมด เมื่อเตรียมคอลัมน์เรียบร้อยแล้วเปิดก๊อกให้ระบบตัวละลายอยู่เหนือ silica gel 1 เซนติเมตร เทสารสกัดหยาบที่บดกับ silica gel เรียบร้อยแล้วลงไป

4.1.4 เติมตัวละลาย (petroleum ether : chloroform = 50 : 50) ให้ท่วมสำลี เพื่อหลีกเลี่ยงมิให้ silica gel ถูกรบกวน ในขณะที่เติมตัวละลายลงไปยังคอลัมน์

4.1.5 เปิดก๊อกให้ระบบตัวทำละลายไหลผ่านตัวอย่างค่อยๆ เติมตัวทำละลายให้ท่วมระดับบนของ silica gel อยู่เสมอ เก็บสารละลายที่แยกออกมาจากคอลัมน์เป็นส่วนๆ (fraction) ในปริมาตรที่กำหนดต่อ fraction ในภาชนะที่เหมาะสม

4.1.6 นำสารแต่ละ fraction ที่เก็บได้มาระเหยเอาตัวทำละลายออกด้วยเครื่อง rotary vacuum evaporator เก็บสารที่ได้ในขวดแก้วขนาดเล็กติดฉลาก ระบุลำดับของ fraction ชื่อของตัวอย่างและน้ำหนักขวดเปล่า ปิดปากขวดด้วยกระดาษอลูมิเนียม ทิ้งไว้ให้แห้งในตู้ดูดควัน เมื่อสารที่ได้แห้งสนิทจึง นำมาชั่งหาปริมาณสารที่ได้ในแต่ละ fraction

4.2 การแยกสารด้วย thin layer chromatography (TLC) นำสารที่ได้ในแต่ละ fraction มาละลายด้วยตัวทำละลายเล็กน้อย ใช้ capillary tube จุดสารละลายแต่ละ fraction มาจุด (spot) ลงบนแผ่น TLC โดยจุดห่างจากขอบอย่างน้อย 1 เซนติเมตร แต่ละจุดของ fraction ห่างกันอย่างน้อย 1 เซนติเมตร นำแผ่น TLC ที่จุดสารตัวอย่างไปใส่ในอ่างในแท็งก์ที่อ้อมตัวด้วยเฟสเคลื่อนที่หรือระบบตัวทำละลายที่เหมาะสม บนแผ่น TLC สามารถนำมาคำนวณหาค่าทาดเคชั่นแฟคเตอร์หรือรีเทนิคแฟคชันหรือ Rf (Retardation factor or Relation front) ซึ่งจะมีค่าคงที่ทุกครั้ง โดยคำนวณจากระยะทางของสารที่เคลื่อนที่กับระยะทาง ที่ตัวละลายเคลื่อนที่ ตามสูตรดังนี้

$$R_f = \frac{\text{ระยะทางของสารที่เคลื่อนที่}}{\text{ระยะทางที่ตัวละลายเคลื่อนที่}}$$

4.3 การแยกสารให้บริสุทธิ์ด้วย preparative thin layer chromatography

การทำ preparative thin layer chromatography นั้นมีกระบวนการทำเหมือนวิธีการทำ TLC แต่จุดประสงค์หลักในการทำแผ่น preparative thin layer chromatography คือ การแยกสารให้บริสุทธิ์โดยการจุดสารตั้งต้นให้ติดต่อกันเป็นแถบโดยใช้ capillary tube แล้วจึงนำไปใส่ในอ่างในแท็งก์ที่อ้อมตัวด้วยเฟสเคลื่อนที่หรือระบบตัวทำละลายที่เหมาะสม ซึ่งเมื่อนำแผ่น TLC มาตรวจสอบจะพบแถบสารที่ต้องการ จากนั้นจุด silica gel ที่มีแถบสารที่ต้องการออกจากแผ่น TLC ใส่เมทานอลลงไปให้ท่วม จากนั้นกรองเอา silica gel ออกแล้วนำสารที่ได้ไประเหยเอาเมทานอลออก นำสารบริสุทธิ์ที่ได้มาตรวจสอบอีกครั้งบนแผ่น TLC ถ้าสารที่ได้บริสุทธิ์ หลังจากใส่ในอ่าง TLC จะพบสารเป็นจุดเดียว ทั้งนี้ต้องทำ preparative thin layer chromatography จำนวนหลายแผ่น เพื่อให้ได้สารบริสุทธิ์ปริมาณที่ต้องการ และเพียงพอในการวิเคราะห์ต่อไป โดย spectroscopy แบบต่างๆ ดังนี้

4.3.1 Proton Nuclear Magnetic Resonance (^1H NMR)

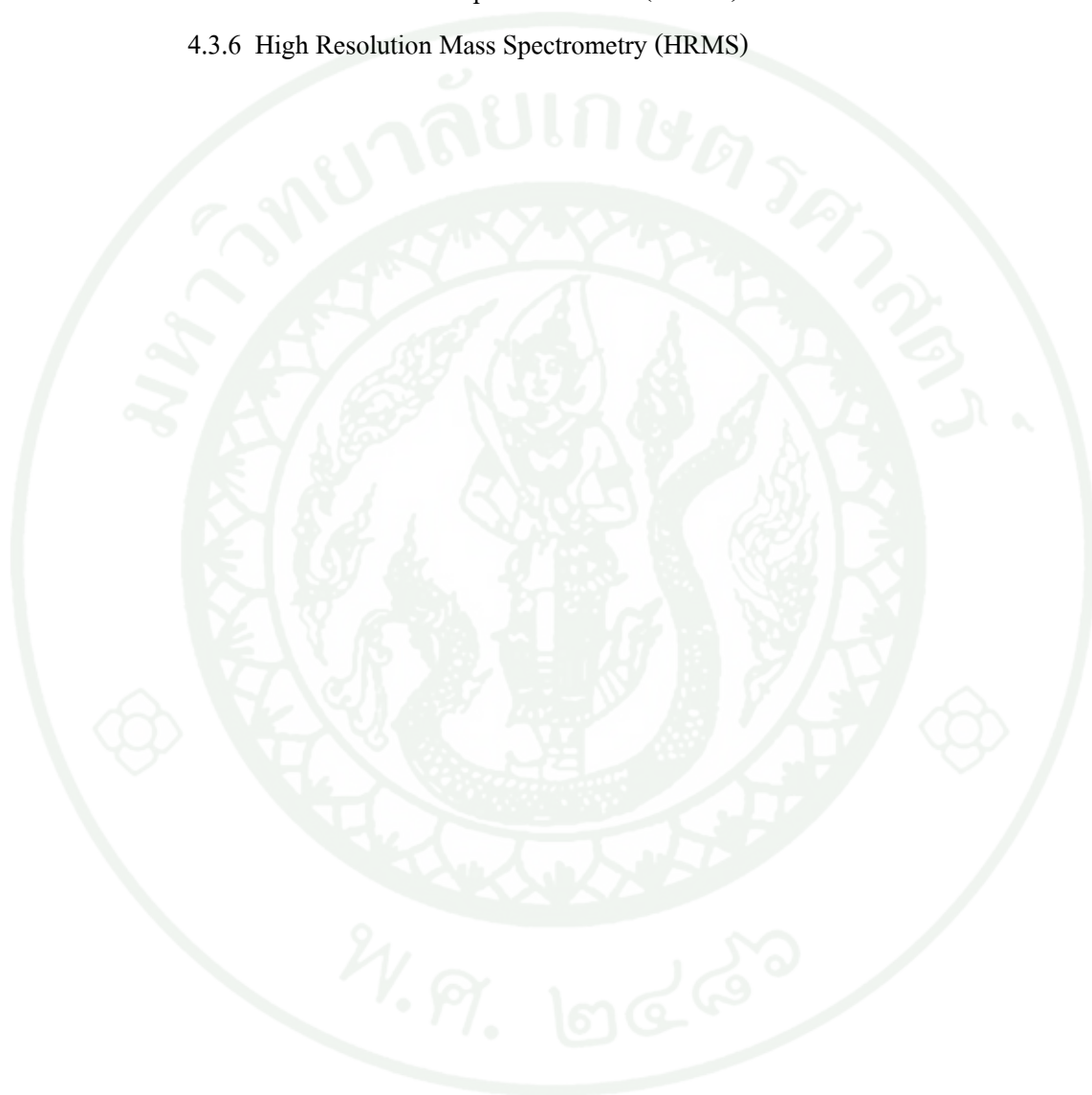
4.3.2 Carbon-13 Nuclear Magnetic Resonance (^{13}C NMR)

4.3.3 Correlation Spectroscopy (COSY)

4.3.4 Heteronuclear Single Quantum Coherence (HSQC)

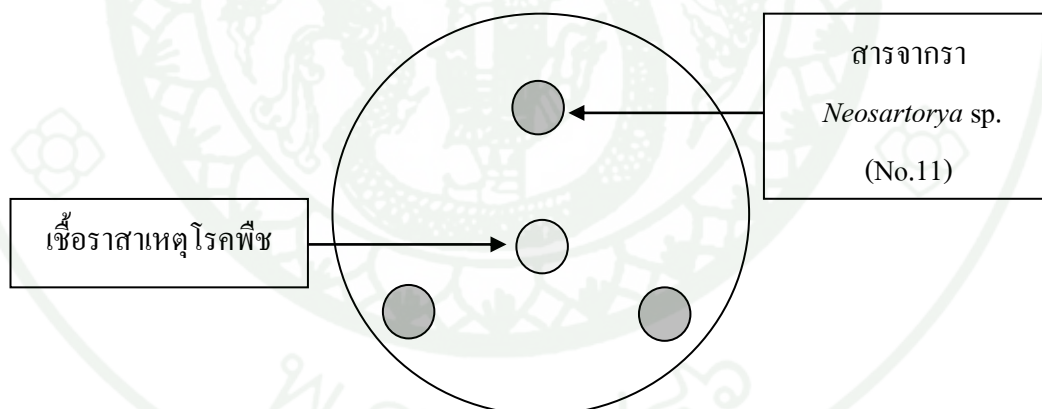
4.3.5 Heteronuclear Multiple Correlation (HMBC)

4.3.6 High Resolution Mass Spectrometry (HRMS)



5. การทดสอบประสิทธิภาพของสารบริสุทธิ์ จากราเอนโดไฟท์ ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช 10 ชนิด ด้วยวิธี paper disc

นำสารบริสุทธิ์ fraction 119 ของ *Neosartorya* sp. (KUFA 41) ที่ได้จากระบวนการแยกสารแบบ column chromatography 1 กรัม มาละลายด้วย chloroform ปริมาตร 10 มิลลิลิตร จะได้สารที่มีความเข้มข้น 100,000 ppm จากนั้นนำไปเจือจางด้วยน้ำให้ได้ความเข้มข้น 10,000 1,000 100 และ 10 ppm จุดสารในแต่ละความเข้มข้น 30 ไมโครลิตร หยดลงบนกระดาษ paper disc ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร ที่นั่งฆ่าเชื้อแล้ว จากนั้นนำไปวางบนจานอาหาร PDA ที่เตรียมไว้โดยใช้ด้านหน้าของกระดาษวางลงบนจานอาหาร ให้อยู่ตำแหน่งห่างจากขอบ plate 1 เซนติเมตร โดยวาง 3 ชิ้นต่อ plate จากนั้นใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร เจาะเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคพืชที่ต้องการทดสอบ นำมาวางตรงกลาง plate ทำการทดลองเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (control) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3-7 วัน แล้วตรวจผลการเกิด clear zone (ภาพที่ 12) โดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางแล้วเปรียบเทียบกับ control

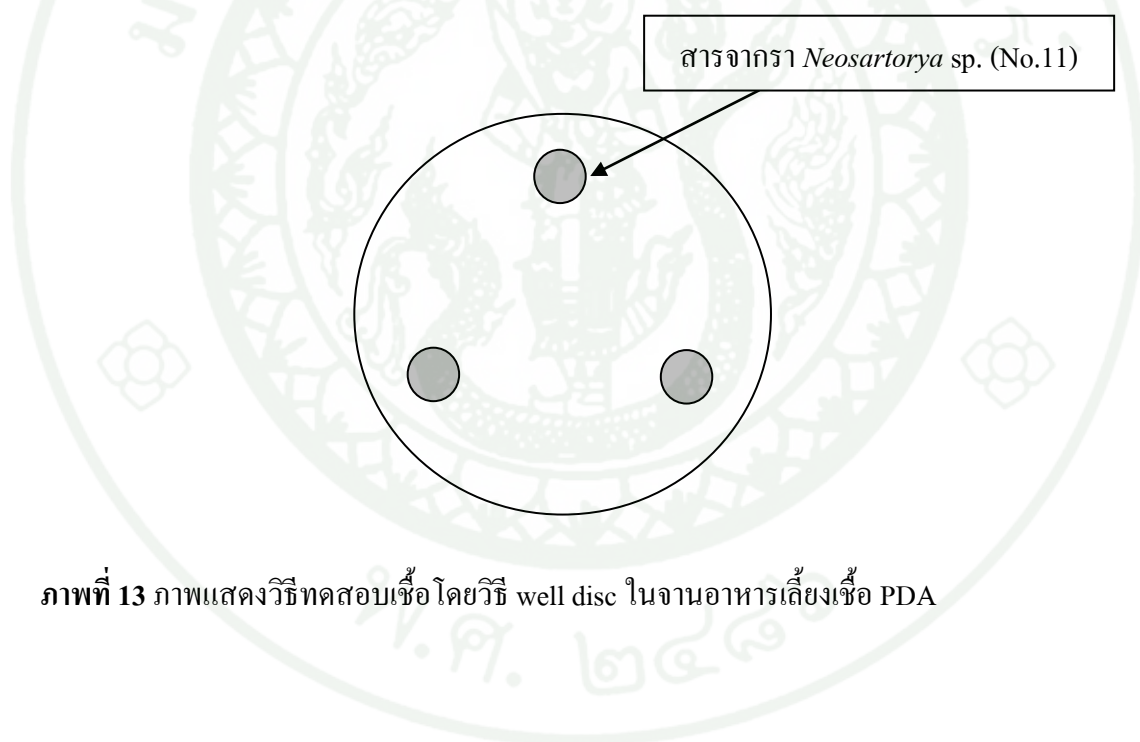


ภาพที่ 12 ภาพแสดงวิธีทดสอบเชื้อโดยวิธี paper disc ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

6. การทดสอบสารกึ่งบริสุทธิ์ (fraction) จากราเอนโดไฟท์ ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา

Colletotrichum capsici ด้วยวิธี well disc

เตรียมสารกึ่งบริสุทธิ์ของรา *Neosartorya* sp. (KUFA 41) ให้มีความเข้มข้น 100,000 ppm โดยนำสารกึ่งบริสุทธิ์ (fraction) 0.1 กรัม มาละลายด้วย อะซิโตน 1 มิลลิลิตร จะได้สารที่มีความเข้มข้น 100,000 ppm เทอาหาร PDA ที่ผสมสปอร์ของเชื้อรา *Colletotrichum capsici* ลงในจานเลี้ยงเชื้อ ใช้ cork borer ขนาด 0.5 เซนติเมตร เจาะและเอาชิ้นวุ้นออก จะได้เป็นหลุมที่มีเส้นผ่าศูนย์กลางขนาด 0.5 เซนติเมตร โดยเจาะห่างจากขอบ 1 เซนติเมตร 3 หลุมต่อ 1 plate (ภาพที่ 13) จากนั้นใช้ไมโครปิเปตดูดสารที่เตรียมไว้มา 10 ไมโครลิตร หยดลงในหลุมที่เจาะไว้ ทำการทดลองเปรียบเทียบชุดควบคุม (control) โดยใช้ อะซิโตนอย่างเดียว บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3-7 วัน ตรวจผลการเกิด clear zone โดยวัดเส้นผ่าศูนย์กลางแล้วเปรียบเทียบกับ control ทำการทดลอง 3 ซ้ำ



ภาพที่ 13 ภาพแสดงวิธีทดสอบเชื้อ โดยวิธี well disc ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

ผลและวิจารณ์

1. ความหลากหลายราเอนโดไฟท์จากพืชป่าชายเลน

เก็บกิ่ง ก้าน และใบของพืชป่าชายเลนจำนวน 40 ชนิด จากบริเวณอ่าวคุ้งกระเบน จังหวัด จันทบุรีมาแยกราเอนโดไฟท์ สามารถแยกราเอนโดไฟท์ได้จำนวน 372 ไอโซเลท (ตารางที่ 3) โดย พบรากกิ่งและใบเป็นส่วนใหญ่ พบราเอนโดไฟท์จากต้นฝาดดอกแดงมากที่สุดคือ 29 ไอโซเลท รองลงมาได้แก่ ต้นฝาดดอกขาว 22 ไอโซเลท และได้ทำการคัดเลือกราเอนโดไฟท์ จำนวน 20 สายพันธุ์ (ตารางที่ 4) มาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช จำนวน 10 ชนิด

ตารางที่ 3 ราเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากพืชป่าชายเลน 40 ชนิดที่เก็บจากอ่าวคุ้งกระเบน จังหวัด จันทบุรี

ลำดับ	พืช	ชื่อวิทยาศาสตร์	ชื่อวงศ์	จำนวนไอโซเลทของราที่แยกได้
1	สีจ้ำ	<i>Scyphiphora hydrophyllacea</i>	<i>Rubiaceae</i>	7
2	โกงกางใบใหญ่	<i>Rhizophora mucronata</i>	<i>Rhizophoraceae</i>	13
3	ประสักดอกแดง	<i>Bruguiera gymnorrhiza</i>	<i>Rhizophoraceae</i>	3
4	แสมทะเล	<i>Avicennia marina</i>	<i>Avicenniaceae</i>	7
5	แสมขาว	<i>Avicennia alba</i>	<i>Acanthaceae</i>	6
6	ฝาดดอกแดง	<i>Lumnitzera littorea</i>	<i>Combretaceae</i>	29
7	โกงกางใบเล็ก	<i>Rhizophora apiculata</i>	<i>Rhizophoraceae</i>	16
8	ลำพูทะเล	<i>Sonneratia alba</i>	<i>Sonneratiaceae</i>	18
9	ขลุ้	<i>Pluchea indica</i>	<i>Compositae</i>	13
10	ตีนเป็ดทราย	<i>Cerbera manghas</i>	<i>Apocynaceae</i>	18
11	แกทะเล	<i>Dolichandrone spathacea</i>	<i>Bignoniaceae</i>	8
12	หยีทะเล	<i>Derris indica</i>	<i>Fabaceae</i>	9
13	หงอนไก่ทะเล	<i>Heritiera littoralis</i>	<i>Sterculiaceae</i>	11
14	ตาตุ่มทะเล	<i>Excoecaria agallocha</i>	<i>Euphorbiaceae</i>	6

ตารางที่ 3 (ต่อ)

ลำดับ	พืช	ชื่อวิทยาศาสตร์	ชื่อวงศ์	จำนวนไอโซเลทของราที่แยกได้
15	โปรงแดง	<i>Ceriops tagal</i>	<i>Rhizophoraceae</i>	18
16	ลำมะง่า	<i>Clerodendrum inerme</i>	<i>Lamiaceae</i>	10
17	ถั่วขาว	<i>Bruguiera cylindrica</i>	<i>Rhizophoraceae</i>	20
18	ฝาดดอกขาว	<i>Lumnitzera racemosa</i>	<i>Combretaceae</i>	22
19	แสมดำ	<i>Avicennia officinalis</i>	<i>Avicenniaceae</i>	12
21	เหงือกปลาหมอดอกม่วง	<i>Acanthus ilicifolius</i>	<i>Acanthaceae</i>	12
22	ปรังทะเล	<i>Acrostichum aureum</i>	<i>Pteridaceae</i>	4
23	ตะบัน	<i>Xylocarpus rumphii</i>	<i>Meliaceae</i>	19
24	จาก	<i>Nypa fruticans</i>	<i>Palmae</i>	1
25	ลำแพน	<i>Sonneratia ovata</i>	<i>Sonneratiaceae</i>	9
26	โพทะเล	<i>Thespesia populnea</i>	<i>Malvaceae</i>	8
27	ปอทะเล	<i>Hibiscus tiliaceus</i>	<i>Malvaceae</i>	8
28	ตะบูนดำ	<i>Xylocarpus moluccensis</i>	<i>Meliaceae</i>	2
29	เตยทะเล	<i>Pandanus tectorius</i>	<i>Pandanaceae</i>	2
30	หวายลิง	<i>Flagellaria indica</i>	<i>Flagellariaceae</i>	13
31	สักชี	<i>Dalbergia candenatensis</i>	<i>Moraceae</i>	7
32	เสม็ดขาว	<i>Melaleuca cajuputi</i>	<i>Myrtaceae</i>	2
33	รามใหญ่	<i>Ardisia elliptica</i>	<i>Myrsinaceae</i>	4
34	ลำเท็ง	<i>Stenochlaena palustris</i>	<i>Pteridaceae</i>	10
35	เทพี	<i>Caesalpinia crista</i>	<i>Leguminosae- caesalpinioideae</i>	3
36	สารภีทะเล	<i>Calophyllum inophyllum</i>	<i>Guttiferae</i>	5
37	เลียบ	<i>Ficus lacor</i>	<i>Moraceae</i>	4
38	เป็งทะเล	<i>Phoenix paludosa</i>	<i>Areaceae</i>	2
39	โปรงขาว	<i>Ceriops deeandra</i>	<i>Rhizophoraceae</i>	5

ตารางที่ 3 (ต่อ)

ลำดับ	พืช	ชื่อวิทยาศาสตร์	ชื่อวงศ์	จำนวนไอโซเลทของราที่แยกได้
40	เล็บมือนาง	<i>Quisqualis indica</i>	<i>Combretaceae</i>	3
รวม				372

การกระจายตัวของราเอนโดไฟท์ที่พบในพืชแต่ละชนิด พบว่าราเอนโดไฟท์จะพบมากที่สุดจากพืชป่าชายเลนในตระกูล *Rhizophoraceae* โดยพบราเอนโดไฟท์จำนวน 75 ไอโซเลท คิดเป็น 17.5 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ *Combretaceae* จำนวน 54 ไอโซเลท คิดเป็น 7.5 เปอร์เซ็นต์ และ *Sonneratiaceae* จำนวน 27 ไอโซเลท คิดเป็น 7.26 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 4 การกระจายตัวของราเอนโดไฟท์ที่พบในพืชป่าชายเลน

ลำดับ	ชื่อวงศ์	จำนวนชนิดพืช	จำนวนไอโซเลทเชื้อราที่แยกได้	เปอร์เซ็นต์ของไอโซเลท
1	<i>Rubiaceae</i>	1	7	1.88
2	<i>Rhizophoraceae</i>	7	78	20.97
3	<i>Acanthaceae</i>	2	18	4.84
4	<i>Avicenniaceae</i>	2	19	5.11
5	<i>Combretaceae</i>	3	54	14.52
6	<i>Sonneratiaceae</i>	2	27	7.26
7	<i>Compositae</i>	1	13	3.50
8	<i>Apocynaceae</i>	1	18	4.84
9	<i>Bignoniaceae</i>	1	8	2.15
10	<i>Fabaceae</i>	1	9	2.42

ตารางที่ 4 (ต่อ)

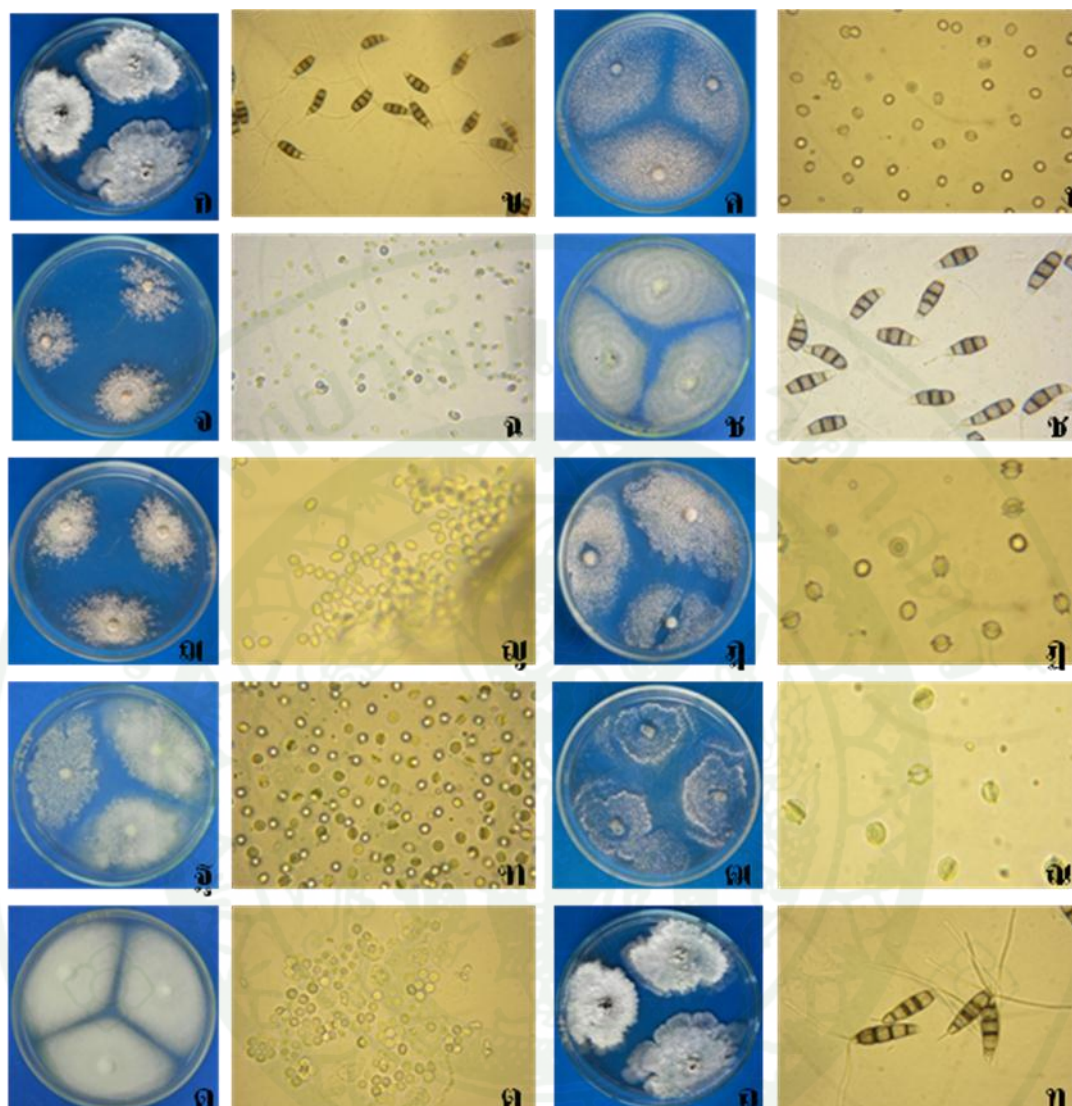
ลำดับ	ชื่อวงศ์	จำนวนชนิดพืช	จำนวนไอโซเลทเชื้อ ราที่แยกได้	เปอร์เซ็นต์ของ ไอโซเลท
11	<i>Sterculiaceae</i>	1	11	2.96
12	<i>Euphorbiaceae</i>	1	6	1.61
13	<i>Lamiaceae</i>	1	10	2.69
14	<i>Pteridaceae</i>	2	14	3.77
15	<i>Meliaceae</i>	2	21	5.65
17	<i>Malvaceae</i>	2	16	4.30
18	<i>Pandanaceae</i>	1	2	0.54
19	<i>Flagellariaceae</i>	1	13	3.49
20	<i>Moraceae</i>	2	11	2.96
21	<i>Myrtaceae</i>	1	2	0.54
22	<i>Myrsinaceae</i>	1	4	1.08
23	<i>Leguminosae caesalpinioideae</i>	1	3	0.81
24	<i>Guttiferae</i>	1	5	1.34
25	<i>Arecaceae</i>	1	2	0.54
รวม		40	372	100

ตารางที่ 5 สายพันธุ์ราเอนโดไฟท์ จำนวน 20 ไอโซเลทที่คัดเลือกเพื่อใช้ทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช

รหัส	ราเอนโดไฟท์	พืช	ส่วนของพืช
KUFA 31	<i>Pestalotiopsis</i> sp.	ฝาดดอกขาว <i>Lumnitzera racemosa</i>	ง่าม
KUFA 32	<i>Neosartorya</i> sp.	ฝาดดอกแดง <i>Lumnitzera littorea</i>	ดอก
KUFA 33	<i>Neosartorya</i> sp.	เทพี <i>Caesalpinia crista</i>	ใบ
KUFA 34	-	ขลุ่ย <i>Pluchea indica</i>	ใบ
KUFA 35	<i>Talaromyces trachyspermus</i>	หวายลิง <i>Flagellaria indica</i>	ใบ
KUFA 36	<i>Pestalotiopsis</i> sp.	เล็บมือนาง <i>Quisqualis indica</i>	ใบ
KUFA 37	<i>Talaromyces trachyspermus</i>	เป้งทะเล <i>Phoenix pludosa</i>	กิ่ง
KUFA 38	<i>Neosartorya</i> sp.	ลำพูทะเล <i>Sonneratia alba</i>	ดอก
KUFA 39	<i>Eurotium chevalieri</i>	ขลุ่ย <i>Pluchea indica</i>	กิ่ง
KUFA 40	<i>Neosartorya</i> sp.	ฝาดดอกแดง <i>Lumnitzera littorea</i>	ดอก
KUFA 41	<i>Neosartorya</i> sp.	เทพี <i>Caesalpinia crista</i>	ใบ
KUFA 42	<i>Neosartorya</i> sp.	เทพี <i>Caesalpinia crista</i>	ใบ
KUFA 43	-	ฟังกาหัวส้มดอกขาว <i>Bruguiera sexangula</i>	ใบ

ตารางที่ 5 (ต่อ)

รหัส	ราเอนโดไฟท์	พืช	ส่วนของพืช
KUFA 44	<i>Pestalotiopsis</i> sp.	โกกงางใบเล็ก <i>Rhizophora apiculata</i>	ใบ
KUFA 45	<i>Talaromyces trachyspermus</i>	โกกงางใบเล็ก <i>Rhizophora apiculata</i>	ฝัก
KUFA 46	<i>Neosartorya</i> sp.	ลักชี <i>Dalbergia candenatensis</i>	กิ่ง
KUFA 47	<i>Neosartorya</i> sp.	ตะบัน <i>Xylocarpus rumphii</i>	กิ่ง
KUFA 48	<i>Fusarium</i> sp.	ฝาดดอกแดง <i>Lumnitzera littorea</i>	กิ่ง
KUFA 49	<i>Pestalotiopsis</i> sp.	ลำแพน <i>Sonnertia ovata</i>	กิ่ง
KUFA 50	<i>Nigrospora</i> sp.	เทพี <i>Caesalpinia crista</i>	ใบ



ภาพที่ 14 ราเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากพืชป่าชายเลน

ก-ข *Pestalotiopsis* sp. (KUFA 31)

ค-ง *Neosartorya* sp. (KUFA 32)

จ-ฉ *Talaromyces trachyspermus* (KUFA 35)

ช-ซ *Pestalotiopsis* sp. (KUFA 36)

ฅ-ญ *Talaromyces trachyspermus* (KUFA 37)

ฎ-ฏ *Neosartorya* sp. (KUFA 38)

ฐ-ฑ *Neosartorya* sp. (KUFA 40)

ฒ-ณ *Neosartorya* sp. (KUFA 41)

ด-ต *Neosartorya* sp. (KUFA 42)

ถ-ท *Pestalotiopsis* sp. (KUFA 49)

2. ผลการทดสอบประสิทธิภาพของราเอนโดไฟท์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช 10 ชนิด ด้วยวิธี dual culture

นำราเอนโดไฟท์ที่แยกจากพืชป่าชายเลน จำนวน 20 สายพันธุ์ มาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืช 10 ชนิด ผลการทดสอบพบว่าราเอนโดไฟท์ *Pestalotiopsis* sp. (KUFA 31) สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช *A. solani*, *C. capsici*, *F. oxysporum*, *L. theobromae* และ *P. aphanidermatum* ได้มากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ และสามารถยับยั้งการเจริญเชื้อรา *R. solani* ได้ดีที่สุด 58.9 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ราเอนโดไฟท์ *Neosartorya* sp. (KUFA 32) สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *L. theobromae* ได้ดีที่สุด 58.3 เปอร์เซ็นต์ และสามารถยับยั้งเชื้อรา *A. solani*, *C. capsici*, *R. solani* และ *S. rolfii* ได้มากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 6) (ภาพที่ 15)

ราเอนโดไฟท์ *Neosartorya* sp. (KUFA 33) สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช *A. solani* และ *F. oxysporum* ได้ 52.7 และ 59.4 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ นอกจากนี้ยังสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *L. theobromae* และ *S. rolfii* ได้ที่ 72 และ 61.1 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ราเอนโดไฟท์ (KUFA 34) สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืชได้มากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ ได้เพียงชนิดเดียวคือ *A. solani* ที่ 53 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 6) (ภาพที่ 16) ราเอนโดไฟท์ *Talaromyces trachyspermus* (KUFA 35) สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช *S. rolfii* และ *R. solani* ได้ 63.8 และ 61.6 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในขณะที่สามารถยับยั้งเชื้อรา *A. solani* และ *P. aphanidermatum* ได้มากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ สำหรับราเอนโดไฟท์ *Pestalotiopsis* sp. (KUFA 36) สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. solani* ได้ดีที่สุด 60.5 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาได้แก่ *C. capsici*, *L. theobromae*, *P. aphanidermatum* และ *R. solani* ได้ 57.8, 59.4, 55.6 และ 56.67 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 6) (ภาพที่ 17)

ราเอนโดไฟท์ *Talaromyces trachyspermus* (KUFA 37) สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช *R. solani* ได้ 50.5 เปอร์เซ็นต์ ส่วนราเอนโดไฟท์ *Neosartorya* sp. (KUFA 38) สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช *F. oxysporum*, *P. aphanidermatum* *L. theobromae* และ *S. rolfii* ได้มากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ และสามารถยับยั้งเชื้อรา *A. solani* ได้ดีที่สุด 72.2 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 6) (ภาพที่ 18) ราเอนโดไฟท์ *Eurotium chevalieri* (KUFA 39) สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช 2 ชนิดได้แก่ *A. solani* และ *P. palmivora* ได้ 50 เปอร์เซ็นต์ สำหรับประสิทธิภาพของราเอนโดไฟท์ *Neosartorya* sp. (KUFA 40) สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช *A. solani*, *C. capsici*, *L. theobromae*, *P. palmivora* และ *S. rolfii* ได้มากกว่า

50 เปอร์เซ็นต์ และสามารถยับยั้งเชื้อรา *R. solani* ได้ดีที่สุด 67.77 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 6) (ภาพที่ 19) ขณะที่ราเอนโดไฟท์ *Neosartorya* sp. (KUFA 41) สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช *A. solani*, *P. aphanidermatum* และ *S. rolfsii* ได้ 50.7, 51.1 และ 50 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

ราเอนโดไฟท์ *Neosartorya* sp. (KUFA 42) สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช *A. solani*, *C. capsici*, *P. palmivora*, *P. aphanidermatum* และ *L. theobromae* ได้มากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ และสามารถยับยั้งเชื้อรา *S. rolfsii* ได้ดีที่สุด 66.6 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 6) (ภาพที่ 20) ซึ่งราเอนโดไฟท์ (KUFA 43) สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช คือ *R. solani* ได้ดีที่สุดที่ 64.44 เปอร์เซ็นต์ และสามารถยับยั้งเชื้อรา *A. solani* และ *H. maydis* ได้ 53.9 และ 50.6 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 6) (ภาพที่ 21) ราเอนโดไฟท์ *Talaromyces trachyspermus* (KUFA 45) สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช *A. solani*, *C. capsici*, *F. oxysporum* และ *P. palmivora* ได้ 50-55.5 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่สามารถยับยั้งเชื้อรา *P. aphanidermatum*, *R. solani* และ *S. rolfsii* ได้ 94.4, 80 และ 71.7 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

ส่วนราเอนโดไฟท์ *Neosartorya* sp. (KUFA 46) สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช *P. palmivora*, *P. aphanidermatum* และ *S. rolfsii* ได้ 52.8-66.6 เปอร์เซ็นต์ และสามารถยับยั้ง *L. theobromae* ได้ดีที่สุด 72 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 6) (ภาพที่ 22) ราเอนโดไฟท์ *Neosartorya* sp. (KUFA 47) สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *S. rolfsii* ได้ดีที่สุด 81.7 เปอร์เซ็นต์ ส่วนเชื้อราสาเหตุโรคพืช *C. capsici*, *C. gloeosporioides*, *H. maydis*, *P. palmivora*, *A. solani*, *L. theobromae*, *P. aphanidermatum* และ *R. solani* สามารถยับยั้ง ได้ในช่วง 53.33-77.22 เปอร์เซ็นต์ ราเอนโดไฟท์ *Fusarium* sp. (KUFA 48) สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช 3 ชนิดได้แก่ *A. solani*, *C. capsici* และ *P. palmivora* ได้ 55.5, 52.7 และ 56 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในขณะที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *P. aphanidermatum* และ *L. theobromae* ได้ 94 และ 81 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 6) (ภาพที่ 23)

ราเอนโดไฟท์ *Pestalotiopsis* sp. (KUFA 49) สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช *F. oxysporum*, *A. solani*, *L. theobromae*, *R. solani* และ *L. theobromae* ได้มากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ และสามารถยับยั้งเชื้อรา *P. aphanidermatum* ได้มากที่สุด 77.2 เปอร์เซ็นต์ ราเอนโดไฟท์ *Nigrospora* sp. (KUFA 50) สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืชได้ดีเพียงชนิดเดียวคือ *L. theobromae* ที่ 53.9 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 6) (ภาพที่ 24) ขณะที่ราเอนโดไฟท์ *Pestalotiopsis* sp. (KUFA 44) ไม่สามารถยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืชได้ (ตารางที่ 6) (ภาพที่ 21) โดย

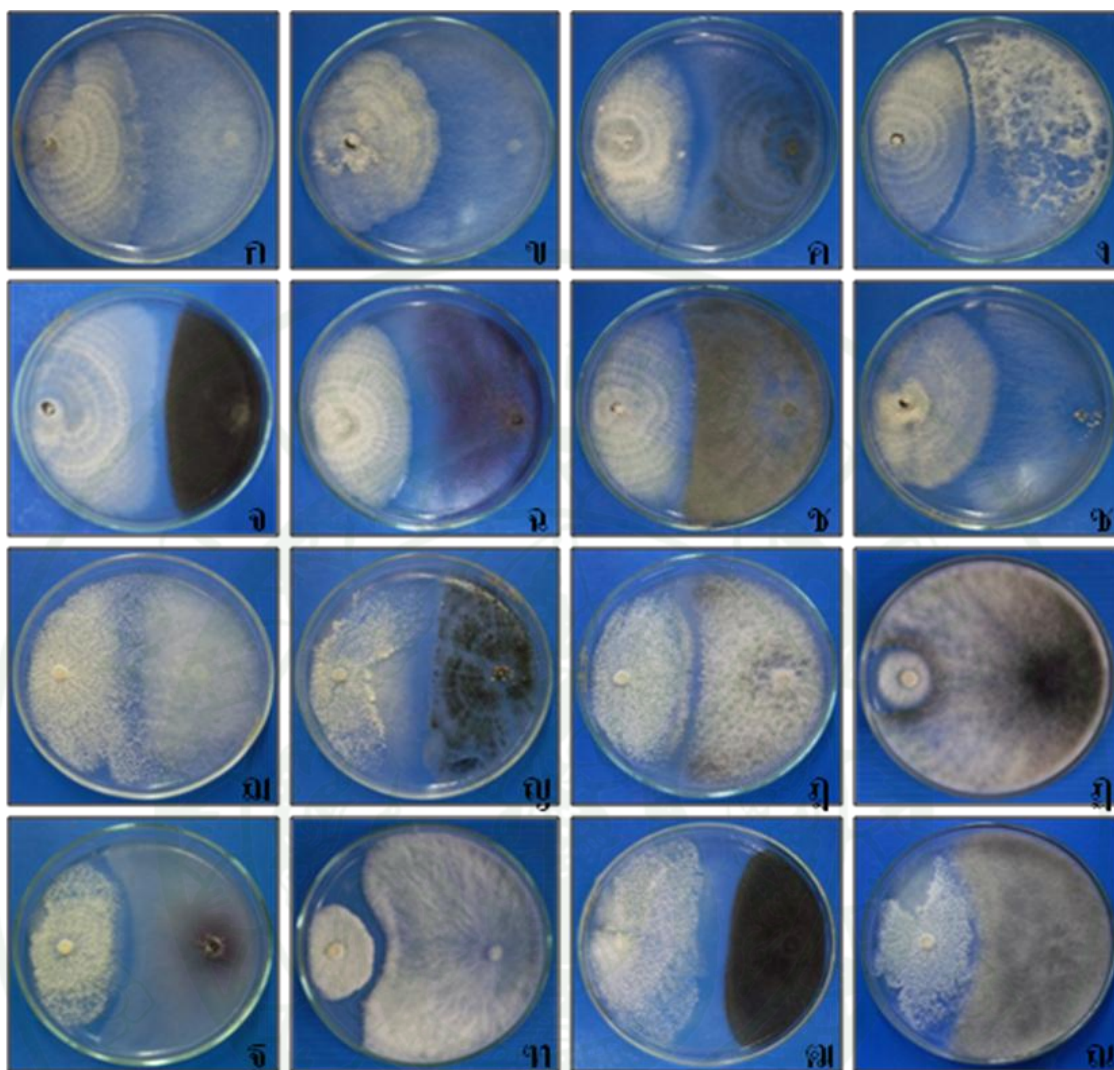
มีรายงานของ ชิดา และคณะ (2550) รายงานว่ารา *Talaromyces flavus* ที่แยกจากดินสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราเหตุโรคพืช *P. parasitica*, *F. oxysporum*, *F. semitectum*, *C. capsici* และ *C. gloeosporioides* ได้อย่างมีประสิทธิภาพ เมื่อทดสอบโดยวิธี Dual Culture ในสภาพห้องปฏิบัติการ



ตารางที่ 6 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของราเอนโดไฟท์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช 10 ชนิด โดยวิธี dual culture

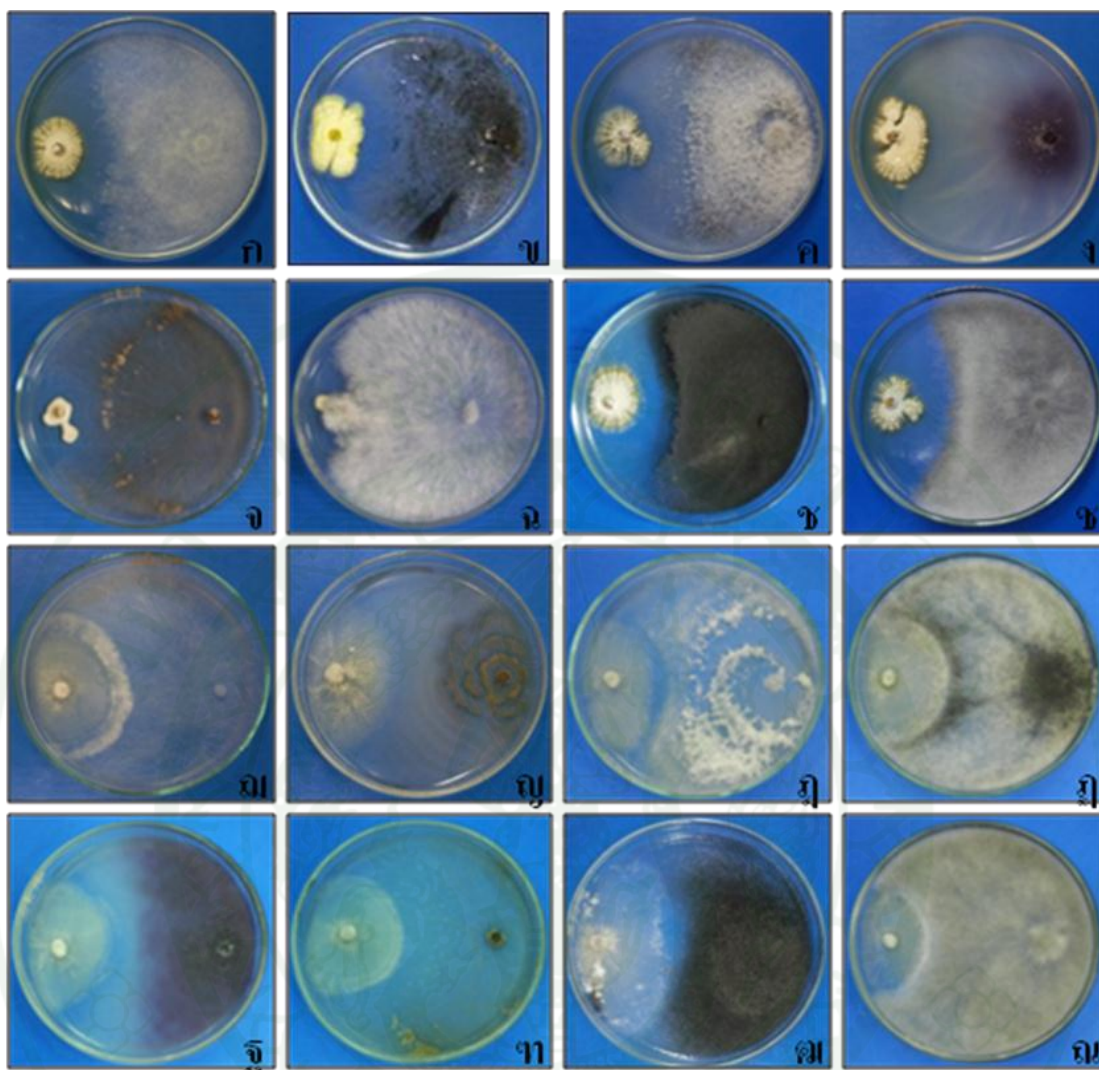
ลำดับ	รหัสรา เอนโดไฟท์	<i>Alt</i> *	<i>C. c</i>	<i>C. g</i>	<i>Fu</i>	<i>Hel</i>	<i>Lasio</i>	<i>Phy</i>	<i>Py</i>	<i>Rhi</i>	<i>Scl</i>
1	KUFA31	57.22	53.33	43.9	50.6	45	52.8	47.22	56.7	58.9	0
2	KUFA 32	51.1	50	38.88	41.6	36.6	58.3	48.8	46.6	50.5	52.2
3	KUFA 33	52.7	33.3	23.3	59.4	33.3	72	45.5	38.8	43.8	61.1
4	KUFA 34	53.3	44.4	38.33	41.66	31.6	42.78	40.5	45.6	0	0
5	KUFA 35	52.2	47.2	33.3	42.7	36.6	48	44.4	52.7	61.6	63.8
6	KUFA 36	60.5	57.8	43.88	45.5	43.33	59.4	46.1	55.6	56.67	0
7	KUFA 37	49.4	40.5	33.8	16.6	38.88	41	39.44	36.6	50.5	48.3
8	KUFA 38	72.2	41.6	45.5	50.5	38.9	72	44.4	51.1	47.2	61.1
9	KUFA 39	50	30.5	27.8	31.1	32.8	0	50	48.9	0	2.22
10	KUFA 40	59.4	56.7	45	49.44	42.22	57.78	56.7	49.4	67.77	57.7
11	KUFA 41	52.7	41.4	27.7	37.7	32.2	36	27.7	51.1	47.2	50
12	KUFA 42	56.1	51.4	45	45	46.1	62.2	51.7	51.7	5.5	66.6
13	KUFA 43	53.9	45.6	41.1	44.44	50.6	48.33	46.1	43.9	64.44	46.1
14	KUFA 44	44.4	44.4	22.2	35	27.7	0	35.6	13.8	36.1	38.8
15	KUFA 45	51.1	55.5	47.2	50	42.7	25.6	50	94.4	80	71.7
16	KUFA 46	0	44.5	44.4	44.4	44.4	72	52.8	66.6	0	61.1
17	KUFA 47	67.22	57.8	53.33	49.44	53.33	73.33	57.22	72.2	77.22	81.7
18	KUFA 48	55.5	52.7	46.1	44.4	45	81	56	94	13.3	0
19	KUFA 49	63.3	0	45.56	53.89	48.89	66.2	72.2	77.2	67.22	0
20	KUFA 50	48.3	0	41.57	40	39.5	53.9	46.7	46.1	46.11	10

* *Alt*=*A. solani*, *C. c* = *C. capsici*, *C. g*= *C.gloeosporioides*, *Fu* =*F. oxysporum*, *Hel*= *H. maydis*,
Lasio= *L. theobromae*, *Phy*= *P. palmivora*, *Py*= *P. aphanidermatum*, *Rhi*= *R. solani* และ
Scl= *S. rolfsii*



ภาพที่ 15 ประสิทธิภาพของราเอนโดไฟท์ *Pestalotiopsis* sp. (KUFA 31) (ก-ช) และ *Neosartorya* sp. (KUFA 32) (ฅ-ณ) (ซ้าย) ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช (ขวา) เมื่อทดสอบด้วยวิธี dual culture

- | | | |
|---|---|---------------------------------|
| ก <i>Phytophthora palmivora</i> | ข <i>Pythium aphanidermatum</i> | ค <i>Colletotrichum capsici</i> |
| ง <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> | จ <i>Alternaria solani</i> | ฉ <i>Fusarium oxysporum</i> |
| ช <i>Helminthosporium maydis</i> | ซ <i>Rhizoctonia solani</i> | ฅ <i>Phytophthora palmivora</i> |
| ญ <i>Colletotrichum capsici</i> | ฎ <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> | |
| ฏ <i>Lasiodiplodia theobromae</i> | ฐ <i>Fusarium oxysporum</i> | ฑ <i>Sclerotium rolfsii</i> |
| ฒ <i>Alternaria solani</i> | ณ <i>Helminthosporium maydis</i> | |



ภาพที่ 16 ประสิทธิภาพของราเอนโดไฟท์ *Neosartorya* sp. (KUFA 33) (ก-ช) และ (KUFA 34) (ฅ-ณ) (ซ้าย) ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช (ขวา) เมื่อทดสอบด้วยวิธี dual culture

ก *Phytophthora palmivora*

ข *Colletotrichum capsici*

ค *Colletotrichum gloeosporioides*

ง *Fusarium oxysporum*

จ *Rhizoctonia solani*

ฉ *Sclerotium rolfsii*

ช *Alternaria solani*

ช *Helminthosporium maydis*

ฅ *Pythium aphanidermatum*

ญ *Colletotrichum capsici*

ฎ *Colletotrichum gloeosporioides*

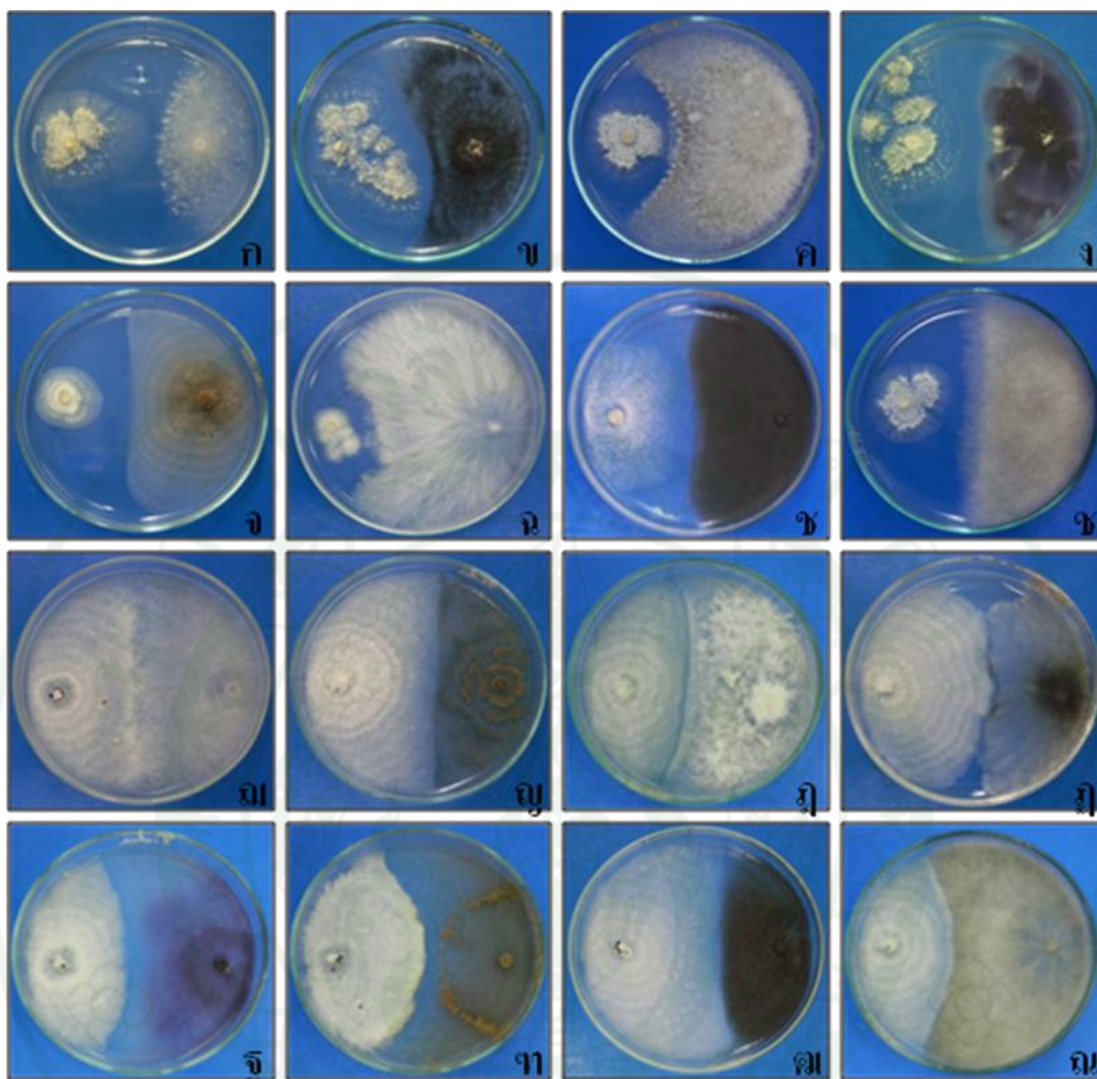
ฏ *Lasiodiplodia theobromae*

ฐ *Fusarium oxysporum*

ฒ *Rhizoctonia solani*

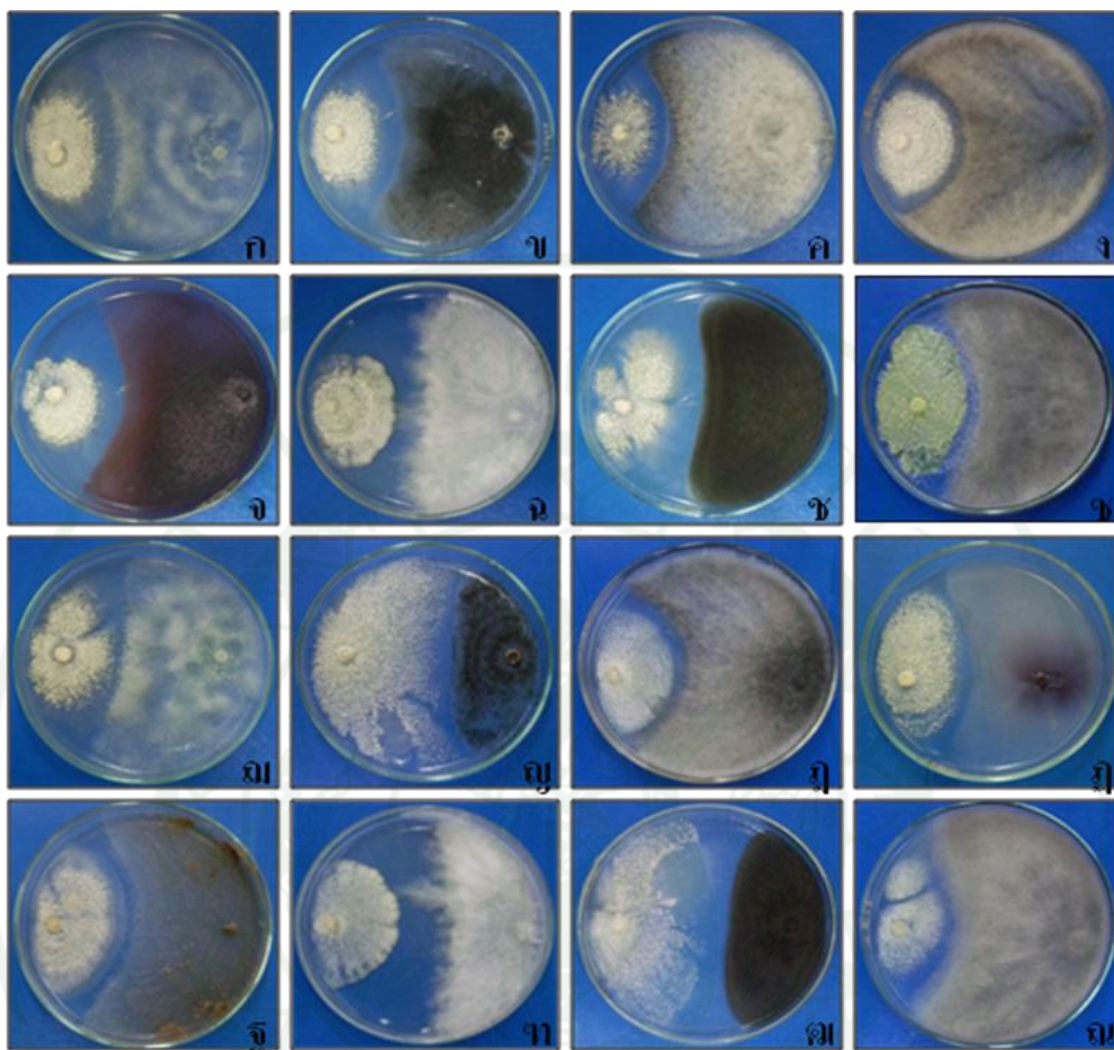
ณ *Alternaria solani*

ณ *Helminthosporium maydis*



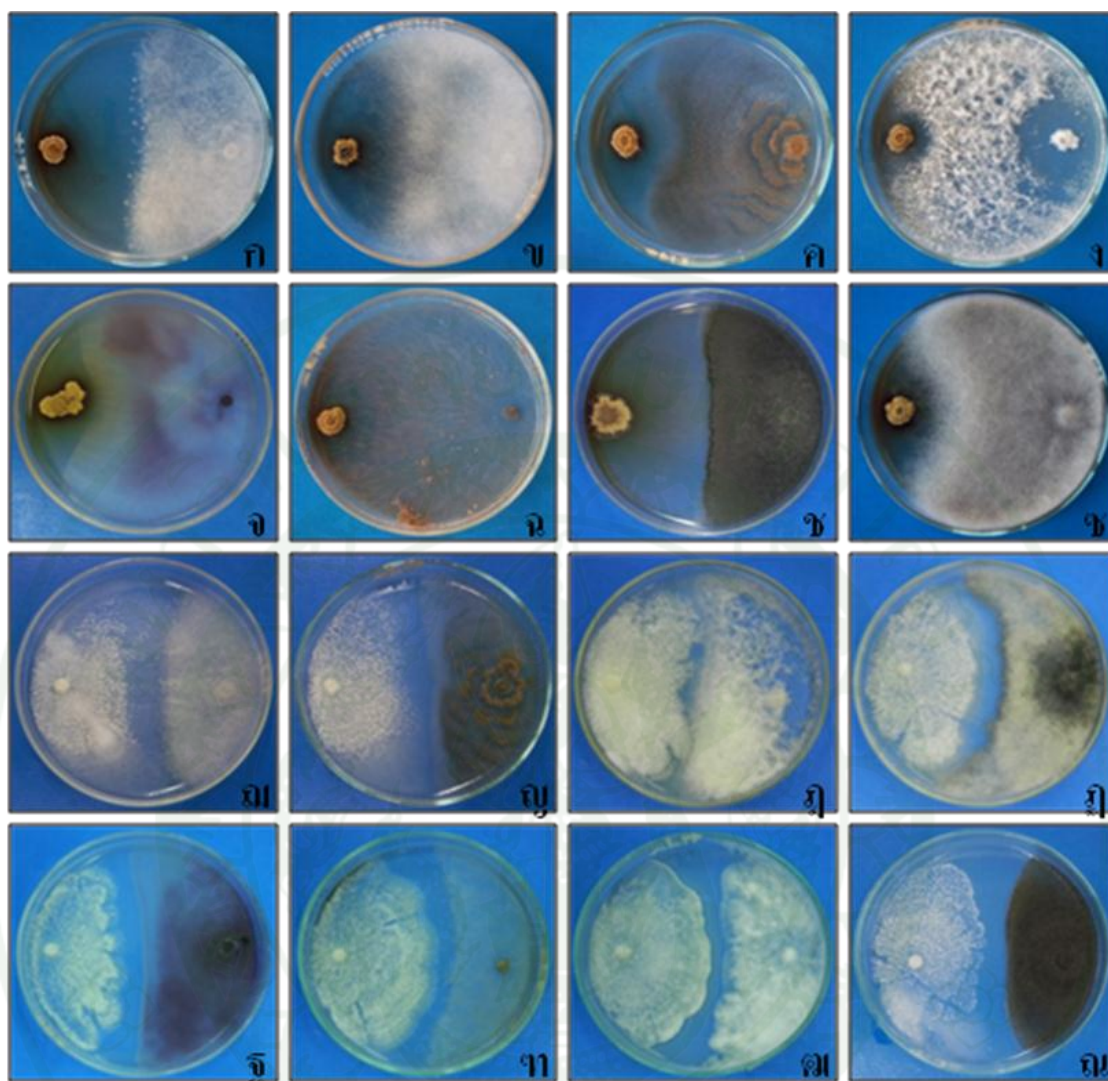
ภาพที่ 17 ประสิทธิภาพของราเอนโดไฟท์ *Talaromyces trachyspermus* (KUFA 35) (ก-ช) และ *Pestalotiopsis* sp. (KUFA 36) (ฉ-ฉ) (ซ้าย) ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช (ขวา) เมื่อทดสอบด้วยวิธี dual culture

- | | | |
|-----------------------------------|---|---|
| ก <i>Phytophthora palmivora</i> | ข <i>Colletotrichum capsici</i> | ค <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> |
| ง <i>Fusarium oxysporum</i> | จ <i>Rhizoctonia solani</i> | ฉ <i>Sclerotium rolfsii</i> |
| ช <i>Alternaria solani</i> | ช <i>Helminthosporium maydis</i> | ฉ <i>Phytophthora palmivora</i> |
| ฉ <i>Colletotrichum capsici</i> | ฉ <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> | |
| ฉ <i>Lasiodiplodia theobromae</i> | ฉ <i>Fusarium oxysporum</i> | ฉ <i>Rhizoctonia solani</i> |
| ฉ <i>Alternaria solani</i> | ฉ <i>Helminthosporium maydis</i> | |



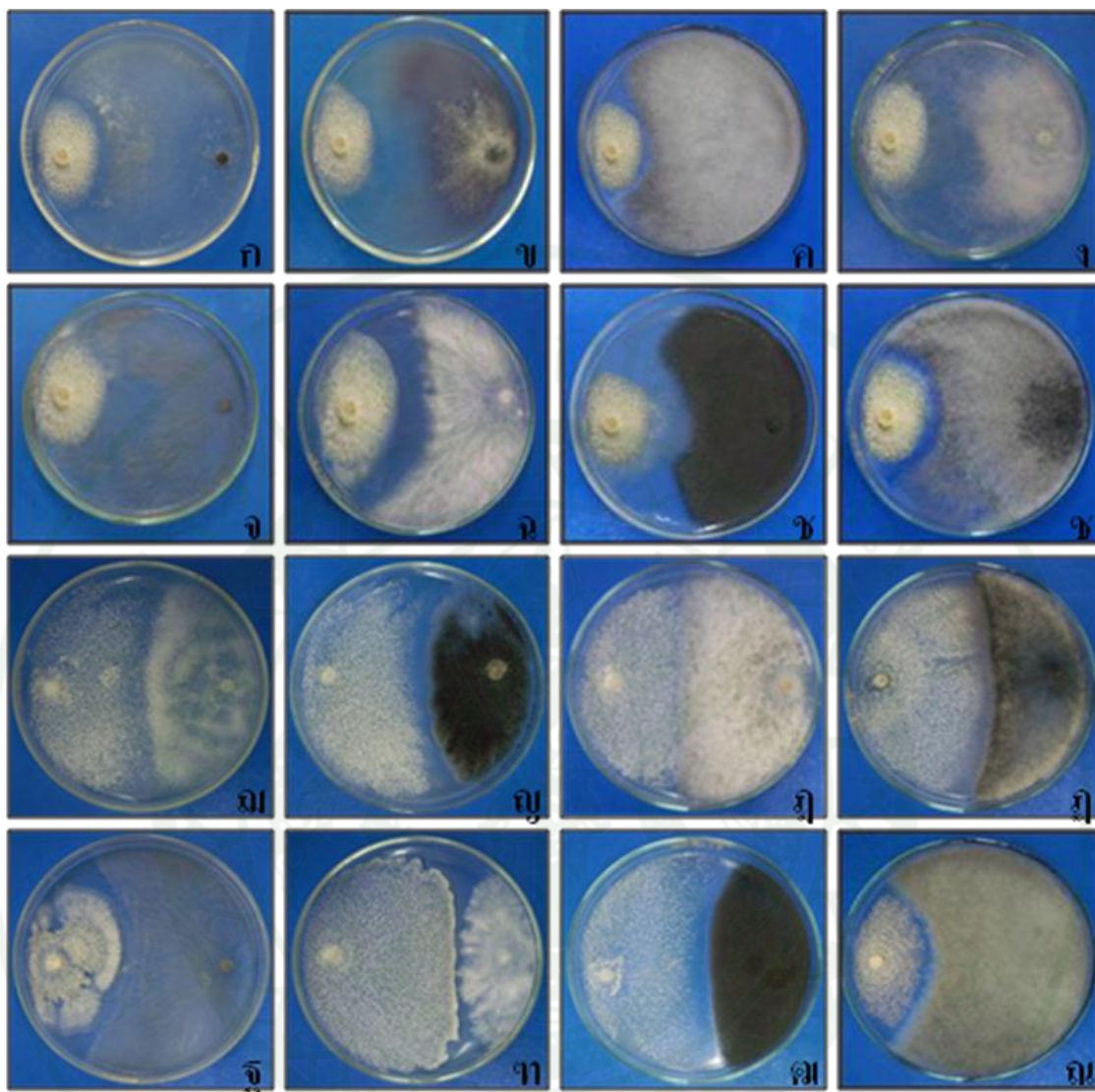
ภาพที่ 18 ประสิทธิภาพของราเอนโดไฟท์ *Talaromyces trachyspermus* (KUFA 37) (ก-ช) และ *Neosartorya* sp. (KUFA 38) (ฉ-ฉ) (ซ้าย) ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช (ขวา) เมื่อทดสอบด้วยวิธี dual culture

ก <i>Phytophthora palmivora</i>	ข <i>Colletotrichum capsici</i>	
ค <i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	ง <i>Lasioidiplodia theobromae</i>	จ <i>Fusarium oxysporum</i>
ฉ <i>Sclerotium rolfii</i>	ช <i>Alternaria solani</i>	ช <i>Helminthosporium maydis</i>
ฉ <i>Phytophthora palmivora</i>	ญ <i>Colletotrichum capsici</i>	ฎ <i>Lasioidiplodia theobromae</i>
ฏ <i>Fusarium oxysporum</i>	ฏ <i>Rhizoctonia solani</i>	ฏ <i>Sclerotium rolfii</i>
ฒ <i>Alternaria solani</i>	ณ <i>Helminthosporium maydis</i>	



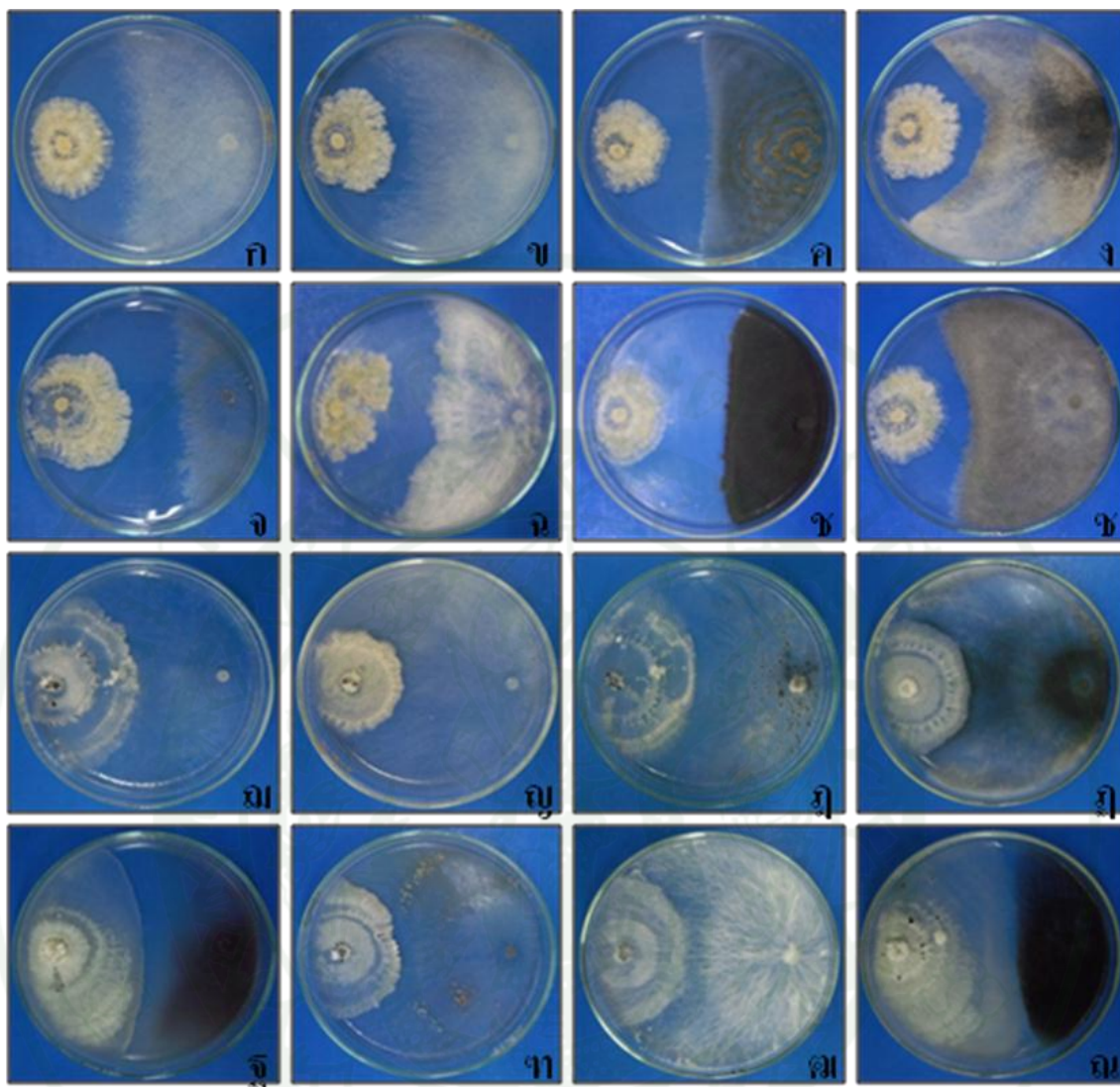
ภาพที่ 19 ประสิทธิภาพของราเอนโคไฟท์ *Eurotium chevalieri* (KUFA 39) (ก-ช) และ *Neosartorya* sp. (KUFA 40) (ฉ-ณ) (ซ้าย) ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช (ขวา) เมื่อทดสอบด้วยวิธี dual culture

- | | |
|---|---|
| ก <i>Phytophthora palmivora</i> | ข <i>Pythium aphanidermatum</i> |
| ค <i>Colletotrichum capsici</i> | ง <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> |
| จ <i>Fusarium oxysporum</i> | ฉ <i>Rhizoctonia solani</i> |
| ช <i>Alternaria solani</i> | ซ <i>Helminthosporium maydis</i> |
| ฅ <i>Phytophthora palmivora</i> | ญ <i>Colletotrichum capsici</i> |
| ฉ <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> | ฎ <i>Lasiodiplodia theobromae</i> |
| ฐ <i>Fusarium oxysporum</i> | ฏ <i>Rhizoctonia solani</i> |
| ฑ <i>Sclerotium rolfsii</i> | ณ <i>Alternaria solani</i> |



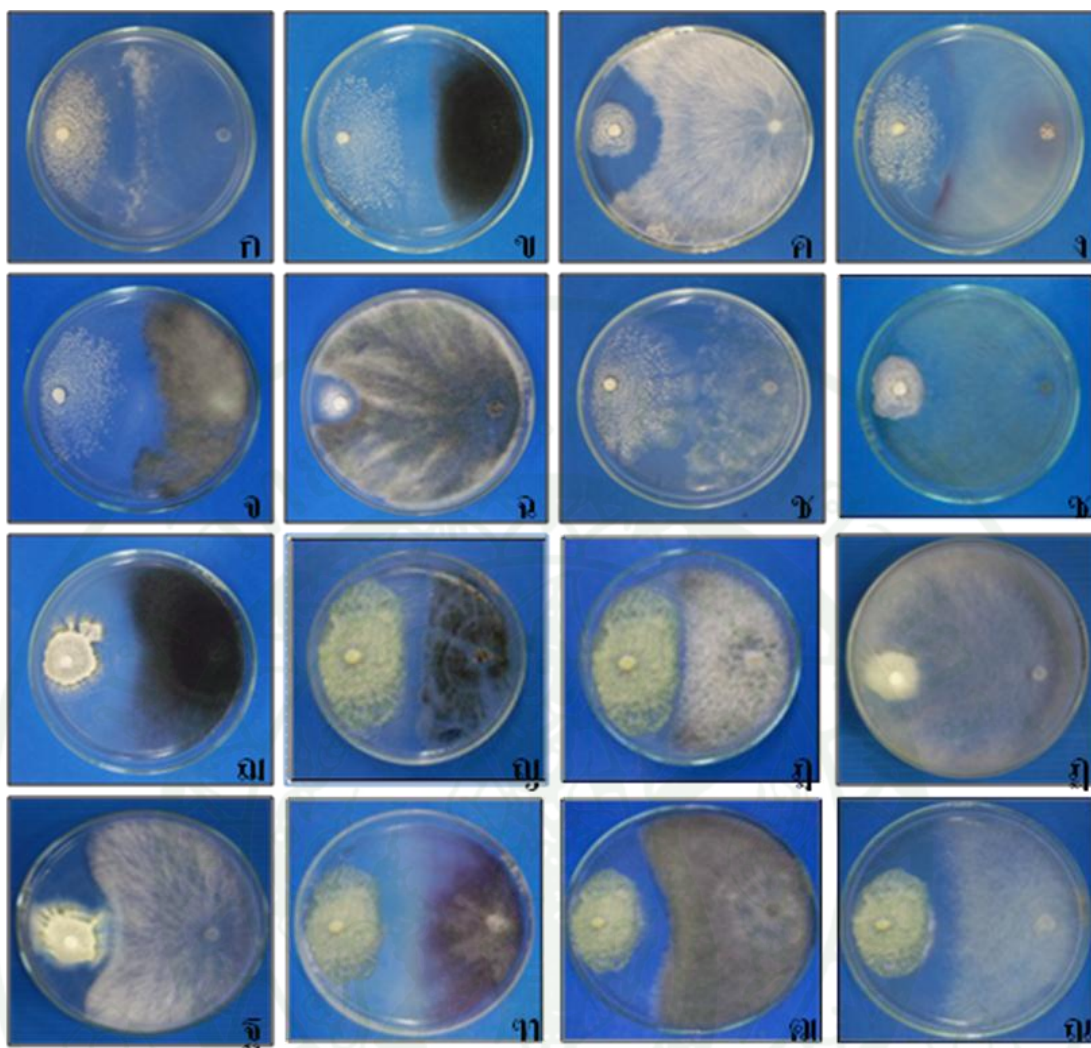
ภาพที่ 20 ประสิทธิภาพของราเอนโดไฟท์ *Neosartorya* sp. (KUFA 41) (ก-ข) และ (KUFA 42) (ฉ-ฉ) (ซ้าย) ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช (ขวา) เมื่อทดสอบด้วยวิธี dual culture

ก <i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	ข <i>Fusarium oxysporum</i>	ค <i>Helminthosporium maydis</i>
ง <i>Phytophthora palmivora</i>	จ <i>Rhizoctonia solani</i>	ฉ <i>Sclerotium rolfsii</i>
ช <i>Alternaria solani</i>	ช <i>Helminthosporium maydis</i>	ฉ <i>Phytophthora palmivora</i>
ฉ <i>Colletotrichum capsici</i>	ฉ <i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	
ฉ <i>Lasiodiplodia theobromae</i>	ฉ <i>Rhizoctonia solani</i>	ฉ <i>Sclerotium rolfsii</i>
ฉ <i>Alternaria solani</i>	ฉ <i>Helminthosporium maydis</i>	



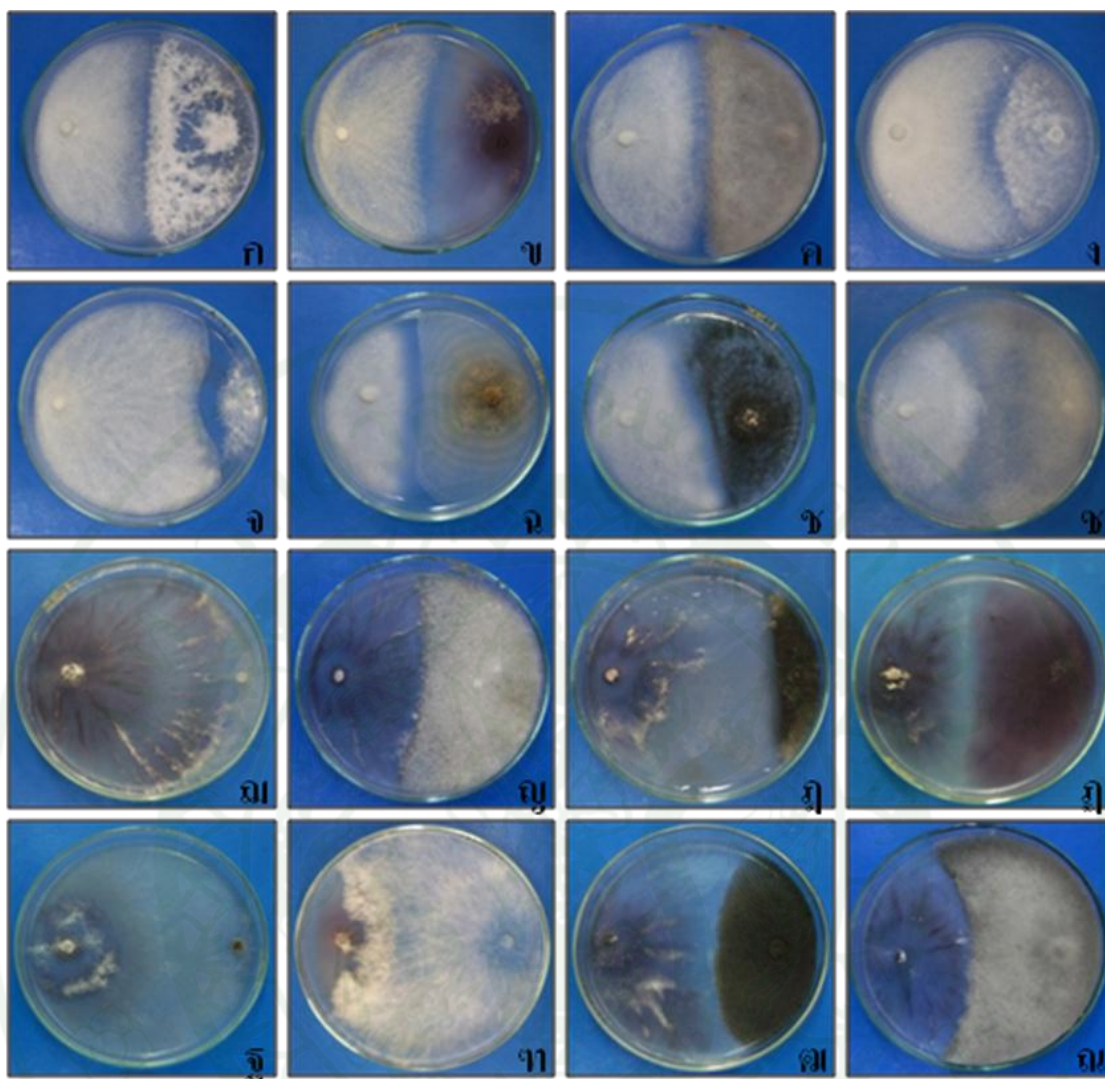
ภาพที่ 21 ประสิทธิภาพของราเอนโดไฟท์ (KUFA 43) (ก-ช) และ *Pestalotiopsis* sp. (KUFA 44) (ฅ-ณ) (ซ้าย) ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช (ขวา) เมื่อทดสอบด้วยวิธี dual culture

- | | | |
|-----------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|
| ก <i>Phytophthora palmivora</i> | ข <i>Pythium aphanidermatum</i> | ค <i>Colletotrichum capsici</i> |
| ง <i>Lasiodiplodia theobromae</i> | จ <i>Rhizoctonia solani</i> | ฉ <i>Sclerotium rolfsii</i> |
| ช <i>Alternaria solani</i> | ช <i>Helminthosporium maydis</i> | ฅ <i>Phytophthora palmivora</i> |
| ญ <i>Pythium aphanidermatum</i> | ฉ <i>Colletotrichum capsici</i> | ฉ <i>Lasiodiplodia theobromae</i> |
| ฎ <i>Fusarium oxysporum</i> | ท <i>Rhizoctonia solani</i> | ฒ <i>Sclerotium rolfsii</i> |
| ณ <i>Alternaria solani</i> | | |



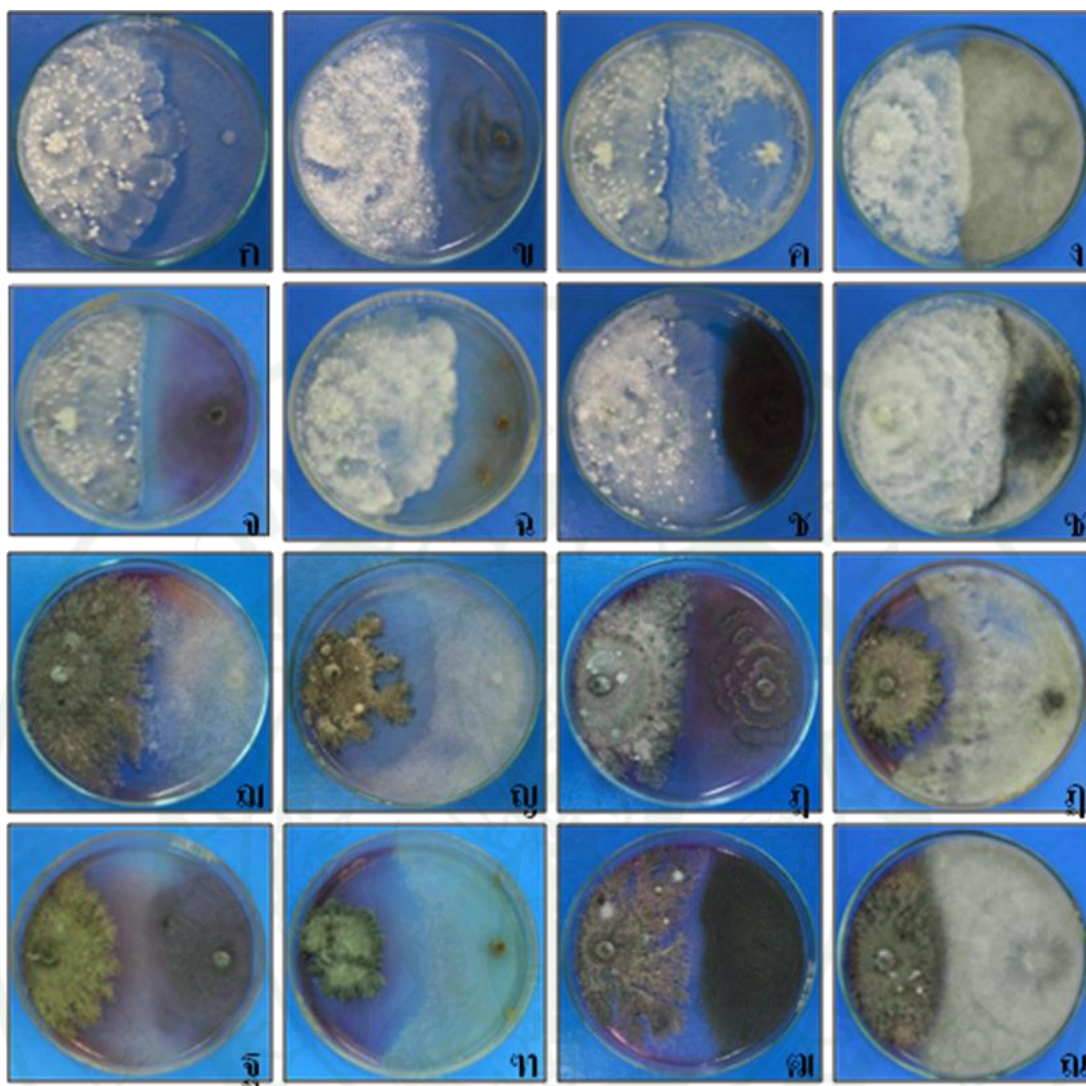
ภาพที่ 22 ประสิทธิภาพของราเอนโดไฟท์ *Talaromyces trachyspermus* (KUFA 45) (ก-ช) และ *Neosartorya* sp. (KUFA 46) (ฅ-ฒ) (ซ้าย) ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช (ขวา) เมื่อทดสอบด้วยวิธี dual culture

- | | | |
|---|---|-----------------------------|
| ก <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> | ข <i>Alternaria solani</i> | ค <i>Sclerotium rolfsii</i> |
| ง <i>Fusarium oxysporum</i> | จ <i>Helminthosporium maydis</i> | ฉ <i>Rhizoctonia solani</i> |
| ช <i>Phytophthora palmivora</i> | ชล <i>Rhizoctonia solani</i> | ฅ <i>Alternaria solani</i> |
| ฌ <i>Colletotrichum capsici</i> | ญ <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> | |
| ฎ <i>Pythium aphanidermatum</i> | ฏ <i>Sclerotium rolfsii</i> | ฐ <i>Fusarium oxysporum</i> |
| ฑ <i>Helminthosporium maydis</i> | ฒ <i>Phytophthora palmivora</i> | |



ภาพที่ 23 ประสิทธิภาพของราเอนโดไฟท์ *Neosartorya* sp. (KUFA 47) (ก-ช) และ *Fusarium* sp. (KUFA 48) (ฅ-ณ) (ซ้าย) ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช (ขวา) เมื่อทดสอบด้วยวิธี dual culture

- | | | |
|---|-----------------------------------|----------------------------------|
| ก <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> | ข <i>Fusarium oxysporum</i> | ค <i>Helminthosporium maydis</i> |
| ง <i>Phytophthora palmivora</i> | จ <i>Sclerotium rolfsii</i> | ฉ <i>Rhizoctonia solani</i> |
| ช <i>Colletotrichum capsici</i> | ซ <i>Pythium aphanidermatum</i> | ณ <i>Pythium aphanidermatum</i> |
| ญ <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> | ฎ <i>Lasiodiplodia theobromae</i> | ฏ <i>Fusarium oxysporum</i> |
| ฐ <i>Rhizoctonia solani</i> | ฑ <i>Sclerotium rolfsii</i> | ฒ <i>Alternaria solani</i> |
| ณ <i>Helminthosporium maydis</i> | | |



ภาพที่ 24 ประสิทธิภาพของราเอนโดไฟท์ *Pestalotiopsis* sp. (KUFA 39) (ก-ช) และ *Nigrospora* sp. (KUFA 40) (ฅ-ณ) (ซ้าย) ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช (ขวา) เมื่อทดสอบด้วยวิธี dual culture

- | | | |
|-----------------------------------|-----------------------------------|---|
| ก <i>Pythium aphanidermatum</i> | ข <i>Colletotrichum capsici</i> | ค <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> |
| ง <i>Helminthosporium maydis</i> | จ <i>Fusarium oxysporum</i> | ฉ <i>Rhizoctonia solani</i> |
| ช <i>Alternaria solani</i> | ซ <i>Lasiodiplodia theobromae</i> | |
| ฅ <i>Phytophthora palmivora</i> | ญ <i>Pythium aphanidermatum</i> | ฉ <i>Colletotrichum capsici</i> |
| ฎ <i>Lasiodiplodia theobromae</i> | ฐ <i>Fusarium oxysporum</i> | ท <i>Rhizoctonia solani</i> |
| ฒ <i>Alternaria solani</i> | ณ <i>Helminthosporium maydis</i> | |

3. ผลของสารสกัดหยาบราเอนโดไฟท์ที่เจริญร่วมกับพืชป่าชายเลน 5 ชนิดในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืช 10 ชนิด

ผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบของราเอนโดไฟท์ จำนวน 5 ชนิด ได้แก่ 1.) *Talaromyces trachyspermus* (KUFA 35) แยกจากใบหาวขลิ้ง 2.) *Eurotium chevalieri* (KUFA 39) แยกจากกิ่งลำพู 3.) *Neosartorya* sp. (KUFA 41) แยกจากใบเทพี 4.) *Neosartorya* sp. (KUFA 47) แยกจากกิ่งตะบัน และ 5.) *Nigrospora* sp. (KUFA 51) แยกจากกิ่งเหียงอกปลาหมอคอกม่วง ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช 10 ชนิด ได้แก่ *Phytophthora palmivora*, *Pythium aphanidermatum*, *Colletotrichum capsici*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Lasioidiplodia theobromae*, *Alternaria solani*, *Fusarium oxysporum*, *Helminthosporium maydis*, *Rhizoctonia solani* และ *Sclerotium rolfsii* พบว่าสารสกัดหยาบจากรา *Talaromyces trachyspermus* (KUFA 35) และ *Eurotium chevarii* (KUFA 39) มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช *Phytophthora palmivora* ได้ 97 เปอร์เซ็นต์ และ 68 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ที่ความเข้มข้น 1,000 ppm ขณะที่ความเข้มข้น 10,000 ppm สารสกัดจากราเอนโดไฟท์ทุกชนิดยกเว้น *Nigrospora* sp. (KUFA 50) สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืชใน Class Oomycetes ได้แก่ *Phytophthora palmivora* และ *Pythium aphanidermatum* ได้ 100 เปอร์เซ็นต์

ผลการทดสอบสารสกัดของราเอนโดไฟท์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช ใน Class Coelomycetes พบว่าที่ความเข้มข้น 1,000 ppm ของสารสกัดจากรา *Talaromyces trachyspermus* (KUFA 35) และ *Neosartorya* sp. (KUFA 41) สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Colletotrichum* spp. ได้มากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ และสารสกัดหยาบของรา *Talaromyces trachyspermus* (KUFA 35) และ *Eurotium chevalieri* (KUFA 39) สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Lasioidiplodia theobromae* ได้มากกว่า 60 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่ความเข้มข้น 10,000 ppm สารสกัดหยาบจากรา *Talaromyces trachyspermus* (KUFA 35), *Eurotium chevalieri* (KUFA 39) และ *Neosartorya* sp. (KUFA 41) สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Colletotrichum* spp. ได้ 100 เปอร์เซ็นต์ และมีเพียงสารสกัดหยาบจากรา *Eurotium chevalieri* (KUFA 39) และ *Neosartorya* sp. (KUFA 41) ที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Lasioidiplodia theobromae* ได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ที่ความเข้มข้น 10,000 ppm จากผลการทดสอบยังพบว่าสารสกัดจากรา *Talaromyces trachyspermus* (KUFA 35) มีประสิทธิภาพดี ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราสาเหตุโรคพืช ใน Class Hyphomycetes (*Alternaria solani*, *Fusarium oxysporum* และ *Helminthosporium*

maydis) โดยสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืชในกลุ่มดังกล่าวได้มากกว่า 60 เปอร์เซ็นต์ ที่ความเข้มข้น 1,000 ppm ในขณะที่ความเข้มข้น 10,000 ppm สารสกัดหยาบของรา *Talaromyces trachyspermus* (KUFA 35), *Eurotium chevalieri* (KUFA 39) และ *Neosartorya* sp. (KUFA 41) สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราสาเหตุโรคพืช *Alternaria solani* ได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ส่วนสารสกัดหยาบของรา *Eurotium chevalieri* (KUFA 39), *Neosartorya* sp. (KUFA 41) และ *Neosartorya* sp. (KUFA 47) สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* และ *Helminthosporium maydis* ได้ 100 เปอร์เซ็นต์

ผลการทดสอบสารสกัดของราเอนโดไฟท์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช ใน Class Agonomycetes พบว่าสารสกัดจากรา *Talaromyces trachyspermus* (KUFA 35) มีประสิทธิภาพสูงในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Rhizoctonia solani* โดยสามารถยับยั้งได้มากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ ที่ความเข้มข้นเพียง 100 ppm และยับยั้งได้มากกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ ที่ความเข้มข้น 1,000 ppm นอกจากนี้ยังพบว่ามีสารสกัดจากราเอนโดไฟท์ชนิดนี้ และ *Neosartorya* sp. (KUFA 41) สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Sclerotium rolfsii* ได้มากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ ที่ความเข้มข้น 1,000 ppm ในขณะที่ความเข้มข้น 10,000 ppm พบว่าสารสกัดหยาบจากรา *Eurotium chevalieri* (KUFA 39) และ *Neosartorya* spp. (KUFA 41 และ 47) สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราสาเหตุโรคพืช ใน Class Agonomycetes (*Rhizoctonia solani* และ *Sclerotium rolfsii*) ได้ 100 เปอร์เซ็นต์

จากผลการทดลองในภาพรวมพบว่าสารสกัดจากรา *Talaromyces trachyspermus* (KUFA 35) มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืช รองลงมาได้แก่ *Eurotium chevalieri* (KUFA 39), *Neosartorya* sp. (KUFA 41), *Neosartorya* sp. (KUFA 47) และ *Nigrospora* sp. (KUFA 50) ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับ รายงานการสร้างสาร trachyspic จากรา *Talaromyces trachyspermus* ซึ่งมีฤทธิ์ยับยั้งการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็งรวมถึง Madi et al. (1997) รายงานว่ารา *Talaromyces flavus* สามารถควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืชหลายชนิด ได้แก่ *Verticillium dahlia* สาเหตุโรคเหี่ยวของมะเขือ และ *Sclerotium rolfsii* สาเหตุโรคโคนเน่าของถั่ว ทั้งนี้ยังพบรายงานเกี่ยวกับรา *Neosartorya* สามารถควบคุมการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืชได้ เช่น Eamvijan et al. (2009) รายงานว่า *Neosartorya* spp. ที่แยกจากดินในประเทศไทยสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช *Bipolaris maydis*, *Colletotrichum capsici*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Fusarium oxysporum* และ *Pestalotiopsis* sp. ได้

นอกจากนี้ยังมีรายงานการสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากราเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากพืชป่าชายเลนจำนวนมาก Li *et al.* (2009) รายงานสารชนิดใหม่ 4 ชนิดที่สร้างโดยรา *Eurotium rubrum* ซึ่งแยกได้จากลำต้นของต้นปอทะเล (*Hibiscus tiliaceus*) ได้แก่ bisdihydroanthracenone derivative (eurorubrin), secoanthraquinone derivatives [2-O-methyl-9-dehydroxyeurotinone 4, 2-O-methyl- 4-O-(alpha-D-ribofuranosyl)-9-dehydroxyeurotinone] และ anthraquinone glycoside [6, 3-O-(alpha-D-ribofuranosyl)-questin] ขณะที่ Shin *et al.* (2006) รายงานว่ารา *Neosartorya spinosa* สามารถสร้าง ferulic acid และเอนไซม์ cellulase, hemicellulose และ xylanase จากเศษเหลือของข้าวโพดพบว่า ferulic acid เป็นสารตั้งต้นในกระบวนการสังเคราะห์ vanillin ซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) ที่ใช้กันในอุตสาหกรรมอาหาร และทางการแพทย์ Huang *et al.* (2008) ศึกษาประสิทธิภาพของสาร phomopsins (A-C) และ cytosporone B และ C จากรา *Phomopsis* sp. ZSU-H76 ที่แยกได้จากต้นตาลทะเล (*Excoecaria agallocha*) ของพืชป่าชายเลนในบริเวณ Dong Zai เมือง Hainan ประเทศจีน ในการควบคุมเชื้อสาเหตุโรคพืชพบว่า cytosporone B และ C สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Candida albicans* และ *Fusarium oxysporum* ได้ นอกจากนี้ Buatong *et al.* (2011) รายงานสารจากราเอนโดไฟท์ที่แยกจากพืชป่าชายเลนจำนวน 12 ชนิด และคัดเลือกราเอนโดไฟท์ที่ผลิตสารยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์สาเหตุโรคของมนุษย์จาก 150 สายพันธุ์ พบว่า 92 สายพันธุ์ มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* โดยสามารถยับยั้งการเจริญได้สูงสุด 61.3 เปอร์เซ็นต์ และต่ำสุด 28.32 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดหยาบของรา *Phomopsis* sp. ที่แยกจากต้นโกก้างใบเล็กมีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวก ยีสต์ และ *Microsporium gypseum* ที่ความเข้มข้นต่ำสุดที่ 8-32 $\mu\text{g/ml}$

ตารางที่ 7 เปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช 10 ชนิด โดยสารสกัดจากรา *Talaromyces trachyspermus* (KUFA 35) บนอาหาร PDA

เชื้อราสาเหตุโรคพืช	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืช ที่ความเข้มข้นต่างๆ (ppm)				
	10,000	1,000	100	10	1
<u>Oomycetes</u>					
<i>Phytophthora palmivora</i>	100	97.4	0	0	0
<i>Pythium aphanidermatum</i>	100	26	0	0	0
ค่าเฉลี่ย	100	61.7	0	0	0
<u>Coelomycetes</u>					
<i>Colletotrichum capsici</i>	100	95.2	0	0	0
<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	100	46.1	0	0	0
<i>Lasiodiplodia theobromae</i>	82	64.1	0	0	0
ค่าเฉลี่ย	94	68.47	0	0	0
<u>Hyphomycetes</u>					
<i>Alternaria solani</i>	100	80	0	0	0
<i>Fusarium oxysporum</i>	75.6	64.1	14.4	0	0
<i>Helminthosporium maydis</i>	93	74.1	46.3	37.2	22.2
ค่าเฉลี่ย	89.53	72.73	20.23	12.4	7.4
<u>Agonomycetes</u>					
<i>Rhizoctonia solani</i>	96.3	82.6	53	0	0
<i>Sclerotium rolfsii</i>	61.1	53.9	0	0	0
ค่าเฉลี่ย	78.7	68.25	26.5	0	0

ตารางที่ 8 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช 10 ชนิด โดยสารสกัดจากรา *Eurotium chevalieri* (KUFA 39) บนอาหาร PDA

เชื้อราสาเหตุโรคพืช	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืช ที่ความเข้มข้นต่างๆ (ppm)				
	10,000	1,000	100	10	1
<u>Oomycetes</u>					
<i>Phytophthora palmivora</i>	100	68.5	0	0	0
<i>Pythium aphanidermatum</i>	100	32.2	0	0	0
ค่าเฉลี่ย	100	50.35	0	0	0
<u>Coelomycetes</u>					
<i>Colletotrichum capsici</i>	100	27	0	0	0
<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	100	0	0	0	0
<i>Lasiodiplodia theobromae</i>	100	70	0	0	0
ค่าเฉลี่ย	100	32.33	0	0	0
<u>Hyphomycetes</u>					
<i>Alternaria solani</i>	100	31.5	0	0	0
<i>Fusarium oxysporum</i>	100	46.6	0	0	0
<i>Helminthosporium maydis</i>	100	31.5	0	0	0
ค่าเฉลี่ย	100	36.53	0	0	0
<u>Agonomycetes</u>					
<i>Rhizoctonia solani</i>	100	0	0	0	0
<i>Sclerotium rolfsii</i>	100	13.7	0	0	0
ค่าเฉลี่ย	100	6.85	0	0	0

ตารางที่ 9 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช 10 ชนิด โดยสารสกัดจากรา *Neosartorya* sp. (KUFA 41) บนอาหาร PDA

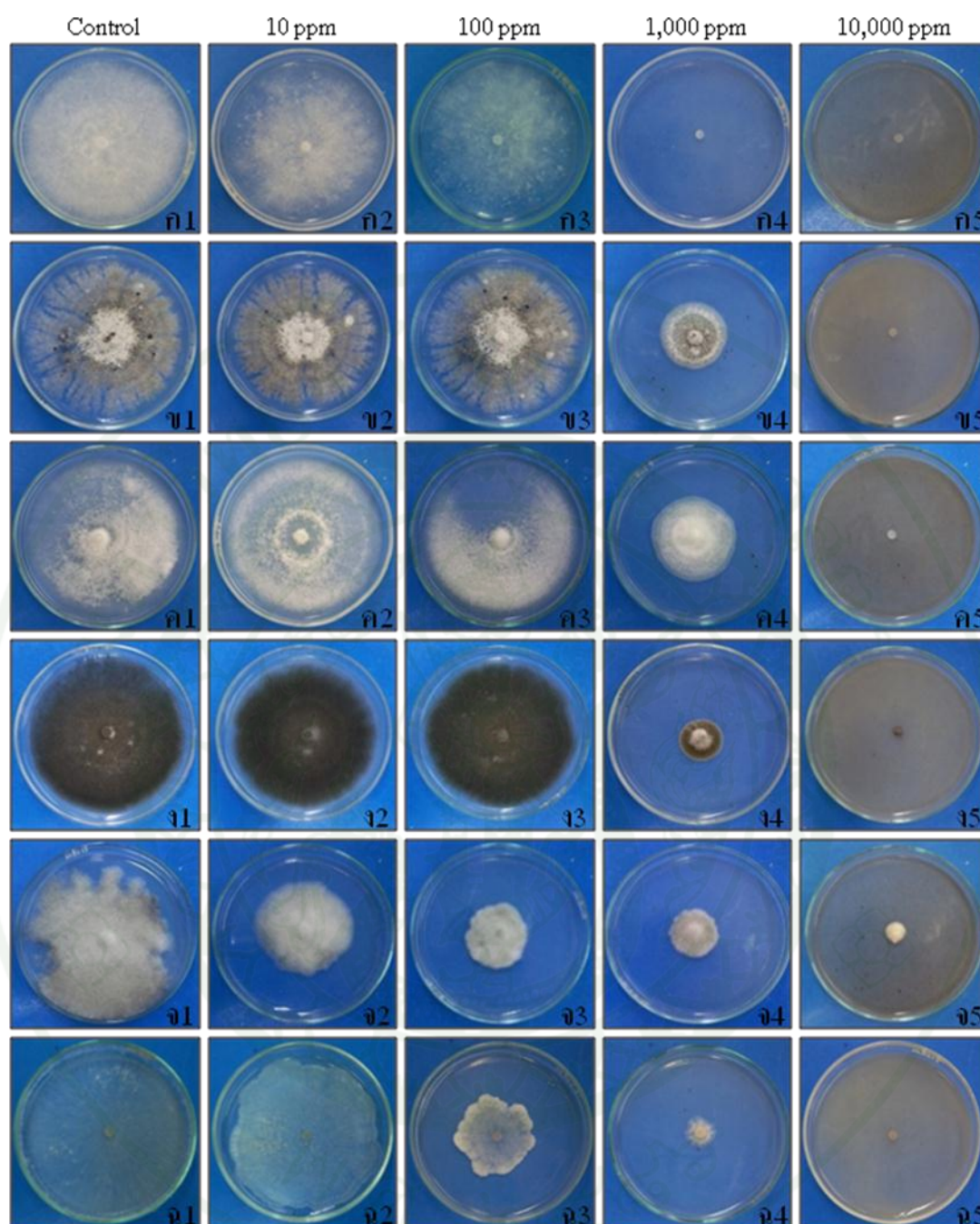
เชื้อราสาเหตุโรคพืช	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืช ที่ความเข้มข้นต่างๆ (ppm)				
	10,000	1,000	100	10	1
<u>Oomycetes</u>					
<i>Phytophthora palmivora</i>	100	0	0	0	0
<i>Pythium aphanidermatum</i>	100	0	0	0	0
ค่าเฉลี่ย	100	0	0	0	0
<u>Coelomycetes</u>					
<i>Colletotrichum capsici</i>	100	0	0	0	0
<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	100	54.5	5.5	0	0
<i>Lasiodiplodia theobromae</i>	100	0	0	0	0
ค่าเฉลี่ย	100	18.17	1.83	0	0
<u>Hyphomycetes</u>					
<i>Alternaria solani</i>	100	18.5	14.8	0	0
<i>Fusarium oxysporum</i>	100	0	0	0	0
<i>Helminthosporium maydis</i>	100	0	0	0	0
ค่าเฉลี่ย	100	6.17	4.93	0	0
<u>Agonomycetes</u>					
<i>Rhizoctonia solani</i>	100	0	0	0	0
<i>Sclerotium rolfsii</i>	100	54.85	0	0	0
ค่าเฉลี่ย	100	27.42	0	0	0

ตารางที่ 10 เปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช 10 ชนิด โดยสารสกัดจากรา *Neosartorya* sp. (KUFA 47) บนอาหาร PDA

เชื้อราสาเหตุโรคพืช	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืช ที่ความเข้มข้นต่างๆ (ppm)				
	10,000	1,000	100	10	1
<u>Oomycetes</u>					
<i>Phytophthora palmivora</i>	100	8.3	0	0	0
<i>Pythium aphanidermatum</i>	100	0	0	0	0
ค่าเฉลี่ย	100	4.15	0	0	0
<u>Coelomycetes</u>					
<i>Colletotrichum capsici</i>	60.37	38.89	0	0	0
<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	100	13.3	0	0	0
<i>Lasiodiplodia theobromae</i>	65.92	0	0	0	0
ค่าเฉลี่ย	75.43	14.40	0	0	0
<u>Hyphomycetes</u>					
<i>Alternaria solani</i>	75.9	24.4	0	0	0
<i>Fusarium oxysporum</i>	100	0	0	0	0
<i>Helminthosporium maydis</i>	100	33.3	22.2	0	0
ค่าเฉลี่ย	91.97	19.23	7.4	0	0
<u>Agonomycetes</u>					
<i>Rhizoctonia solani</i>	100	27.77	0	0	0
<i>Sclerotium rolfsii</i>	100	0	0	0	0
ค่าเฉลี่ย	100	13.89	0	0	0

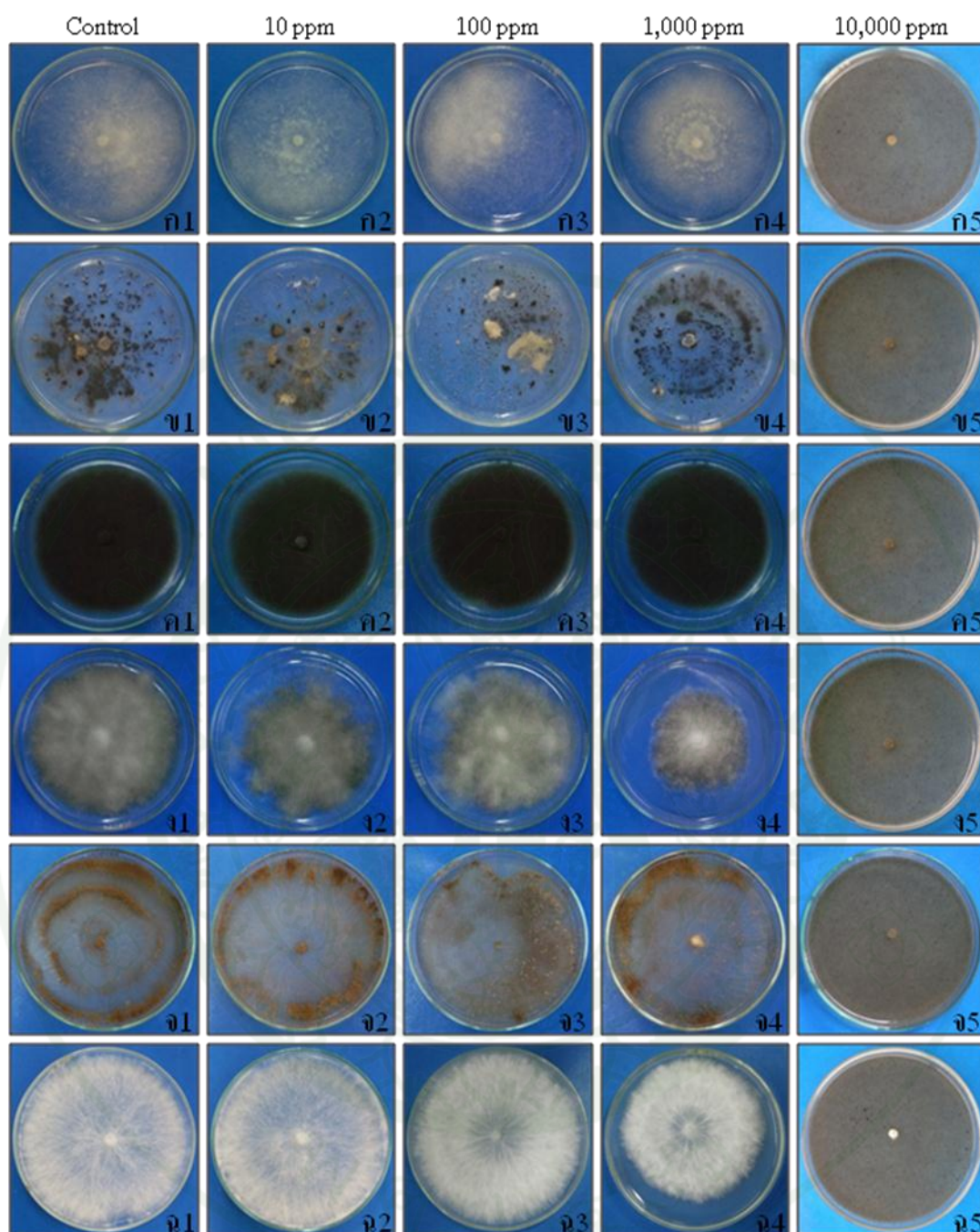
ตารางที่ 11 เปร้รเห็นต์ยั้บยั้งการเจริญเชื้อราสาเหตุโรคพืช 10 ชนิด โดยสารสกัดจากรา *Nigrospora* sp. (KUFA 50) บนอาหาร PDA

เชื้อราสาเหตุโรคพืช	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืช ที่ความเข้มข้นต่างๆ (ppm)				
	10,000	1,000	100	10	1
<u>Oomycetes</u>					
<i>Phytophthora palmivora</i>	67.77	42.96	0	0	0
<i>Pythium aphanidermatum</i>	54.44	0	0	0	0
ค่าเฉลี่ย	61.11	21.48	0	0	0
<u>Coelomycetes</u>					
<i>Colletotrichum capsici</i>	50.74	38.89	0	0	0
<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	36.29	24.07	0	0	0
<i>Lasiodiplodia theobromae</i>	75.5	35.55	0	0	0
ค่าเฉลี่ย	54.18	62.21	0	0	0
<u>Hyphomycetes</u>					
<i>Alternaria solani</i>	48.9	27.8	0	0	0
<i>Fusarium oxysporum</i>	53.7	0	0	0	0
<i>Helminthosporium maydis</i>	53.9	41.48	38.9	27.8	0
ค่าเฉลี่ย	52.17	23.09	19.97	9.27	0
<u>Agonomycetes</u>					
<i>Rhizoctonia solani</i>	68.5	35.92	0	0	0
<i>Sclerotium rolfsii</i>	65	27.7	0	0	0
ค่าเฉลี่ย	66.75	31.81	0	0	0



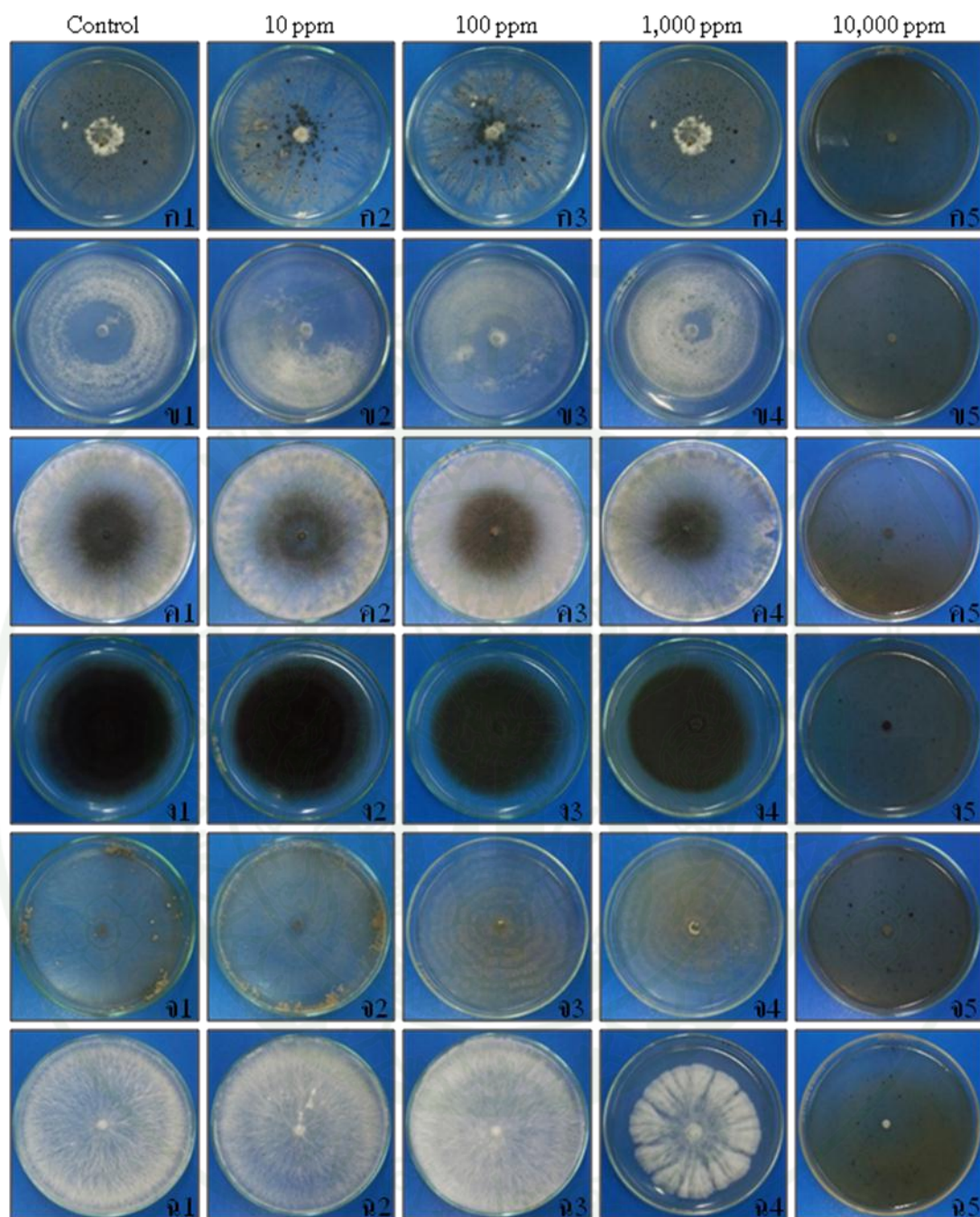
ภาพที่ 25 ประสิทธิภาพของสารสกัดของราเอนโดไฟท์ *Talaromyces trachyspermus* (KUFA 35) ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืชที่ความเข้มข้น 10,000 1,000 100 10 ppm เปรียบเทียบกับชุดควบคุม (control) เมื่อทดสอบด้วยวิธี dilution plate

ก1 – ก5 *Phytophthora palmivora* ข1 – ข5 *Colletotrichum capsici*
 ค1 – ค5 *Colletotrichum gloeosporioides* ง1 – ง5 *Alternaria solani*
 จ1 – จ5 *Helminthosporium maydis* ฉ1 – ฉ5 *Rhizoctonia solan*



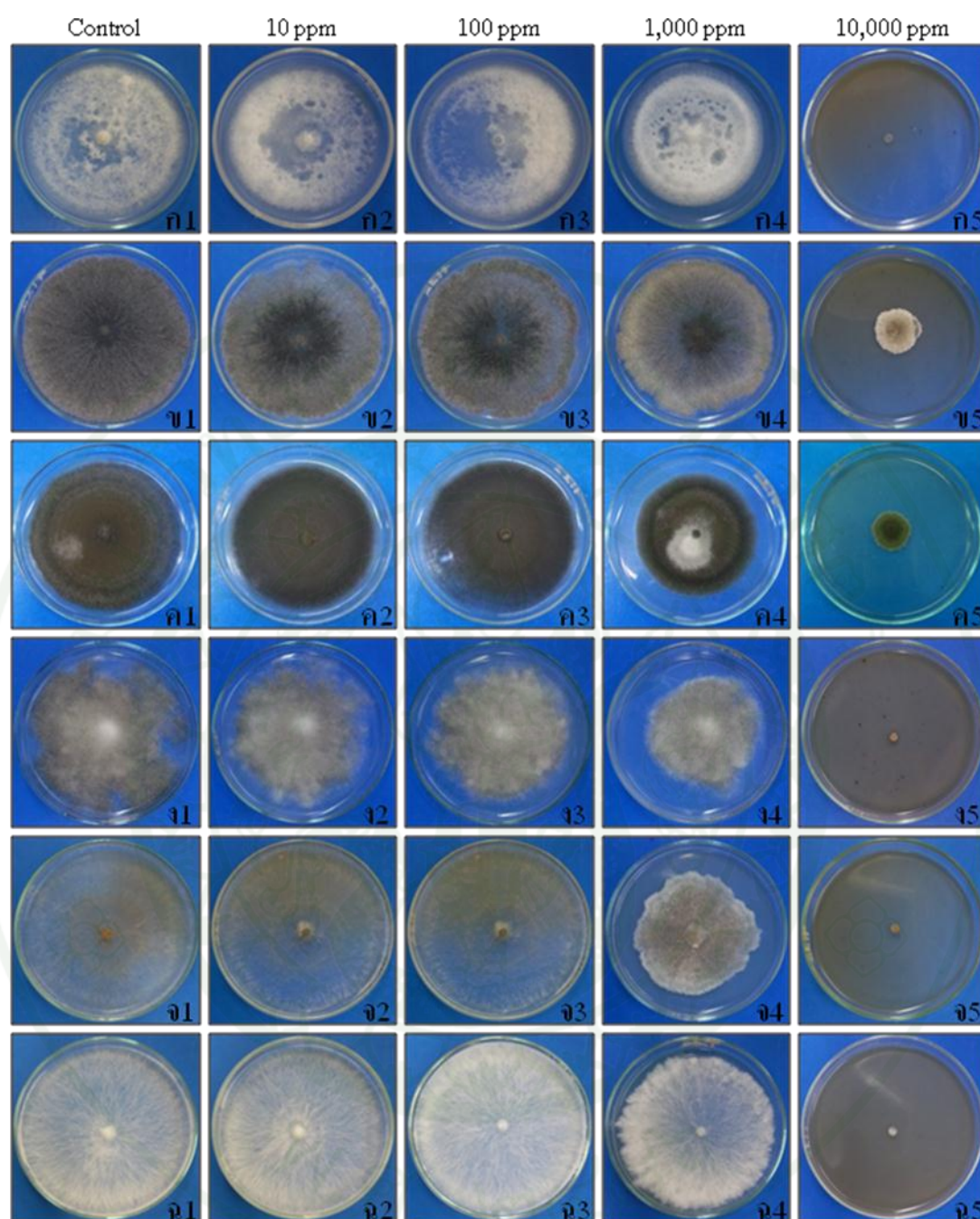
ภาพที่ 26 ประสิทธิภาพของสารสกัดของราเอนโดไฟท์ *Eurotium chevalieri* (KUFA 39) ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืชที่ความเข้มข้น 10,000 1,000 100 10 ppm เปรียบเทียบกับชุดควบคุม (control) เมื่อทดสอบด้วยวิธี dilution plate

ก1 – ก5 *Phytophthora palmivora* ข1 – ข5 *Colletotrichum capsici*
 ก1 – ก5 *Alternaria solani* ง1 – ง5 *Helminthosporium maydis*
 จ1 – จ5 *Rhizoctonia solani* ฉ1 – ฉ5 *Sclerotium rolfsii*



ภาพที่ 27 ประสิทธิภาพของสารสกัดของราเอ็นโดไฟท์ *Neosartorya* sp. (KUFA 41) ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืชที่ความเข้มข้น 10,000 1,000 100 10 ppm เปรียบเทียบกับชุดควบคุม (control) เมื่อทดสอบด้วยวิธี dilution plate

ก1 – ก5 <i>Colletotrichum capsici</i>	ข1 – ข5 <i>Colletotrichum gloeosporioides</i>
ค1 – ค5 <i>Lasiodiplodia theobromae</i>	ง1 – ง5 <i>Alternaria solani</i>
จ1 – จ5 <i>Rhizoctonia solani</i>	ฉ1 – ฉ5 <i>Sclerotium rolfsii</i>



ภาพที่ 28 ประสิทธิภาพของสารสกัดของราเอนโดไฟท์ *Neosartorya* sp. (KUFA 47) ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืชที่ความเข้มข้น 10,000 1,000 100 10 ppm เปรียบเทียบกับชุดควบคุม (control) เมื่อทดสอบด้วยวิธี dilution plate

ก1 – ก5 *Colletotrichum gloeosporioides*

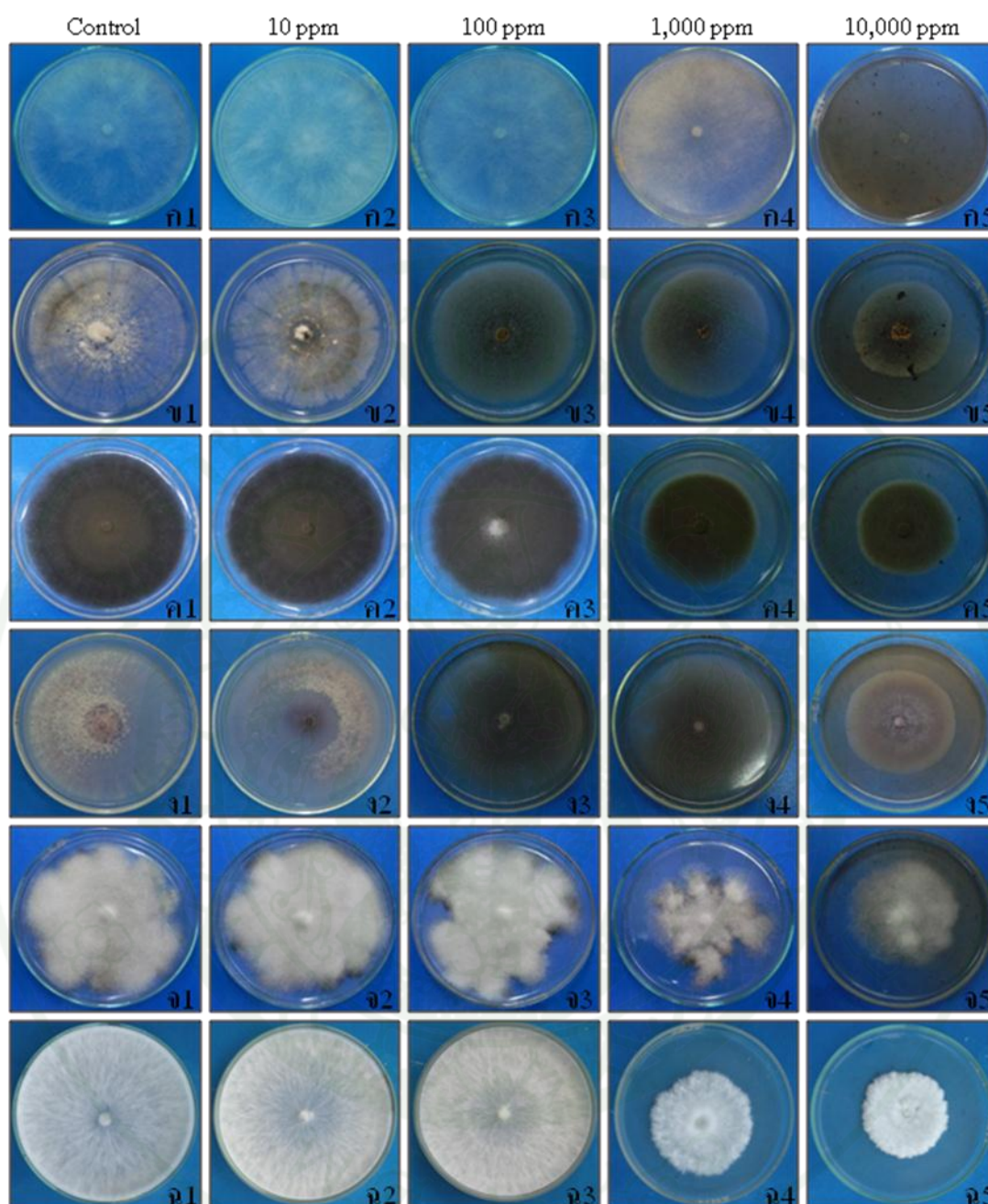
ข1 – ข5 *Lasiodiplodia theobromae*

ค1 – ค5 *Alternaria solani*

จ1 – จ5 *Helminthosporium maydis*

ฉ1 – ฉ5 *Rhizoctonia solani*

ช1 – ช5 *Sclerotium rolfsii*



ภาพที่ 29 ประสิทธิภาพของสารสกัดของราเอนโดไฟท์ *Nigrospora* sp. (KUFA 50) ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืชที่ความเข้มข้น 10,000 1,000 100 10 ppm เปรียบเทียบกับชุดควบคุม (control) เมื่อทดสอบด้วยวิธี dilution plate

ก1 – ก5 *Pythium aphanidermatum*

ข1 – ข5 *Colletotrichum capsici*

ค1 – ค5 *Alternaria solani*

ง1 – ง5 *Fusarium oxysporum*

จ1 – จ5 *Helminthosporium maydis*

ฉ1 – ฉ5 *Sclerotium rolfsii*

4. ผลการแยกสารกึ่งบริสุทธิ์ (fraction) จากสารสกัดหยาบของราเอนโดไฟท์ *Neosartorya* sp.

(KUFA 41) ด้วยวิธี column chromatography

จากการแยกสารกึ่งบริสุทธิ์ (fraction) ของสารสกัดจากราเอนโดไฟท์ *Neosartorya* sp. (KUFA 41) ด้วยวิธี column chromatography โดยใช้สาร petroleum ether, chloroform และ acetone เป็นสารชะ (mobile phase) ในอัตราส่วนต่างๆ สามารถแยกสารกึ่งบริสุทธิ์ ได้ 228 fractions จากนั้นนำสารกึ่งบริสุทธิ์มาตรวจสอบสารบนแผ่น thin layer chromatography (TLC) สามารถจัดเป็นกลุ่มสารได้ 194 กลุ่ม (ตารางที่ 12) (ภาพที่ 30-34)

ตารางที่ 12 ผลการแยกสารกึ่งบริสุทธิ์ (fraction) จากสารสกัดหยาบของรา *Neosartorya* sp.

(KUFA 41) ด้วยวิธี column chromatography

ลำดับ	สารกึ่งบริสุทธิ์ (fraction)	สารชะ	ลักษณะ/สี	น้ำหนัก (mg)
1	1-13	CHCl ₃ : Petrol (5:5)	น้ำมัน/เหลืองอ่อน	0.75
2	14		เหลืองอ่อน	0.2
3	15		เหลืองอ่อน	0.21
4	16		เหลืองอ่อน	0.18
5	17		น้ำมัน/เหลืองเข้ม	0.25
6	18	CHCl ₃ : Petrol (8:2)	เหลืองเข้ม	0.22
7	19-28		ตกผลึก/เหลืองเข้ม	0.34
8	29-36		เหลืองเข้ม	0.25
9	37-42		เหลืองเข้ม	0.21
10	43		เหลืองเข้ม	0.18
11	44		เหลือง	0.1
12	45		เหลือง	0.18
13	46		เหลือง	0.12
14	47		เหลือง	0.08
15	48		เหลือง	0.07
16	49		เหลือง	0.09
17	50		เหลือง	0.07

ตารางที่ 12 (ต่อ)

ลำดับ	สารกึ่งบริสุทธิ์ (fraction)	สารชะ	ลักษณะ/สี	น้ำหนัก (mg)
18	51	CHCl ₃ : Petrol (8:2)	เหลืองเข้ม	0.13
19	52		น้ำมัน/เหลืองเข้ม	0.31
20	53-70		น้ำมัน/เหลืองเข้ม	0.29
21	71-78	CHCl ₃ : Petrol (7:3)	ตกผลึก/ น้ำตาล	0.35
22	79-85		น้ำมัน/น้ำตาล	0.24
23	86-101		น้ำมัน/น้ำตาลเข้ม	0.21
24	102		น้ำตาล	0.18
25	103		น้ำตาล	0.14
26	104		น้ำตาล	0.16
27	105		น้ำตาล	0.19
28	106		น้ำตาล	0.09
29	107		น้ำตาล	0.14
30	108		น้ำตาล	0.12
31	109		น้ำตาล	0.11
32	110		น้ำตาล	0.13
33	111		น้ำตาล	0.12
34	112		น้ำตาลเข้ม	0.22
35	113		น้ำตาลเข้ม	0.19
36	114		น้ำตาลเข้ม	0.24
37	115		น้ำตาลเข้ม	0.18
38	116		ตกผลึก/น้ำตาลเข้ม	0.24
39	117		น้ำตาลเข้ม	0.12
40	118		ตกผลึก/น้ำตาลเข้ม	0.32
41	119		ตกผลึก/น้ำตาลเข้ม	0.34
42	120		ตกผลึก/น้ำตาลเข้ม	0.36
43	121		ตกผลึก/น้ำตาลเข้ม	0.34

ตารางที่ 12 (ต่อ)

ลำดับ	สารกึ่งบริสุทธิ์ (fraction)	สารชะ	ลักษณะ/สี	น้ำหนัก (mg)
44	122	CHCl ₃ : Petrol (7:3)	น้ำมัน/น้ำตาล	0.41
45	123		ตกผลึก/น้ำตาล	0.25
46	124		ตกผลึก/น้ำตาล	0.33
47	125		ตกผลึก/น้ำตาล	0.23
48	126		ตกผลึก/น้ำตาล	0.23
49	127		ตกผลึก/น้ำตาล	0.24
50	128		ตกผลึก/น้ำตาลเข้ม	0.37
51	129		ตกผลึก/น้ำตาลเข้ม	0.41
52	130		ตกผลึก/น้ำตาลเข้ม	0.32
53	131		ตกผลึก/น้ำตาลเข้ม	0.40
54	132	CHCl ₃ : Petrol (7:3)	ตกผลึก/น้ำตาลเข้ม	0.29
55	133		ตกผลึก/น้ำตาล	0.26
56	134		ตกผลึก/น้ำตาล	0.25
57	135		ตกผลึก/น้ำตาล	0.19
58	136		ตกผลึก/เหลืองเข้ม	0.3
59	137		ตกผลึก/เหลืองเข้ม	0.24
60	138		ตกผลึก/เหลืองเข้ม	0.45
61	139		ตกผลึก/เหลืองเข้ม	0.35
62	140		ตกผลึก/น้ำตาล	0.29
63	141		ตกผลึก/น้ำตาล	0.36
64	142		ตกผลึก/น้ำตาล	0.42
65	143		ตกผลึก/น้ำตาล	0.42
66	144		ตกผลึก/น้ำตาล	0.41
67	145		ตกผลึก/น้ำตาล	0.38
68	146		ตกผลึก/น้ำตาล	0.29
69	147		ตกผลึก/น้ำตาล	0.23

ตารางที่ 12 (ต่อ)

ลำดับ	สารกึ่งบริสุทธิ์ (fraction)	สารชะ	ลักษณะ/สี	น้ำหนัก (mg)
70	148	CHCl ₃ : Petrol (7:3)	น้ำตาล	0.25
71	149		ตกผลึก/น้ำตาล	0.29
72	150		น้ำตาล	0.24
73	151		เหลืองเข้ม	0.22
74	152		เหลืองเข้ม	0.29
75	153		ตกผลึก/น้ำตาล	0.26
76	154		ตกผลึก/น้ำตาลเข้ม	0.25
77	155		ตกผลึก/น้ำตาลเข้ม	0.19
78	156		ตกผลึก/น้ำตาลเข้ม	0.3
79	157		ตกผลึก/น้ำตาลเข้ม	0.24
80	158		ตกผลึก/น้ำตาลเข้ม	0.31
81	159		ตกผลึก/น้ำตาลเข้ม	0.24
82	160		ตกผลึก/น้ำตาลเข้ม	0.27
83	161		ตกผลึก/น้ำตาลเข้ม	0.22
84	162		ตกผลึก/น้ำตาลเข้ม	0.21
85	163		ตกผลึก/น้ำตาลเข้ม	0.22
86	164		ตกผลึก/น้ำตาลเข้ม	0.21
87	165		ตกผลึก/น้ำตาล	0.21
88	166		น้ำตาล	0.31
89	167		ตกผลึก/น้ำตาล	0.21
90	168		ตกผลึก/น้ำตาล	0.22
91	169		ตกผลึก/น้ำตาล	0.22
92	170		ตกผลึก/น้ำตาล	0.22
93	171		ตกผลึก/น้ำตาล	0.21
94	172		ตกผลึก/น้ำตาล	0.26
95	173		น้ำตาล	0.21

ตารางที่ 12 (ต่อ)

ลำดับ	สารกึ่งบริสุทธิ์ (fraction)	สารชะ	ลักษณะ/สี	น้ำหนัก (mg)
96	174	CHCl ₃ : Petrol (7:3)	น้ำตาล	0.21
97	175		ตกผลึก/น้ำตาลเข้ม	0.22
98	176		ตกผลึก/น้ำตาลเข้ม	0.24
99	177		ตกผลึก/น้ำตาลเข้ม	0.22
100	178		ตกผลึก/น้ำตาลเข้ม	0.22
101	179		ตกผลึก/น้ำตาลเข้ม	0.23
102	180		ตกผลึก/น้ำตาลเข้ม	0.25
103	181		เหลืองเข้ม	0.14
104	182		เหลืองเข้ม	0.15
105	183		เหลืองเข้ม	0.19
106	184		เหลืองเข้ม	0.21
107	185		เหลืองเข้ม	0.24
108	186		เหลืองเข้ม	0.22
109	187		เหลืองเข้ม	0.19
110	188		เหลืองเข้ม	0.17
111	189		เหลืองเข้ม	0.25
112	190		เหลืองเข้ม	0.26
113	191		เหลืองเข้ม	0.29
114	192		น้ำตาล	0.18
115	193		น้ำตาล	0.21
116	194		น้ำตาล	0.22
117	195		น้ำตาล	0.19
118	196		น้ำตาล	0.16
119	197		น้ำตาล	0.21
120	198		น้ำตาล	0.24
121	199		น้ำตาล	0.22

ตารางที่ 12 (ต่อ)

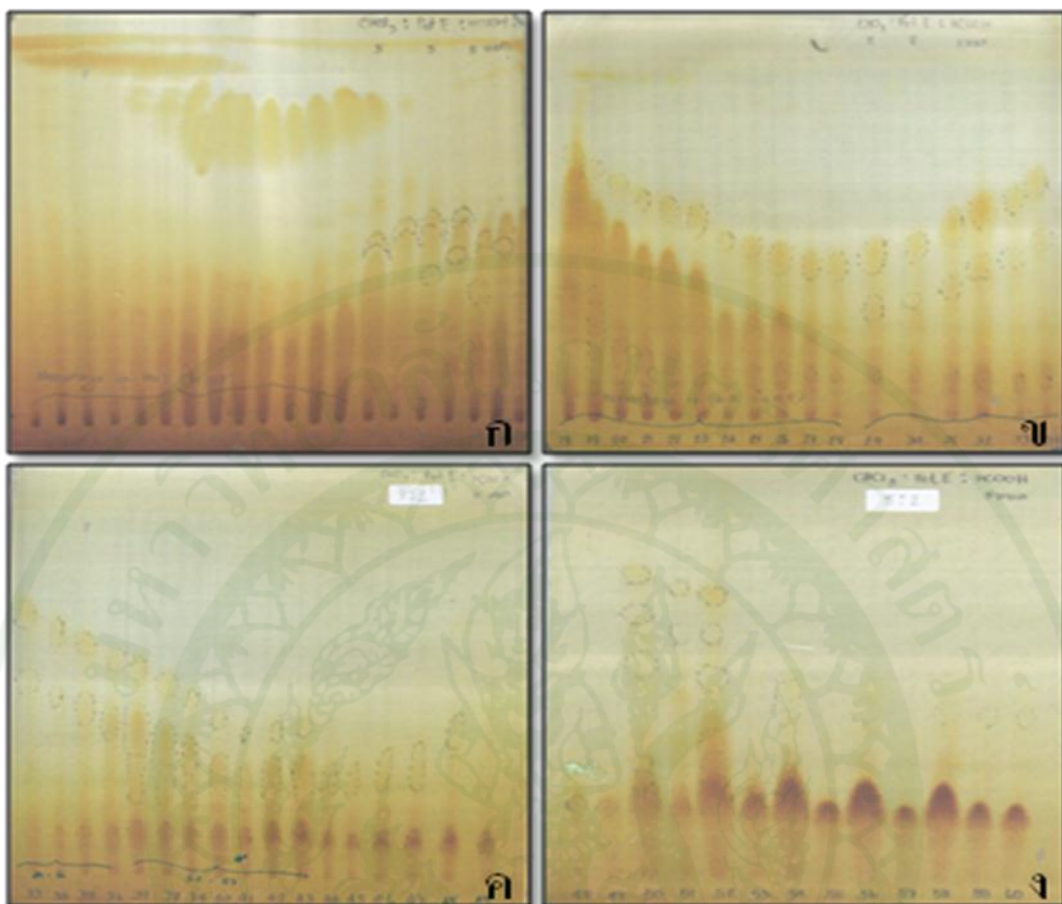
ลำดับ	สารกึ่งบริสุทธิ์ (fraction)	สารชะ	ลักษณะ/สี	น้ำหนัก (mg)
122	200	CHCl ₃ : Petrol (7:3)	น้ำตาล	0.17
123	201		ตกผลึก/น้ำตาล	0.33
124	202		ตกผลึก/น้ำตาล	0.35
125	203		ตกผลึก/น้ำตาล	0.32
126	204		ตกผลึก/น้ำตาล	0.29
127	205		ตกผลึก/น้ำตาล	0.31
128	206		น้ำตาลเข้ม	0.32
129	207		น้ำตาลเข้ม	0.28
130	208		เหลือง	0.16
131	209		เหลืองเข้ม	0.18
132	210		เหลืองเข้ม	0.19
133	211		เหลืองเข้ม	0.17
134	212		เหลืองเข้ม	0.16
135	213		เหลืองเข้ม	0.18
136	214		เหลืองเข้ม	0.14
137	215		เหลืองเข้ม	0.16
138	216		เหลืองเข้ม	0.19
139	217		เหลืองเข้ม	0.18
140	218	CHCl ₃ : Petrol (9:1)	เหลืองเข้ม	0.21
141	219		เหลืองเข้ม	0.22
142	220		เหลืองเข้ม	0.22
143	221		เหลืองเข้ม	0.23
144	222		เหลืองเข้ม	0.22
145	223	CHCl ₃ : Me ₂ CO (9:1)	เหลืองเข้ม	0.24
146	224		เหลืองเข้ม	0.22
147	225		เหลืองเข้ม	0.21

ตารางที่ 12 (ต่อ)

ลำดับ	สารกึ่งบริสุทธิ์ (fraction)	สารชะ	ลักษณะ/สี	น้ำหนัก (mg)
148	226	CHCl ₃ : Me ₂ CO (9:1)	เหลืองเข้ม	0.25
149	227		เหลืองเข้ม	0.18
150	228		เหลืองเข้ม	0.19
151	229		เหลืองเข้ม	0.21
152	230		เหลืองเข้ม	0.18
153	231		เหลือง	0.19
154	232		เหลือง	0.17
155	233		เหลือง	0.16
156	234		น้ำตาลเข้ม	0.18
157	235		น้ำตาลเข้ม	0.14
158	236		น้ำตาลเข้ม	0.16
159	237		เหลืองเข้ม	0.19
160	238		เหลืองเข้ม	0.18
161	239		เหลืองเข้ม	0.19
162	240-256		เหลืองเข้ม	0.21
163	257		น้ำตาลเข้ม	0.18
164	258		น้ำตาล	0.19
165	259		น้ำตาล	0.19
166	260		น้ำตาล	0.21
167	261		น้ำตาล	0.18
168	262		น้ำตาล	0.20
169	263		น้ำตาลเข้ม	2.19
170	264		น้ำตาลเข้ม	0.22
171	265		น้ำตาลเข้ม	0.21
172	266		น้ำตาลเข้ม	0.26
173	267		น้ำตาลเข้ม	0.21

ตารางที่ 12 (ต่อ)

ลำดับ	สารกึ่งบริสุทธิ์ (fraction)	สารชะ	ลักษณะ/สี	น้ำหนัก (mg)
174	268	CHCl ₃ : Me ₂ CO (9:1)	น้ำตาลเข้ม	0.21
175	269		น้ำตาลเข้ม	0.22
176	270		น้ำตาลเข้ม	0.24
177	271		น้ำตาล	0.22
178	272		น้ำตาล	0.22
179	273		น้ำตาล	0.22
180	274		น้ำตาลเข้ม	0.22
181	275		น้ำตาลเข้ม	0.22
182	276		น้ำตาลเข้ม	0.21
183	277		น้ำตาลเข้ม	0.26
184	278		น้ำตาล	0.21
185	279		น้ำตาล	0.21
186	280		น้ำตาล	0.22
187	281		น้ำตาล	0.24
188	282		น้ำตาลเข้ม	0.22
189	283		น้ำตาลเข้ม	0.22
190	284		น้ำตาลเข้ม	0.23
191	285		น้ำตาลเข้ม	0.25
192	286		น้ำตาลเข้ม	0.14
193	287		น้ำตาลเข้ม	0.26
194	288		น้ำตาลเข้ม	0.21



ภาพที่ 30 โครมาโตแกรมของสารกิ่งบริสุทธิ์ (fractions) 1-60 ที่แยกจากสารสกัดหยาบของรา

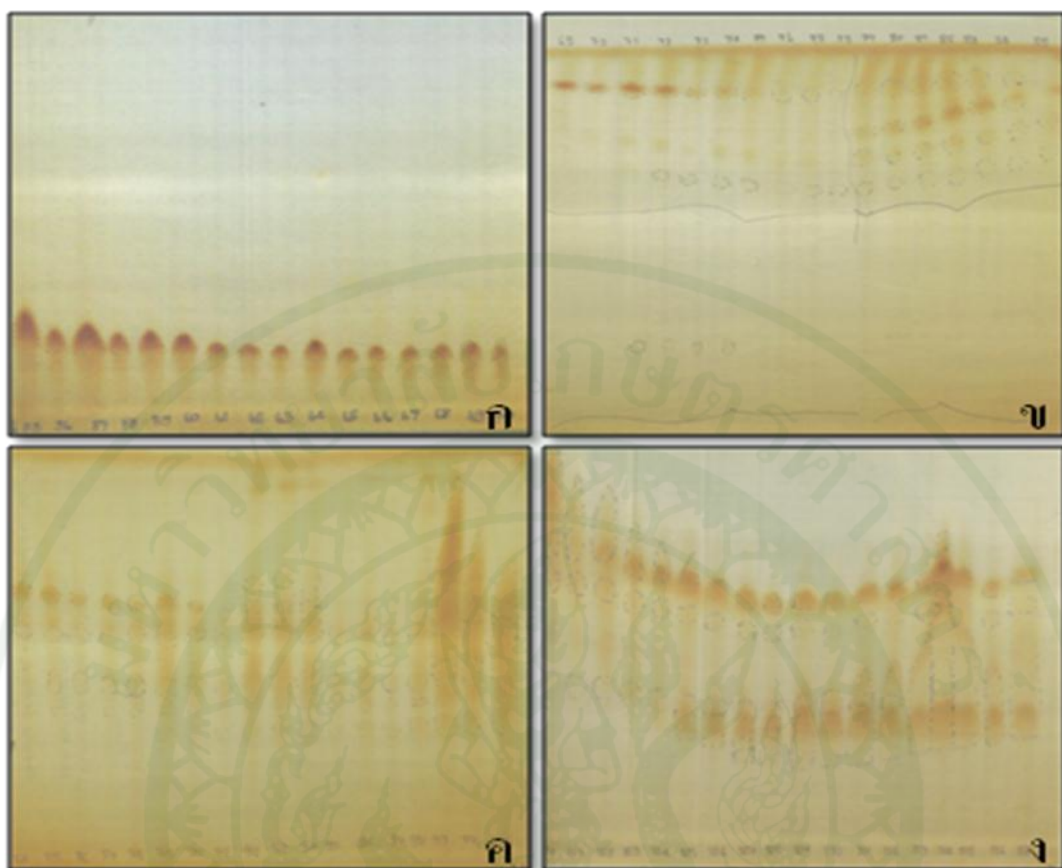
Neosartorya sp. (KUFA 41) เมื่อตรวจสอบด้วยไอโอดีน

ก สารกิ่งบริสุทธิ์ 1-20 ใช้สาร solvent system คือ CHCl_3 : Petrol (5:5)

ข สารกิ่งบริสุทธิ์ 18-34 ใช้สาร solvent system คือ CHCl_3 : Petrol (8:2)

ค สารกิ่งบริสุทธิ์ 33-49 ใช้สาร solvent system คือ CHCl_3 : Petrol (8:2)

ง สารกิ่งบริสุทธิ์ 48-60 ใช้สาร solvent system คือ CHCl_3 : Petrol (8:2)



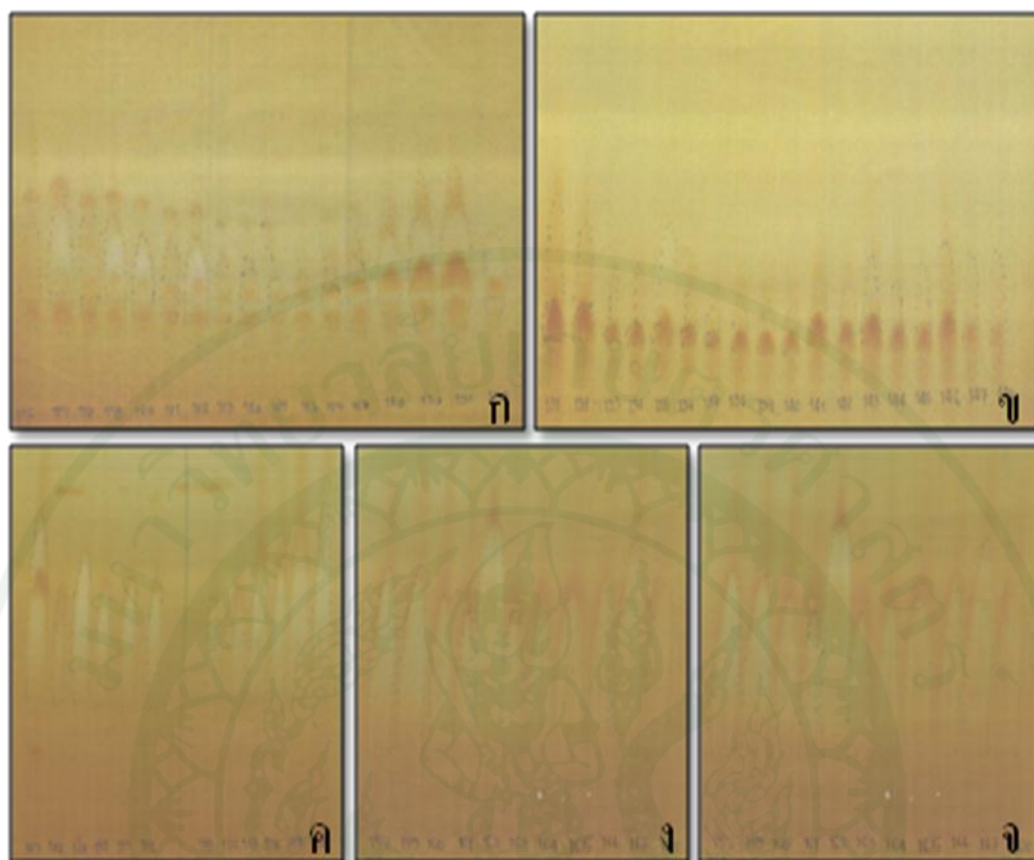
ภาพที่ 31 โครมาโตแกรมของสารกิ่งบริสุทธิ์ (fractions) 55-117 ที่แยกจากสารสกัดหยาบของรา *Neosartorya* sp. (KUFA 41) เมื่อตรวจสอบด้วยไอโอดีน

ก สารกิ่งบริสุทธิ์ 55-70 ใช้สาร solvent system คือ CHCl_3 : Petrol (8:2)

ข สารกิ่งบริสุทธิ์ 69-85 ใช้สาร solvent system คือ CHCl_3 : Petrol (7:3)

ค สารกิ่งบริสุทธิ์ 84-101 ใช้สาร solvent system คือ CHCl_3 : Petrol (7:3)

ง สารกิ่งบริสุทธิ์ 100-117 ใช้สาร solvent system คือ CHCl_3 : Petrol (7:3)



ภาพที่ 32 โครมาโตแกรมของสารกิ่งบริสุทธิ์ (fractions) 116-174 ที่แยกจากสารสกัดหยาบของรา

Neosartorya sp. (KUFA 41) เมื่อตรวจสอบด้วยไอโอดีน

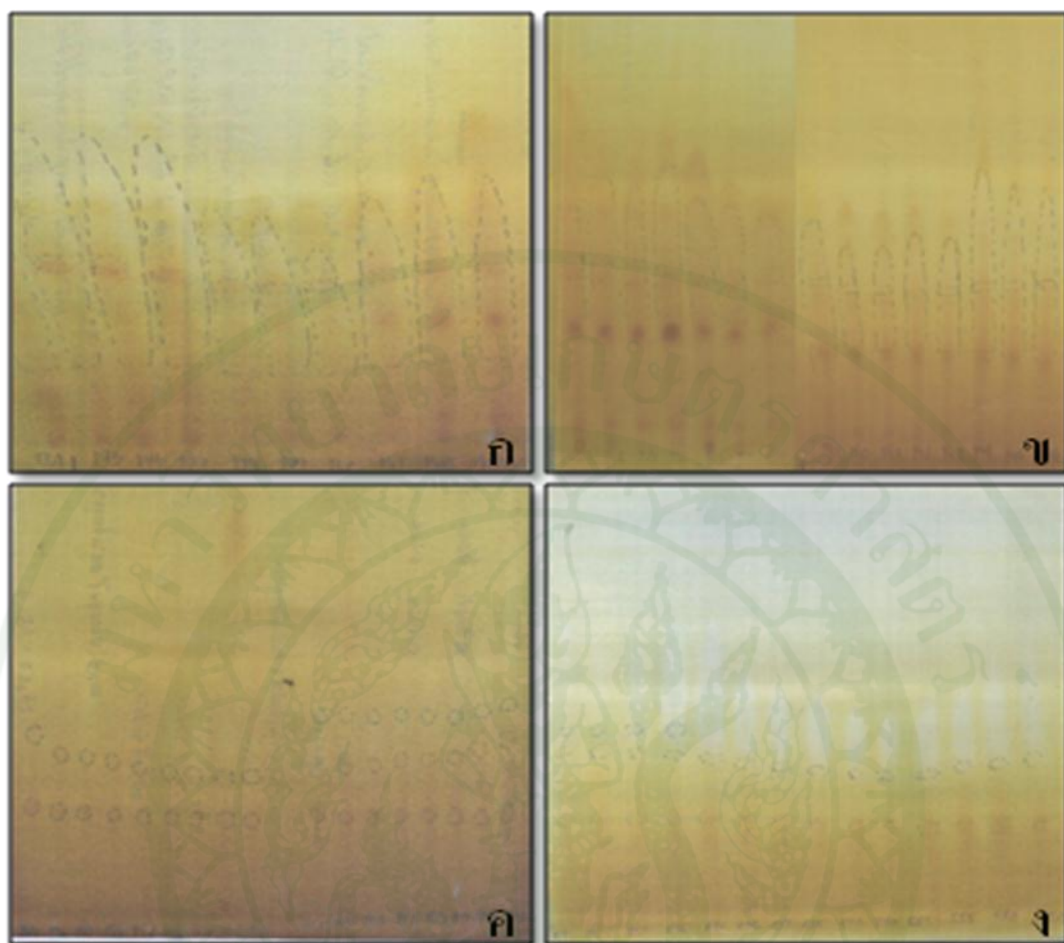
ก สารกิ่งบริสุทธิ์ 116-132 ใช้สาร solvent system คือ CHCl_3 : Petrol (7:3)

ข สารกิ่งบริสุทธิ์ 131-148 ใช้สาร solvent system คือ CHCl_3 : Petrol (7:3)

ค สารกิ่งบริสุทธิ์ 147-158 ใช้สาร solvent system คือ CHCl_3 : Petrol (9:1)

ง สารกิ่งบริสุทธิ์ 158-168 ใช้สาร solvent system คือ CHCl_3 : Petrol (9:1)

จ สารกิ่งบริสุทธิ์ 168-174 ใช้สาร solvent system คือ CHCl_3 : Petrol (9:1)



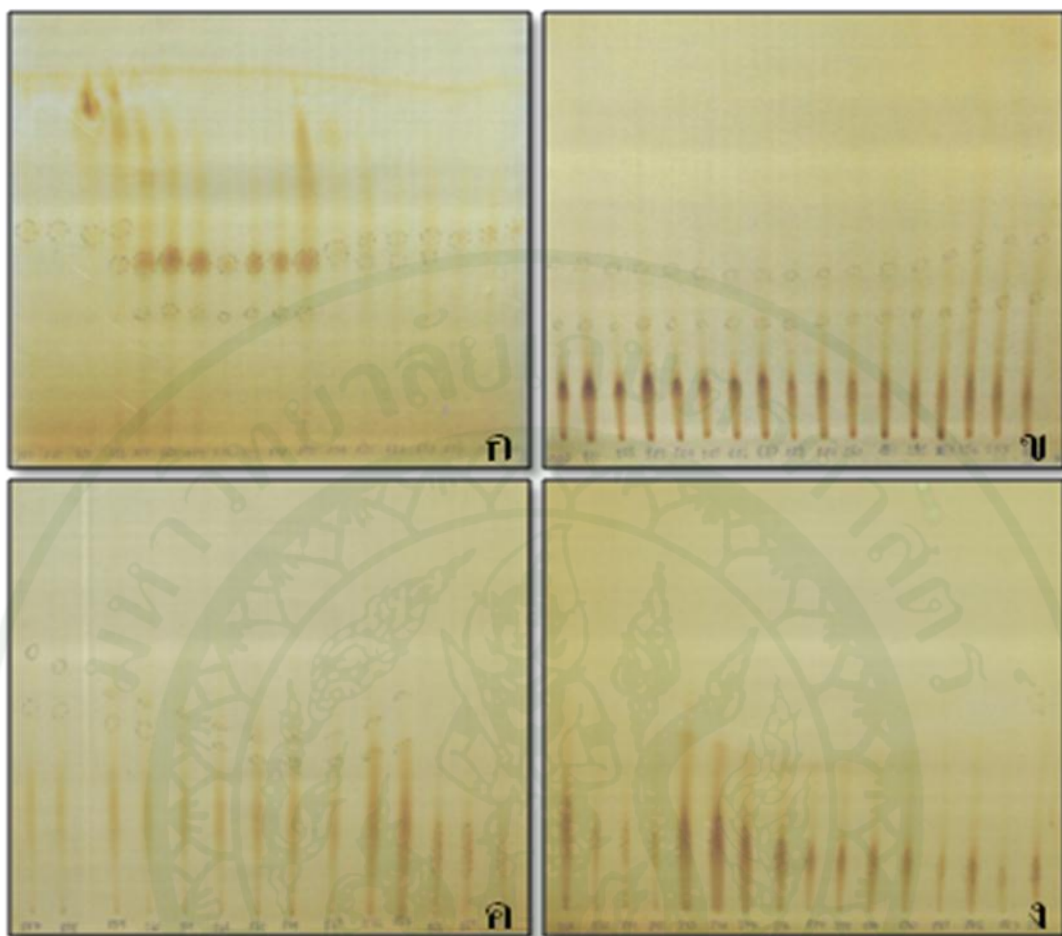
ภาพที่ 33 โครมาโตแกรมของสารกึ่งบริสุทธิ์ (fractions) 174-224 ที่แยกจากสารสกัดหยาบของรา *Neosartorya* sp. (KUFA 41) เมื่อตรวจสอบด้วยไอโอดีน

ก สารกึ่งบริสุทธิ์ 174-183 ใช้สาร solvent system คือ CHCl_3 : Petrol (9:1)

ข สารกึ่งบริสุทธิ์ 183-196 ใช้สาร solvent system คือ CHCl_3 : Petrol (9:1)

ค สารกึ่งบริสุทธิ์ 195-211 ใช้สาร solvent system คือ CHCl_3 : Petrol (8:2)

ง สารกึ่งบริสุทธิ์ 211-224 ใช้สาร solvent system คือ CHCl_3 : Petrol (9:1)



ภาพที่ 34 โครมาโตแกรมของสารกึ่งบริสุทธิ์ (fractions) 223-284 ที่แยกจากสารสกัดหยาบของรา *Neosartorya* sp. (KUFA 41) เมื่อตรวจสอบด้วยไอโอดีน

ก สารกึ่งบริสุทธิ์ 223-240 ใช้สาร solvent system คือ CHCl_3 : Me_2CO (9:1)

ข สารกึ่งบริสุทธิ์ 240-256 ใช้สาร solvent system คือ CHCl_3 : Me_2CO (9:1)

ค สารกึ่งบริสุทธิ์ 257-270 ใช้สาร solvent system คือ CHCl_3 : Me_2CO (9:1)

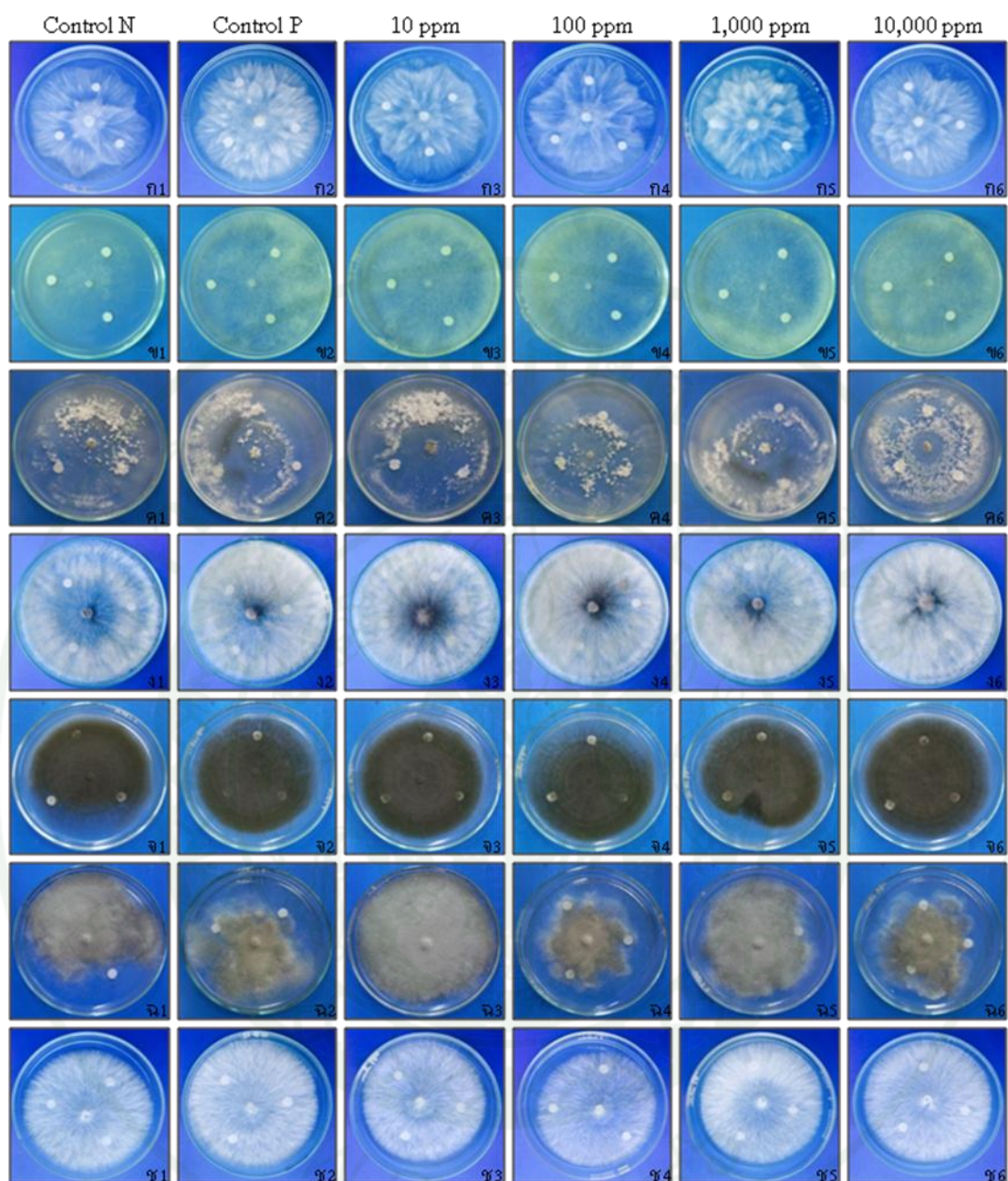
ง สารกึ่งบริสุทธิ์ 269-284 ใช้สาร solvent system คือ CHCl_3 : Me_2CO (9:1)

5. ผลการทดสอบสารกึ่งบริสุทธิ์จากราเอนโดไฟท์ ในการออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช 10 ชนิด ด้วยวิธี paper disc method

ผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารบริสุทธิ์ที่ได้จาก fraction 119 ของรา *Neosartorya* sp. (KUFA 41) พบว่าที่ความเข้มข้นต่างๆ ได้แก่ 10,000 1,000 100 และ 10 ppm ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคได้ทั้ง 10 ชนิด (ตารางที่ 13) (ภาพที่ 35)

ตารางที่ 13 เพอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช 10 ชนิดบนอาหาร PDA โดยสารบริสุทธิ์จากราเอนโดไฟท์ *Neosartorya* sp. (KUFA 41) เมื่อทดสอบด้วยวิธี paper disc method

เชื้อราสาเหตุโรคพืช	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืช โดยสารสกัดที่ความเข้มข้นต่างๆ (ppm)				
	10,000	1,000	100	10	Control
<u>Oomycetes</u>					
<i>Phytophthora palmivora</i>	0	0	0	0	0
<i>Pythium aphanidermatum</i>	0	0	0	0	0
<u>Coelomycetes</u>					
<i>Colletotrichum capsici</i>	0	0	0	0	0
<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	0	0	0	0	0
<i>Lasiodiplodia theobromae</i>	0	0	0	0	0
<u>Hyphomycetes</u>					
<i>Alternaria solani</i>	0	0	0	0	0
<i>Fusarium oxysporum</i>	0	0	0	0	0
<i>Helminthosporium maydis</i>	0	0	0	0	0
<u>Agonomycetes</u>					
<i>Rhizoctonia solani</i>	0	0	0	0	0
<i>Sclerotium rolfsii</i>	0	0	0	0	0



ภาพที่ 35 ประสิทธิภาพของสารบริสุทธิ์จากราเอนโดไฟท์ *Neosartorya* sp. (KUFA 41) ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืชที่ความเข้มข้น 10,000 1,000 100 และ 10 ppm เปรียบเทียบกับชุดควบคุม (control) เมื่อทดสอบด้วยวิธี paper disc

ก1 - ก6 *Phytophthora palmivora*

ข1 - ข6 *Pythium aphanidermatum*

ค1 - ค6 *Colletotrichum gloeosporioides*

ง1 - ง6 *Lasiodiplodia theobromae*

จ1 - จ6 *Alternaria solani*

ฉ1 - ฉ6 *Helminthosporium maydis*

ช1 - ช6 *Sclerotium rolsii*

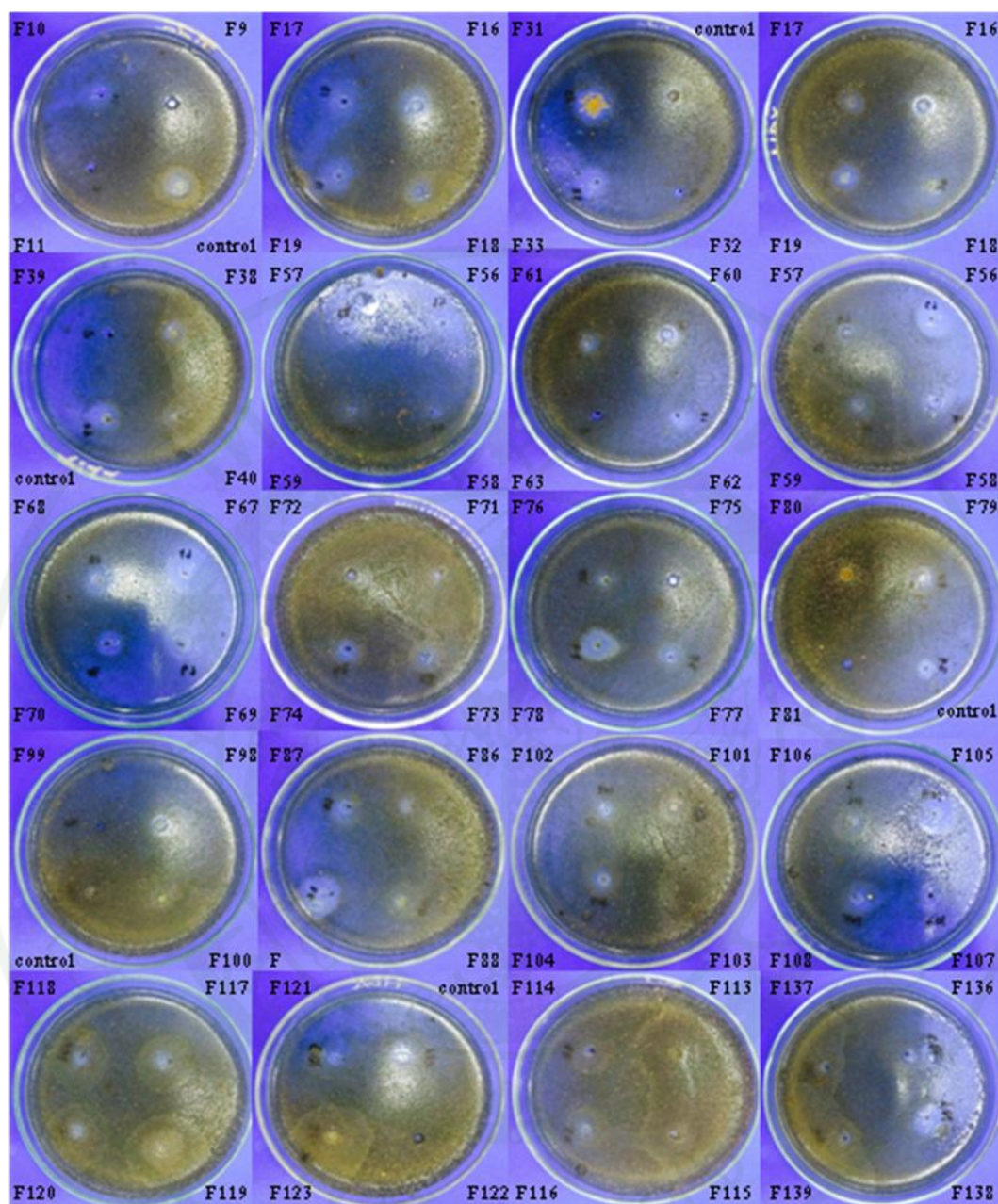
6. การทดสอบฤทธิ์ของสารกึ่งบริสุทธิ์ (fractions) จากราเอนโดไฟท์ *Neosartorya* sp. (KUFA 41) ในการออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum capsici* ด้วยวิธี well disc method

นำสารกึ่งบริสุทธิ์ (fractions) ของราเอนโดไฟท์ *Neosartorya* sp. (KUFA 41) ที่ได้จากการแยกสารโดยวิธี column chromatography จำนวน 194 กลุ่ม มาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช *Colletotrichum capsici* โดยวิธี well disc พบว่าสารกึ่งบริสุทธิ์จำนวน 42 กลุ่ม (ตารางที่ 14) สามารถสร้าง clear zone ยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum capsici* ได้ โดยพบว่าสารกึ่งบริสุทธิ์ 136 สามารถสร้าง clear zone ได้มากที่สุด 1.9 เซนติเมตร รองลงมาได้แก่สารกึ่งบริสุทธิ์ 63 และ 88 สามารถสร้าง clear zone ได้ 1.8 และ 1.73 เซนติเมตร ตามลำดับ (ภาพที่ 36)

มีรายงานว่าสาร glabramycins A-C (1-3) ที่แยกจากรา *N. glabra* สายพันธุ์ MF7030, F-155,700 มีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรีย ในขณะที่สาร glabramycins C มีประสิทธิภาพในการยับยั้ง *streptococcus aureus* ที่ค่า MIC 2 และ 16 µg/mL. ตามลำดับ (Jayasuriya *et al.*, 2009) นอกจากนี้ Kijjoa *et al.* (2011) สามารถแยกสาร 3 ชนิด ได้แก่ satoryglabrins A-C จากเชื้อรา *N. glabra* ด้วยเช่นกัน

ตารางที่ 14 ประสิทธิภาพของสารกึ่งบริสุทธิ์ (fractions) ของรา *Neosartorya* sp. (KUFA 41) ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum* *apsici* โดยวิธี well disc

สารกึ่ง บริสุทธิ์ (fraction)	อัตราส่วนของตัว ทำละลาย	บริเวณ ยับยั้งเฉลี่ย (เซนติเมตร)	สารกึ่ง บริสุทธิ์ (fraction)	อัตราส่วนของตัวทำ ละลาย	บริเวณ ยับยั้งเฉลี่ย (เซนติเมตร)
9	CHCl ₃ : Petrol (5:5)	0.9	78	CHCl ₃ : Petrol (7:3)	0.3
17		1.5	79		0.7
18	CHCl ₃ : Petrol (8:2)	1.2	80		0.9
32		0.9	88		1.73
33		1.5	89		0.9
35		0.9	97		0.53
36		0.83	98		0.43
37		0.9	99		0.6
39		0.9	101		0.4
40		1.33	102		0.5
56		0.9	104		0.8
61		0.53	105		0.7
62		0.7	106		0.5
63		1.8	109		0.3
67		1.6	115		0.4
68		1.1	117		0.3
69		1.2	118		0.3
70		1.3	119		0.3
74	CHCl ₃ : Petrol (7:3)	0.8	120		0.4
75		0.3	121		0.7
77		1.2	136		1.9



ภาพที่ 36 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารกึ่งบริสุทธิ์ (fraction) ของรา *Neosartorya* sp. (KUFA 41) ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum capsici* โดยวิธี well disc

สรุปและข้อเสนอแนะ

สรุป

1. แยกราเอนโดไฟท์จำนวน 372 ไอโซเลท จากกิ่ง งาม และใบพืชป่าชายเลนจำนวน 40 ชนิดที่ทำการเก็บจากบริเวณอ่าวคุ้งกระเบน จังหวัดจันทบุรี โดยพบจากกิ่งและใบเป็นส่วนใหญ่

2. การทดสอบประสิทธิภาพของราเอนโดไฟท์ 20 สายพันธุ์ ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช 10 ชนิด โดยวิธี dual culture พบว่าราเอนโดไฟท์ 7 ชนิดสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช 5 ชนิด ได้มากกว่า 70 เปอร์เซ็นต์ คือ 1) ราเอนโดไฟท์ *Neosartorya* sp. (KUFA 33) สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *L. theobromae* และ 2) ราเอนโดไฟท์ *Neosartorya* sp. (KUFA 38) สามารถยับยั้งเชื้อรา *A. solani* และ *L. theobromae* ได้มากกว่า 70 เปอร์เซ็นต์ 3) ราเอนโดไฟท์ *Talaromyces trachyspermus* (KUFA 45) สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *P. aphanidermatum*, *R. solani* และ *S. rolfsii* ได้ 94.4, 80 และ 71.7 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ 4) ราเอนโดไฟท์ *Neosartorya* sp. (KUFA 46) สามารถยับยั้งเชื้อรา *L. theobromae* ได้ 72 เปอร์เซ็นต์ 5) ราเอนโดไฟท์ *Neosartorya* sp. (KUFA 47) สามารถยับยั้งเชื้อรา *R. solani*, *L. theobromae*, *P. aphanidermatum*, และ *S. rolfsii* ได้ 77.2, 73.33, 72.2 และ 81.7 เปอร์เซ็นต์ 6) ราเอนโดไฟท์ *Fusarium* sp. (KUFA 48) สามารถยับยั้งเชื้อรา *P. aphanidermatum* และ *L. theobromae* ได้ 94 และ 81 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และ 7) ราเอนโดไฟท์ *Pestalotiopsis* sp. (KUFA 49) สามารถยับยั้งเชื้อรา *L. theobromae* ได้ 70 เปอร์เซ็นต์

3. การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากราเอนโดไฟท์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืชด้วยวิธี Dilution Plate พบว่าสารสกัดจากรา *Talaromyces trachyspermus* (KUFA 35) มีประสิทธิภาพสูงสุด โดยสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Rhizoctonia solani* ได้ 53 เปอร์เซ็นต์ ที่ความเข้มข้นเพียง 100 ppm และยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Phytophthora palmivora* และ *Colletotrichum capsici* ได้ 97.4 และ 95.2 เปอร์เซ็นต์ ที่ความเข้มข้น 1,000 ppm รองลงมา ได้แก่ สารสกัดหยาบของรา *Eurotium chevalieri* (KUFA 39) สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Phytophthora palmivora* และ *Lasiodiplodia theobromae* 68.5 และ 70 เปอร์เซ็นต์ และสารสกัดจากรา *Neosartorya* sp. (KUFA 41) สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* และ *Sclerotium rolfsii* ได้มากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ ที่ความเข้มข้น 1,000 ppm

ในขณะที่สารสกัดหยาบจากรา *Neosartorya* sp. (KUFA 41) และ *Nigrospora* sp. (KUFA 51) สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราโรคพืชได้ที่มีความเข้มข้น 10,000 ppm เท่านั้น

4. การแยกสารกึ่งบริสุทธิ์ (fractions) ของสารสกัดจากเชื้อรา *Neosartorya* sp. (KUFA 41) โดยใช้สาร petroleum ether, chloroform และ acetone เป็นสารชะ ในอัตราส่วนต่างๆ สามารถแยกสารกึ่งบริสุทธิ์ ได้ 228 fractions โดยสารบนแผ่น thin layer chromatography (TLC) สามารถจัดเป็นกลุ่มสารได้ 194 กลุ่ม

5. ประสิทธิภาพของสารกึ่งบริสุทธิ์ fraction 119 ของรา *Neosartorya* sp. (KUFA 41) ด้วยวิธี paper disc method พบว่าไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืชได้

6. การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดจากราเอนโดไฟท์ *Neosartorya* sp. (KUFA 41) ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum capsici* ด้วยวิธี well disc method พบว่าสารกึ่งบริสุทธิ์ 136 สามารถสร้าง clear zone ได้มากที่สุด 1.9 เซนติเมตร รองลงมาได้แก่สารกึ่งบริสุทธิ์ 63 และ 8.8 สามารถสร้าง clear zone ได้ 1.8 เซนติเมตร และ 1.73 เซนติเมตร ตามลำดับ

ข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาในครั้งนี้ทำให้ทราบว่า ราเอนโดไฟท์จากพืชป่าชายเลนในประเทศไทยมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช สามารถนำสารสกัดจากราเอนโดไฟท์ที่มีการทดสอบแล้วว่ามีประสิทธิภาพในห้องปฏิบัติการแล้วมาทดสอบในสภาพโรงเรือน และแปลงทดลองต่อไป ซึ่งจะประโยชน์ในการควบคุมโรคพืชทดแทนการใช้สารเคมีในอนาคต

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

- จิราภรณ์ ธนากุลปกรณ และ อภิรดี ปิณฑนภาคย์. 2555. ฤทธิ์ยับยั้ง *Alternaria brassicicola* ของราเอนโดไฟท์ TH121 ที่แยกได้จากใบโพทะเล. **Thai Journal of Science and Technology** 1 (1): 32-41.
- จิรายุ บัวทอง. 2552. เชื้อราเอนโดไฟท์ที่ผลิตสารต้านจุลินทรีย์จากพืชป่าชายเลนในภาคใต้ของประเทศไทย. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.
- ประไพพิศ เชาวลิศ. 2552. การคัดเลือกราเอนโดไฟท์จากพืชป่าชายเลนที่สร้างเอนไซม์ไลเปส เซลลูเลส อะไมเลส หรือโปรติเอส. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.
- วัชรินทร์ รุกขไชยศิริกุล. 2555. สารต้านจุลินทรีย์จากเชื้อราเอนโดไฟท์ที่คัดเลือกจากหญ้าทะเลและพืชป่าชายเลน. โครงการวิจัย, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.
- สุกัญญาณี แชนประเสริฐ. 2552. ราเอนโดไฟท์คัดเลือกจากพืชป่าชายเลนในจังหวัดจันทบุรี ประจวบคีรีขันธ์ และระนอง. วิทยานิพนธ์ปริญญาเอก, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- Ananda, K. and K.R. Sridhar. 2002. Diversity of endophytic fungi in the roots of mangrove species on the West Coast of India. **Canadian Journal of Microbiology** 48 (10): 871-878.
- Buatong, J., S. Phongpaichit, V. Rukachaisirikul and J. Sakayaroj. 2011. Antimicrobial activity of crude extracts from mangrove fungal endophytes. **World Journal Microbiol Biotechnology** 27: 3005-3008.
- Chaeprasert, S., J. Piapukiew, A. Whalley and P. Sihanonth. 2010. Endophytic fungi from mangrove plant species of Thailand: Their antimicrobial and anticancer poteincial. **Botanica Marina** 53: 555-564.

- Chen, G., Y. Lin, L.Wen, L.L.P. Vrijmoed and E.B.G. Jones. 2003. Two new metabolites of a marine endophytic fungus (No. 1893) from an estuarine mangrove on the South China Sea coast. **Tetrahedron** 59 (26): 4907-4909.
- Chen, G., Y. Zhu, H.Z. Wang, S.J. Wang and R.Q. Zhang. 2007. The metabolites of a mangrove endophytic fungus, *Penicillium thomi*. **Journal of Asian Natural Products Research** 9 (2): 159-164.
- Chen, Y., C. Shao, Z. Huang, Y. Zhang, X. Cai, Z. She, S. Zhou and Y. Lin. 2008. Structure elucidation and NMR assignments for two amide alkaloids from a mangrove endophytic fungus (No. ZZF-22). **Magnetic Resonance in Chemistry** 47: 92-95.
- Debbab, A., A.H. Aly. and P. proksch. 2013. Mangrove derived fungal endophytes – a chemical and biological perception. **Fungal Diversity** 61: 1-27.
- Eamvijarn, A., A. Kijjoa, C. Bruyere, V. Mathieu, L. Manoch, F. Lefranc, A. Silva, R. Kiss and W. Herz. 2012. Secondary metabolites from a culture of the fungus *Neosartorya pseudofischeri* and their *in vitro* cytostatic activity in human cancer cell lines. **Planta Medica** 78: 1767-1776.
- Ebrahim, W., J. Kjer, M.E. Amrani, V. Wray, W. Lin, R. Ebel, D. Lai and P. Proksch. 2012a. Pullularins E and F, two new peptides from the endophytic fungus *Bionectria ochroleuca* isolated from the mangrove plant *Sonneratia caseolaris*. **Marine Drugs** 10: 1081–1091.
- Guo, Z., F. Cheng, K. Zuok, J. Wang, Z. She and Y. Lin. 2009. Secondary metabolites from the mangrove endophytic fungus *Penicillium* sp. (SBE-8). **Natural Product Communications** 4 (11): 1481-1483.
- Han, Z., W. Mei, Y. Zhao, Y. Deng and H. Dai. 2009. A new cytotoxic isocoumarin from endophytic fungus *Penicillium* sp. 091402 of the mangrove plant. **Chemistry of Natural Compounds** 45 (6): 805-807.

Hostettmann, K. and A. Marston. 1994. Search for new antifungal compounds from higher plants.

Pure and Applied Chemistry 66: 2231-2234.

Huang X, Huang H, Li H, Sun X, Huang H, Lu Y, Lin Y, Long Y, Z. She. 2013. Asperterpenoid A, a new sesterterpenoid as an inhibitor of *Mycobacterium tuberculosis* protein tyrosine phosphatase B from the culture of *Aspergillus* sp. 16-5c. **Organic Letters** 15: 721–723.

Huang, Z., J. Yang, X. Cai, Z. She and Y. Lin 2011a. A new furanocoumarin from the mangrove endophytic fungus *Penicillium* sp. (ZH16). **Natural Product Research** 26 (14): 1291-1295.

Huang, Z., J. Yang, Z. She and Y. Lin. 2010. Isoflavones from the mangrove endophytic fungus *Fusarium* sp. (ZZF41). **Natural Product Research** 5 (11): 1771-1773.

Huang, Z., J. Yang, Z. She and Y. Lin. 2011b. A new isoflavone from the mangrove endophytic fungus *Fusarium* sp. (ZZF60). **Natural Product Research** 26 (1): 11-15.

Huang, Z., X. Cai, C. Shao, Z. She, X. Xia, Y. Chen and J. Yang. 2008. Chemistry and weak antimicrobial activities of phomopsins produced by mangrove endophytic fungus *Phomopsis* sp. ZSU-H76. **Phytochemistry** 69: 1604–1608.

Intana, W., T. Suwanno and C. Chamswarng. 2005. Use of antifungal metabolite from *Trichoderma virens* for controlling Chinese kale leaf spots caused by *Alternaria brassicicola*. **Walailak Journal of Science and Technology** 2: 1-9.

Jayasuriya, H., D. Zink, A. Basilio, F. Vicente, J. Collado, G. Bills, M.L. Goldman, M. Motyl, J. Huber, G. Dezeny and K. S.B. Singh. 2009. Discovery and antibacterial activity of Glabramycin A-C from *Neosartorya glabra* by an antisense strategy. **The Journal of Antibiotics** 62: 265-269.

- Kijjoa, A., S. S. Santos, T. Dethoup, L. Manoch, P. A., Almeida, H. M. Vasconcelos, A. Silva, L. Gales. Aand W. Herz. 2011. Sartoryglabrans, analogs of ardeemins, from *Neosartorya glabra*. **Natural Product Communications** 6 (6): 807-812.
- Klaiklay S, V. Rukachaisirikul, S. Phongpaichit, C. Pakawatchai, S. Saithong, J. Buatong, S. Preedanon and J. Sakayaroj. 2012a. Anthraquinone derivatives from the mangrove derived fungus *Phomopsis* sp. PSU-MA214. **Phytochemistry Letters** 5: 738–742.
- Klaiklay S, V. Rukachaisirikul, K. Tadpetch, Y. Sukpondma, S. Phongpaichit, J. Buatong and J. Sakayaroj 2012b. Chlorinated chromone and diphenyl ether derivatives from the mangrove derived fungus *Pestalotiopsis* sp. PSU-MA69. **Tetrahedron** 68: 2299–2305.
- Klaiklay S, V. Rukachaisirikul, S. Phongpaichit, J. Buatong, S. Preedanon and J. Sakayaroj. 2012c. Flavodanofuran: a new difuranylmethane derivative from the mangrove endophytic fungus *Flavodon flavus* PSU-MA201. **Natural Product Research** 1–5.
- Klaiklay S, V. Rukachaisirikul, Y. Sukpondma, S. Phongpaichit, J. Buatong and B. Bussaban. 2012d. Metabolites from the mangrove-derived fungus *Xylaria cubensis* PSU-MA34. **Archives of Pharmacal Research** 35: 1127–1131.
- Kumaresan, V. and T.S. Suryanarayanan. 2001. Occurrence and distribution of endophytic fungi in a mangrove community. **Mycological Research** 105 (11): 1388-1391.
- Li, C.Y., W.J. Ding, C.L. Shao, Z.G. She and Y.C. Lin. 2008. Secondary metabolites of a marine mangrove fungus (*Penicillium* sp. no. 2556) from South China Sea. **Journal of Chinese Medicinal Materials** 31 (7): 960-962.
- Li, H., H. Huang, C. Shao, H. Huang, J. Jiang, X. Zhu, Y. Liu, L. Liu, Y. Lu, M. Li, Y. Lin and Z. She. 2011. Cytotoxic norsesquiterpene peroxides from the endophytic fungus *Talaromyces flavus* isolated from the mangrove plant *Sonneratia apetala*. **Journal of Natural Products** 74:1230–1235.

- Li S, M. Wei, G. Chen and Y. Lin. 2012. Two new dihydroisocoumarins from the endophytic fungus *Aspergillus* sp. collected from the South China Sea. **Chemistry of Natural Compounds** 48: 371–373.
- Lin, Z., T. Zhu, Y. Fang, Q. Gu and W. Zhu. 2008. Polyketides from *Penicillium* sp. JP-1, an endophytic fungus associated with the mangrove plant *Aegiceras corniculatum*. **Phytochemistry** 69: 1273–1278.
- Liu, A.R., X.P. Wu and T. Xu. 2007. Research advances in endophytic fungi of mangrove. **Chinese Journal of Applied Ecology** 18 (4): 912–918.
- Mei WL, B. Zheng, Y.X. Zhao, H.M. Zhong, X.L. Chen, Y.B. Zeng, W.H. Dong, J.L. Huang, P. Proksch and H.F. Dai. 2012. Meroterpenes from endophytic fungus A1 of mangrove plant *Scyphiphora hydrophyllacea*. **Marine Drugs** 10: 1993–2001.
- Morino, T., M. Nishimoto, N. Itou and T. Nishikiori. 1994. NK372135s, novel antifungal agents produced by *Neosartorya fischeri*. **The Journal of Antibiotics** 47 (12): 1546–1548.
- Nambiar, R.G. and K. Raveendran. 2009. Manglicolous Marine Fungi of Kerala (South India). **Botany Research International** 2 (3): 206–210.
- Ozoe, Y., T. Kuriyama, Y. Tachibana, K. Harimaya, N. Takahashi, T. Yaguchi, E. Suzuki, K. Imamura and K. Oyama. 2004. Isocomarin derivative as a novel GABA receptor ligand from *Neosartorya quadricincta*. **Journal of Pesticide Science** 29 (4): 328–331.
- Pang, K.L., L.L.P. Vrijmoed, T.K.Goh, N. Plaingam and E.B.G Jones. 2008. Fungal endophytes associated with *Kandelia candel* (Rhizophoraceae) in Mai Po Nature Reserve, Hong Kong. **Botanica Marina** 51 (3): 171–178.

- Park, J.H., G.J. Choi, H.B. Lee, K.M Kim, H.S. Jung, S.W. Lee, K.S. Jang and K.Y. Cho. 2005. Griseofulvin from *Xylaria* sp. Strain F0010, and endophytic fungus of *Abies holophylla* and its antifungal activity against plant pathogenic fungi. **Journal of Microbiology and Biotechnology** 15: 112-117.
- Rukachaisirikul V, A. Rodglin, Y. Sukpondma, S. Phongpaichit, J. Buatong and J. Sakayaroj. 2012. Phthalide and isocoumarin derivatives produced by an *Acremonium* sp. isolated from a mangrove *Rhizophora apiculata*. **Journal of Natural Products** 75: 853–858.
- Saikkonen, K. 2007. Forest structure and fungal endophytes, Fung. **Biological Reviews** 21: 67-74.
- Schulz, B., C. Boyle, S. Draeger, A.K. Rommert and K. Krohn. 2002. Endophytic fungi: a source of novel biologically active secondary metabolites. **Mycological Research** 106 (9): 996-1004.
- Shang, L.Y., H. Yao-jian, Z. Zhong-hui, S. Si-yang, S. Wen-jin and S. Yue-mao. 2006. The population fluctuation and bioactivity of endophytic fungi from mangrove plants in different seasons. **Journal Xiamen University (Natural Science)** 23: 438-479
- Shang Z, X.M Li, C.S. Li and B.G. Wang. 2012 Diverse secondary metabolites produced by marine-derived fungus *Nigrospora* sp. MA75 on various culture media. **Chemistry and Biodiversity** 9: 1338–1348.
- Shao C, C. Wang, M. Wei, Y. Gu, X. Xia, Z. She and Y Lin. 2008. Structure elucidation of two new xanthone derivatives from the marine fungus *Penicillium* sp. (ZZF 32) from the South China Sea. **Magnetic Resonance in Chemistry** 46: 1066–1069.
- Shao, C., C. Wang, M. Wei, Z. Jia, Z. She and Y. Lin. 2009. Two new benzaldehyde derivatives from mangrove endophytic fungus (No. ZZF 32). **Chemistry of Natural Compounds** 45 (6): 789-791.

- Suryanarayanan, T.S. and V. Kumaresan. 2000. Endophytic fungi of some halophytes from an estuarine mangrove forest. **Mycological Research** 104 (12) : 1465-1467.
- Suryanarayanan, T.S., V. Kumaresan and J.A. Johnson. 1998. Foliar fungal endophytes from two species of the mangrove *Rhizophora*. **Canadian Journal of Microbiology** 44 (10): 1003-1006.
- Tanaka, M., M. Yoshimura, M. Suto, A. Yokota, K. Asano, E. Sukara and F. Tomita. 2002. Production of *lipidi miodo* by an endophytic fungus from polysaccharide extracted from *Abelmoschus* sp. identification of the product and the organism producing it. **Journal of Bioscience and Bioengineering** 93: 531-536.
- Tan, N., X.L. Cai, S.Y. Wang, J.H. Pan, Y.W. Tao, Z.G. She, S.N. Zhou, Y.C. Lin and L.L.P. Vrijmoed. 2008. A new hTopo I isomerase inhibitor produced by a mangrove endophytic fungus no. 2240. **Journal of Asian Natural Products Research** 10 (7): 607-610.
- Tan, Q.-W., M.-A. Ouyang, S. Shen and W. Li. 2012. Bioactive metabolites from a marine-derived strain of the fungus *Neosartorya fischeri*. **Natural Product Research** 26 (15): 1402-1407.
- Wakana, D., T. Hosoe, T. Itabashi, K. Nozawa, K. Okada, G.M.C. Takaki, T. Yaguchi, K. Fukushima and K. Kawai. 2006. Isolation of isoterrein from *Neosartorya fischeri*. **Mycotoxins** 56 (1): 3-6.
- Wong, S.-M., L.L. Musza, G.C. Kydd, R. Kullnig, A.M. Gillum and R. Cooper. 1992. Fiscalins: New substance P inhibitors produced by the fungus *Neosartorya fischeri*. **The Journal of Antibiotics** 46 (4): 545-553.
- Xiaoling, C., L. Xiaoli, Z. Shining, G. Junping, W. Shuiping, L. Xiaoming, S. Zhigang and L. Yongcheng. 2010. Cytotoxic and topoisomerase I inhibitory activities from extracts of

- endophytic fungi isolated from mangrove plants in Zhuhai, China. **Journal of Ecology and The Natural Environment** 2 (2): 17-24.
- Xie, L.W., S.M. Jiang, H.H. Zhu, W. Sun, Y.C. Ouyang, S.K. Dai and L. Xiang. 2008. Potential inhibitors against *Sclerotinia sclerotium* produced by the fungus *Myrothecium* sp. associated with the marine sponge *Axinella* sp. **European Journal of Plant Pathology** 122: 571-578.
- Xing, X and S. Guo. 2011. Fungal endophyte communities in four Rhizophoraceae mangrove species on the south coast of China. **Ecological Research** 26: 403–409.
- Xu, J., J. Kjer, J. Sendker, V. Wray, H. Guan, R. Edrada, Müller, E.G. Werner, M. Bayer, W. Lin, J. Wu and P. Proksch. 2009. *Cytosporones*, *coumarins*, and an alkaloid from the endophytic fungus *Pestalotiopsis* sp. isolated from the Chinese mangrove plant *Rhizophora mucronata*, Bioorg. **Medicinal Chemistry** 17: 7362- 7367.
- Yan HJ, X.M. Lia, C.S. Lia and B.G. Wang. 2012. Alkaloid and anthraquinone derivatives produced by the marine-derived endophytic fungus *Eurotium rubrum*. **Helvetica Chimica Acta** 95: 163–168.
- Zeng YB, H. Wang, W.J. Zuo, B. Zheng, T. Yang, H.F. Dai and W.L. Mei 2012. A fatty acid glycoside from a marine-derived fungus isolated from mangrove plant *Scyphiphora hydrophyllacea*. **Marine Drugs** 10: 598–603.
- Zhang, J., L. Tao, Y. Liang, L. Chen, Y. Mi, L. Zheng, F. Wang, Z. She, Y. Lin, K.K.W. To and L. Fu. 2010. Anthracenedione derivatives as anticancer agents isolated from secondary metabolites of the mangrove endophytic fungi. **Marine Drugs** 8: 1469-1481.



ภาคผนวก

การเตรียมอาหาร

1) Glucose Peptone Yeast (GPY)

Yeast extract	0.1 กรัม
Glucose	1 กรัม
Peptone	15 กรัม
Agar	15 กรัม
Water	1 ลิตร
PH 8.0	(ปรับ pH ด้วย 0.1 N NaOH หรือ 0.1 NH_3PO_4)

2) Gause I (G1)

Starch	20 กรัม
KNO_3	1.0 กรัม
K_2HPO_4	0.5 กรัม
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.5 กรัม
NaCl	0.5 กรัม
FeSO_4	0.01 กรัม
Agar	15 กรัม
Water	1 ลิตร
PH 7.2-7.4	(ปรับ pH ด้วย 0.1 N NaOH หรือ 0.1 NH_3PO_4)

3) Half Potato Dextrose agar

Potato	100 กรัม
Dextrose	10 กรัม
Agar	15 กรัม
Water	1 ลิตร

4) Malt Extract Agar (MEA)

Malt extract	30 กรัม
Agar	15 กรัม
Water	1 ลิตร

5) Potato Dextrose Broth (PDB)

Potato	200 กรัม
Dextrose	20 กรัม
Water	1 ลิตร

ประวัติการศึกษาและการทำงาน

ชื่อ –นามสกุล	นางสาวกมลวรรณ ศรีดี
วัน เดือน ปี ที่เกิด	วันที่ 20 พฤศจิกายน 2531
สถานที่เกิด	น่าน
ประวัติการศึกษา	ปริญญาตรี วิทยาศาสตร์บัณฑิต (การจัดการศัตรูพืช) คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (พ.ศ. 2554)
ผลงานดีเด่นและรางวัลทางวิชาการ	1. กมลวรรณ ศรีดี ธิดาเดชวบ ณรงค์ สิงห์บุระอุดม และ อนนท กิจเจา. 2557. ประสิทธิภาพของสารสกัด หยาบของราเอนโดไฟท์ที่แยกจากพืชป่าชายเลนในการ ควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืชในสภาพห้องปฏิบัติการ, น. 372-379. ใน รายงานการประชุมทางวิชาการ ของ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 52 (สาขาพืช). มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 2. Sreeta, K., T. Dethoup., N. Singburaudum and A. Kijjoa. 2013. The <i>in vitro</i> antagonistic effect of endophytic fungi against plant pathogenic fungi, ed pp. 66. In 1 st International Conference on Natural Products for Agriculture. 18-20 November 2013, Kasetsart University, Bangkok, Thailand.
ทุนการศึกษาที่ได้รับ	สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.) ภายใต้การ อุดหนุนงานวิจัย ประเภทบัณฑิตศึกษา ระดับปริญญาโท ประจำปี 2556