

บทที่ 2

วรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ไลเคน

ไลเคน (lichen) เป็นสิ่งมีชีวิตที่เกิดจากการอยู่ร่วมกันแบบพึ่งพาอาศัย (symbiosis) ระหว่างรา (mycobiont) กับสาหร่ายสีเขียว (phycobiont) หรือสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน (cyanobacteria) สาหร่ายในไลเคนส่วนใหญ่เป็นสาหร่ายสีเขียว มีไลเคนเพียงส่วนน้อยที่มีสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินซึ่งพบในไลเคนชนิดที่ต้องการความชุ่มชื้นสูง สาหร่ายที่พบในไลเคนอาจจะมีเพียงชนิดเดียวหรือมีมากกว่าหนึ่งชนิดอาศัยอยู่ร่วมกัน ซึ่งสาหร่ายจะใช้คาร์บอนไดออกไซด์จากบรรยากาศและน้ำในการสังเคราะห์ด้วยแสงสร้างอาหารที่เป็นสารอินทรีย์แล้วแบ่งให้รา รูปแบบของสารอินทรีย์ที่สาหร่ายสร้างขึ้นนั้นจะแตกต่างกันไปตามกลุ่มของสาหร่าย ในกลุ่มของสาหร่ายสีเขียวจะสร้างสารอินทรีย์อยู่ในรูปของน้ำตาลแอลกอฮอล์ (sugar alcohols) ส่วนกลุ่มสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินจะอยู่ในรูปของน้ำตาลกลูโคส (glucose) นอกจากนี้ราจะได้ธาตุไนโตรเจน (nitrogen) จากความสามารถของไซยาโนแบคทีเรียในการตรึงไนโตรเจนได้จากบรรยากาศ ส่วนราจะช่วยเก็บน้ำให้สาหร่ายและปกป้องสาหร่ายจากสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมต่างๆ เช่น ความร้อนจากแสงแดด กรองแสงอัลตราไวโอเลต (Ahmadjian, 1993; Gauslaa and Solhaug, 2001; Lawrey, 1986; Rikkinen, 1995; Purvis, 2000)

ราที่ก่อให้เกิดไลเคน

ได้มีการประมาณจำนวนชนิดราที่ก่อให้เกิดไลเคน (lichen-forming fungi) ทั่วโลกที่ทราบชนิดแล้ว อยู่ระหว่าง 17,500 - 20,000 ชนิด ซึ่งเป็นร้อยละ 20 ของราทั้งหมด

และคิดเป็นร้อยละ 40 ของราใน Phylum Ascomycota เป็นราที่ก่อให้เกิดไลเคน (Kirk et al., 2008) ซึ่งประกอบด้วย 2,720 สกุล กระจายตัวอยู่ใน 37 อันดับ และ 16 อันดับ เป็นราที่ก่อให้เกิดไลเคนโดยเฉพาะ (Sipman & Aptroot, 2001)

ตาราง 1

ชนิดของราที่ก่อให้เกิดไลเคนในชั้นดิวิชัน (subdivision) ของรา

ชั้นดิวิชัน	จำนวนชนิด	จำนวนชนิดราที่ก่อให้เกิดไลเคน	ราที่ก่อให้เกิดไลเคน (ร้อยละ)
Ascomycotina	28,650	13,250	46.25
Basidiomycotina	16,000	50	0.31
Mastigomycotina	1,170	1	0.09
Mitosportic fungi	17,000	200	1.18
Myxomycotina	625	? 2	? 0.32
Zygomycotina	765	0	0
รวม	64,200	13,500	21

ที่มา. จาก “Lichen-forming fungi: potential sources of novel metabolites,” by P. D. Crittenden and N. Porter, 1991, *Trends in Biotechnology*, 9, p. 410.

ตาราง 2

การจัดจำแนกหมวดหมู่ราที่ก่อให้เกิดไลเคน (Classification of lichen-forming fungi)

Dikaryotic Fungi (Dicaryomycota)
Ascomycota
Subphylum Euascomycotina (=Pezizomycotina)
Supraclass Inoperculata
Class Sordariomycetes
Subclass Arthoniomycetidae
Order Arthoniales
Arthoniaceae

ตาราง 2 (ต่อ)

Dikaryotic Fungi (Dicaryomycota)

Chrysotrichaceae

Roccellaceae

Subclass Dothideomycetidae

Order Pleosporales

Arthopyreniaceae

Dacampiaceae

Microtheliopsidaceae

Naetrocymbaceae

Pyrenothricaceae

Subclass Lichinomycetidae

Order Lichinales

Gloeheppiaceae

Heppiaceae

Lichinaceae

Peltulaceae

Class Lecanoromycetes

Subclass Acarosporomycetidae

Order Acarosporales

Acarosporaceae

Candelariaceae

Subclass Ostropomycetidae

Order Agyriales

Agyriaceae

Anamylopsoraceae

ตาราง 2 (ต่อ)

Dikaryotic Fungi (Dicaryomycota)

Schaereriaceae

Order Gyalectales

Coenogoniaceae

Gyalectaceae

Order Graphidales

Gomphillaceae

Graphidaceae

Solorinellaceae

Thelotremataceae

Order Trichotheliales

Myeloconidaceae

Porinaceae

Order Pertusariales

Coccotremataceae

Ochrolechiaceae

Pertusariaceae

Hymeneliaceae

Megasporaceae

Icmadophilaceae

Order Ostropales

Baeomycetaceae

Arctomiaceae

Protothelenellaceae

ตาราง 2 (ต่อ)

Dikaryotic Fungi (Dicaryomycota)

Arthrorhaphidaceae

Thelenellaceae

Phlyctidaceae

Subclass Lecanoromycetidae

Order Lecanorales

Suborder Peltigerineae

Peltigeraceae

Lobariaceae

Nephromataceae

Massalongiaceae

Coccocarpiaceae

Collemataceae

Pannariaceae

Placynthiaceae

Suborder Lecanorineae

Lecanoraceae

Cladoniaceae

Stereocaulaceae

Squamarinaceae

Parmeliaceae

Cetradoniaceae

Gypsoplacaceae

Haematommaceae

ตาราง 2 (ต่อ)

Dikaryotic Fungi (Dicaryomycota)

Mycoblastaceae

Suborder Psorineae

Pilocarpaceae

Psoraceae

Ramalinaceae

Suborder Physciineae

Catillariaceae

Physciaceae

Suborder Sphaerophorineae

Calycidiaceae

Sphaerophoraceae

Suborder Rhizocarpineae

Rhizocarpaceae

Suborder Teloschistineae

Brigantiaeaceae

Letroitiaceae

Megalosporaceae

Teloschistaceae

Suborder Lecideineae

Lecideaceae

Porpidiaceae

Lecanorales taxa of unsettled position:

ตาราง 2 (ต่อ)

Dikaryotic Fungi (Dicaryomycota)

Aphanopsidaceae

Biatorrellaceae

Miltideaceae

Order Umbilicariales

Umbilicariaceae

Elixiaceae

Fuscideaceae

Umbilicariales genera of unsettled position

Lecanoromycetidae taxa of unsettled position:

Thelocarpaceae

Dactylosporaceae

Pachyascaceae

Vezdaeaceae

Class Eurotiomycetes

Subclass Chaetothyriomycetidae

Order Pyrenulales

Monoblastiaceae

Pyrenulaceae

Strigulaceae

Trypetheliaceae

Xanthopyreniaceae

Order Verucariales

Verrucariaceae

ตาราง 2 (ต่อ)

Dikaryotic Fungi (Dicaryomycota)

Eucomycotina (= Pezizomycotina), taxa of unsettled position:

Coniocybaceae

Microcaliciaceae

Basidiomycota

Class Homobasidiomycetes

Subclass Agaricomycetidae

Order Polyporales

Atheliaceae

Order Agaricales

Clavariaceae

Tricholomataceae

ที่มา. จาก “Lichen Biology” by Thomas H. Nash, 2008, New York: Cambridge University Press. (pp. 342-352).

การศึกษารานในไลเคนระยะแรกมีจุดประสงค์ที่สำคัญคือ ศึกษาส่วนประกอบทางกายวิภาค และสรีรวิทยาของไลเคนรวมทั้ง ศึกษาวิธีที่จะสังเคราะห์ไลเคนขึ้นมาใหม่ (resynthesis) จากราและสาหร่ายแต่ละชนิด Ahmadjian (1993); Crittenden (1995); Yamamoto (1995) จัดได้ว่าเป็นกลุ่มนักวิจัยผู้บุกเบิก และประสบความสำเร็จในการแยกราที่ก่อให้เกิดไลเคน แต่ไลเคนส่วนใหญ่ที่นำมาศึกษาเป็นไลเคนในเขตอบอุ่น อาร์กติก และ แอนตาร์กติกา ในขณะที่ราที่ก่อให้เกิดไลเคนในเขตร้อนนั้นมีการศึกษาที่น้อยมาก

การแยกราที่ก่อให้เกิดไลเคนสามารถแยกได้จากส่วนของ เส้นใย (hyphae) แทลัส (thallus) ไอซิดีย (isidia) และ ซอริเดีย (soridia) แต่ส่วนใหญ่ไม่ประสบความสำเร็จ เพราะราที่แยกได้ส่วนใหญ่ไม่ใช่ราที่ก่อให้เกิดไลเคน (Ahmadjian, 1993) โดยแทลัสในสภาพธรรมชาติจะมีสิ่งมีชีวิตหลากหลายชนิดอาศัยหรือปะปนอยู่กับ



แทลลัส เช่น ราเส้นใย (Petrini, 1990) แบคทีเรีย และ ยีสต์ ดังนั้นการแยกราที่ก่อให้เกิดไลเคนจึงไม่ควรแยกจากส่วนของแทลลัสบนอาหารเลี้ยงเชื้อ ซึ่งมีความเสี่ยงสูงที่สิ่งมีชีวิตชนิดอื่นที่ปนเปื้อนจะเจริญออกมาก่อนราที่ก่อให้เกิดไลเคนเจริญ เนื่องจากราที่ก่อให้เกิดไลเคนเจริญค่อนข้างช้า ดังนั้นในการแยกราที่ก่อให้เกิดไลเคนมักนิยมแยกจากแอสโคสปอร์ หากไม่ประสบความสำเร็จจึงจะใช้วิธีแยกจากแทลลัส (Ahmadjian, 1993) โดยสิ่งที่สำคัญในแยกราที่ก่อให้เกิดไลเคนจากแอสโคสปอร์จะเกี่ยวข้องกับการงอกของแอสโคสปอร์ที่ส่วนใหญ่ค่อนข้างงอกยาก (Ostrofsky and Denison, 1980) ซึ่งสปอร์ของไลเคนชนิดครัสโตสจะมีเปอร์เซ็นต์การงอกที่สูงกว่าไลเคนชนิดโฟลิโอส และ ฟรุติโคส (Kofler, 1970) โดยลักษณะโคโลนี (colony) ของราที่ก่อให้เกิดไลเคนที่แยกได้ เมื่อนำมาเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ จะมีลักษณะเป็นเส้นใยอัดกันแน่น (compact colony) และยกตัวสูงขึ้น เส้นใยลักษณะโป่งออก (balloon) (Ahmadjian, 1993; Lawrey, 1984)

สารทุติยภูมิของไลเคน

ในปี ค.ศ. 1866 Nylander สามารถวิเคราะห์สารเคมีจากไลเคนได้เป็นครั้งแรก โดยได้ทำการทดสอบสี (spot test หรือ color test) กับสารละลาย เพื่อสังเกตลักษณะการเปลี่ยนแปลงสีในเนื้อเยื่อของแทลลัสไลเคน (Nylander, 1866) ต่อมา Asahina and Shibata (1954) ได้ทำการศึกษาโครงสร้างและจัดจำแนกสารไลเคนขึ้นเป็นครั้งแรก โดยอาศัยหลักการของโครงสร้างของสารและวิธีการสังเคราะห์สารอินทรีย์ (biosynthetic pathways) หรือ สารทุติยภูมิ (secondary metabolites) ซึ่งมีการจัดกลุ่มสารทุติยภูมิในไลเคนออกเป็น 3 กลุ่มหลักตามวิธีการสังเคราะห์ ดังแสดงในภาพ 1 และ ตาราง 3

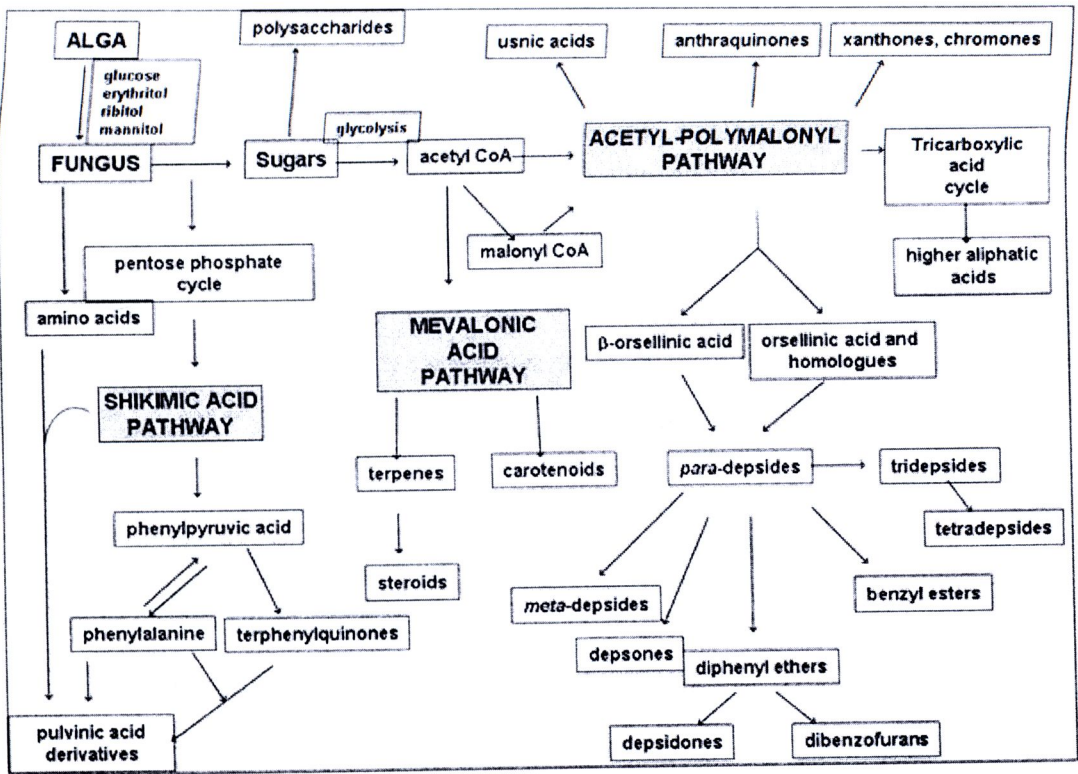
สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ	
12 มี.ค. 2556	
วันที่.....	209191
เลขทะเบียน.....	
เลขเรียกหนังสือ.....	

ตาราง 3

กลุ่มของสารทุติยภูมิหลักที่พบในไลเคน

1. Acetyl-polymalonyl pathway
 - 1.1 Secondary aliphatic acids, esters and related derivatives
 - 1.2 Polyketide derived aromatic compounds
 - 1.2.1 Mononuclear phenolic compounds
 - 1.2.2 Di- and tri-aryl derivatives of simple phenolic units
 - 1.2.2a Depsides, tridepsides and benzyl esters
 - 1.2.2b Depsidones and diphenyl ethers
 - 1.2.2c Depsones
 - 1.2.2d Dibenzofurans, usnic acid and derivatives
 - 1.2.3 Anthraquinones and biogenetically related xanthenes
 - 1.2.4 Chromones
 - 1.2.5 Napthaquinones
 - 1.2.6 Xanthenes
2. Mevalonic acid pathway
 - 2.1 Di-,sister and triterpenes
 - 2.2 Steroids
3. Shikimic acid pathway
 - 3.1 Terphenylquinones
 - 3.2 Pulvinic acids derivative

ที่มา. จาก *Lichen Biology* (p. 107), by Thomas H. Nash, 2008, New York: Cambridge University Press.



ภาพ 1 วิธีการสังเคราะห์สารทุติยภูมิ (secondary metabolites) ในไลเคน

ที่มา. จาก *Lichen Biology* (p. 106), by Thomas H. Nash, 2008, New York: Cambridge University Press.

สารทุติยภูมิของไลเคนมีคุณสมบัติที่สามารถนำมาใช้ประโยชน์ในด้านต่าง ๆ ได้แก่

1. มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ (antimicrobial activity) เช่น usnic acid สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมบวก (gram-positive) เช่น *Streptococcus mutans* โดยในยุโรปใช้เป็นส่วนผสมของครีมอาบน้ำ ในชื่อทางการค้าว่า Usno® และ Evosin® นอกจากนี้ยังใช้เป็นสารแก้อาการแพ้ (antihistamine) และยับยั้งการเจริญของไวรัส (antiviral agent) (Elix, 1996)
2. มีฤทธิ์ยับยั้งการอักเสบ (anti-inflammatory) และต่อต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) เช่น leukotrienes หรือ prostaglandin มีประโยชน์ช่วยยับยั้งการอักเสบ และอาจจะมีฤทธิ์ในการควบคุมการเจริญของเซลล์มะเร็ง (Marx, 2001) ส่วน depsides

depsidones และ anthraquinones มีฤทธิ์ในการต่อต้านอนุมูลอิสระ (Choi et al., 2000; Hidalgo et al, 1994) โดยเฉพาะอย่างยิ่ง lipid peroxidation (Ichinose et al., 1994)

3. มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็ง (anticancer), ฤทธิ์ยับยั้งการกลาย (antimutagenic) และฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของไวรัส (antiviral) Neamati et al.,(1997) ได้ทำการศึกษาโครงสร้างสามมิติและพบว่าสารหลายชนิดในกลุ่มของ depsides และ depsidones มีฤทธิ์ต้านเอนไซม์ HIV-1 integrase และยังพบว่าสาร 3-O-Acyl ซึ่งเป็นสารอนุพันธ์ของ triterpene, ursolic acid มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ HIV (anti-HIV activity) (Kashiwada et al, 2000)

4. อุตสาหกรรมสารสีและเครื่องสำอางค์ มีการใช้ไลเคนบางชนิดในอุตสาหกรรมผลิตน้ำหอม (Sanchez et al, 1997; Schulz and Albroscheit, 1989) เช่น *Evernia prunastri* และ *Pseudevernia furfuracea* ถูกนำมาใช้ในการผลิตน้ำหอมในทางตอนใต้ของยุโรปและประเทศโมร็อกโก (Romagni & Dayan, 2002) และมีการใช้ไลเคนเป็นสีในการย้อมเส้นผม (Bachmann & Portmann, 1981)

ตาราง 4

ชนิดของสารทุติยภูมิที่ไลเคนชนิดต่าง ๆ สร้างและการใช้ประโยชน์

ชื่อสาร	ชนิดของไลเคน	การใช้ประโยชน์
<i>para</i> -Depside		
Anziaic acid	<i>Anzia japonica</i> , <i>Cetrelia</i> spp.	Inhibition of prostaglandin synthesis
Atranorin	many spp.	Anticancer, fungitoxin, antifeedant, traditional medicine, perfume industry
DiffRACTaia acid	<i>Usnea</i> spp., <i>Parmelia</i> spp.	Anticancer, fungitoxic
<i>meta</i> – depside		
Boninic acid	<i>Ramalina boninensis</i>	Inhibitor of prostaglandin synthesis

ตาราง 4 (ต่อ)

ชื่อสาร	ชนิดของไลเคน	การใช้ประโยชน์
Decarboxythamnolic acid	<i>Cladonia</i> spp., <i>Siphula decumbens</i>	Vasodilators
Alectoronic acid	<i>Parmelia</i> spp., <i>Cetrelia</i> spp.	Anti-inflammatory
Norstictic acid	<i>Parmelia</i> spp., many spp.	Antiviral
Pannarin	<i>Pannaria fulvescens</i>	Traditional medicine
Physodalic acid	<i>Hypogymnia physodes</i>	Photoprotection Anti-mutagenicity
Usnic acid		
(+) and (-) usnic acid	<i>Cladonia</i> spp., <i>Cetraria stacheyi</i> , <i>Alectoria</i> spp., many spp.	Anticancer, cosmetic, deodorant, toothpaste, preservative, antimicrobial, fungicidal, acne protection, herbicidal, treatment for tyrosinemia
Chromones		
Coeuplectin	<i>Flavoparmelia euplecta</i>	Anticancer
Euplectin	<i>F. euplecta</i>	Anticancer
Lepraric acid	<i>Sagenidium molle</i>	Anticancer
Depsidone		
Siphulin	<i>Siphula ceratites</i>	Anticancer
Sordinone	<i>Lecanora</i> spp.	Anticancer
Xanthones		
Arthothelin	<i>Arthothelium pacificum</i> ,	Antidepressant
Lichexanthone	<i>Lecanora vinetorum</i> <i>Parmelia</i> spp., <i>Lecidea Stigmatea</i>	Dye, adhesive

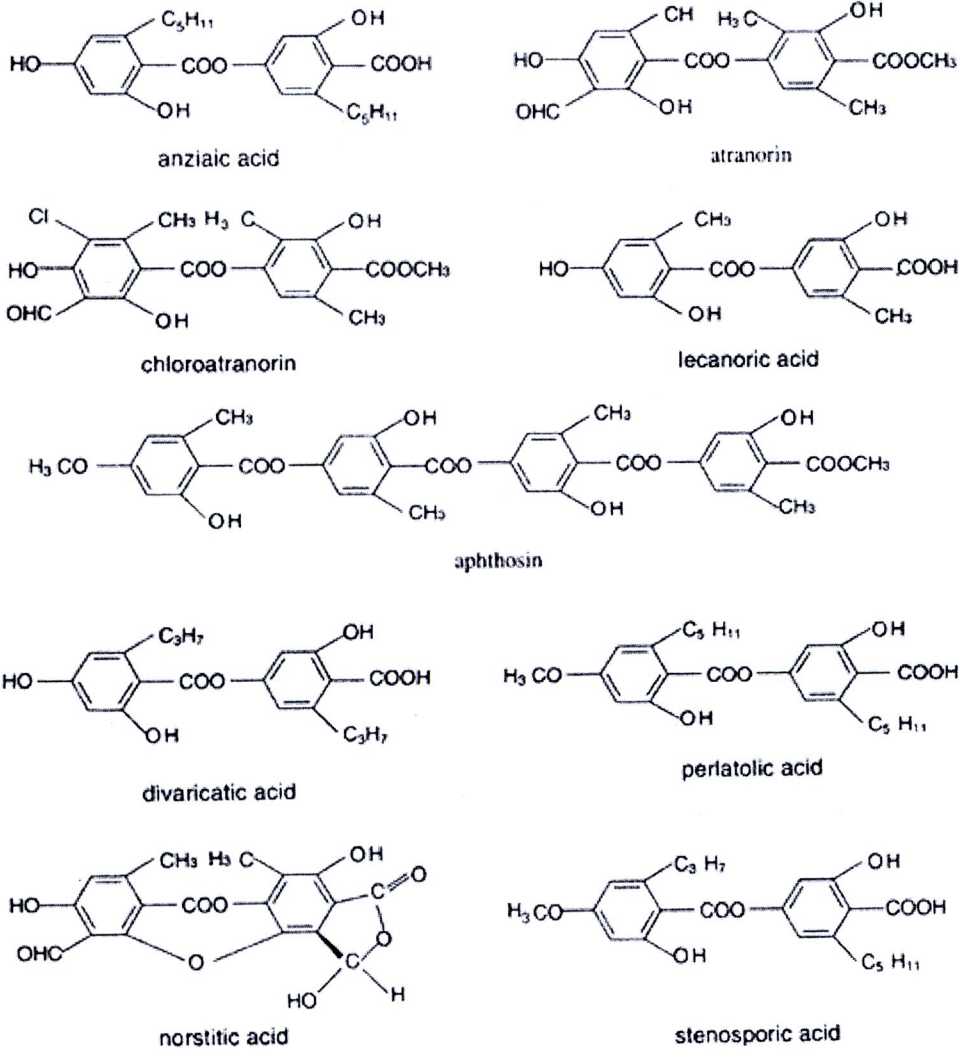
ตาราง 4 (ต่อ)

ชื่อสาร	ชนิดของไลเคน	การใช้ประโยชน์
Anthraquinone		
Chiodectonic acid	<i>Herpothallon sanguineum</i>	Anti-mutagenic
Chrysophanol	<i>Acroscyphus</i> <i>sphaerophoroides</i>	Anti-mutagenic, aborteficient, dye
Emodin	<i>Nephroma laevigatum</i> , <i>Heterodermia</i>	Antioxidant, medicinal, DNA repair, tyrosine kinase inhibitor, anti-mutagenic
Parietin	<i>Xanthoria parietina</i> , many Others	Drug delivery, Photoprotection
Rugulosin	<i>Acroscyphus sphaerophoroides</i>	Antibiotic
Skyrin	<i>Acroscyphus sphaerophoroides</i>	Diabetes treatment
Solorinic acid	<i>Solorina crocea</i>	Antiviral, monoamine
Diterpene		
(-)-16 α -hydroxykaurane	<i>Ramalina ceruchis</i>	Immunosuppression, cytotoxic
Triterpene		
Retigeranic acid	<i>Lobaria subretigera</i>	Antimicrobial
Triterpene C	<i>Lobaria</i> spp.	Antiviral, antimicrobial
Triterpene D	<i>Lobaria</i> spp.	Antiviral, antimicrobial
Triterpene N-1	<i>Parmelia entotheiochroa</i>	Antiviral
Pulvinic acids		
Calycin	<i>Sticta</i> spp., <i>Lecidea lucida</i> , Many others	Hair and skin care
Vulpinic acid	Many spp.	Anti-herbivory

ตาราง 4 (ต่อ)

ชื่อสาร	ชนิดของไลเคน	การใช้ประโยชน์
Sterols		
Ergosterol	Many spp.	Medicinal
Sitosterol	<i>Lecanora dispersa</i>	Cosmetic, dermatology, food additive
Terphenylquinone		
Polyporic acid	<i>Sticta coronata</i>	Antileukemic, antitumor, antibacterial
Thelephoric acid	<i>Lobaria</i> spp.	Endopeptidase inhibitor, lipid peroxidation inhibitor
Dibenzopyranone		
Entothein	<i>Parmelia auralenta</i>	Bactericidal, anticancer

ที่มา. จาก *Advances in Microbial Toxin Research and its Biotechnological Exploration* (p. 151-169) by J. Romagni, 2002, New York: Kluwer Academic/Plenum Publisher.



ภาพ 2 โครงสร้างสารทุติยภูมิจากไลเคน (lichen substances)

ที่มา. จาก “Lichens as a potential natural source of bioactive compounds” by Shukla et al., 2010, *Phytochemistry Review*, 9, p. 305.

สารทุติยภูมิ (secondary metabolites) ที่ไลเคนผลิตขึ้นมาทั้งหมดสร้างจากรา ในสภาพธรรมชาติไลเคนจะผลิตสารทุติยภูมิออกมาเพื่อป้องกันแสงแดดให้กับสาหร่าย (Fahselt, 1994) ป้องกันราที่เป็นปรสิต ป้องกันตัวจากการถูกแมลงกินและสัตว์อื่น ๆ (Emmerichet et al, 1993) สารทุติยภูมิจะถูกสร้างจากภายในเซลล์ แต่จะถูกส่งออกมาเก็บสะสมไว้บริเวณผิวนอกของเส้นใยมากกว่าที่จะเก็บไว้ในเซลล์เอง สารทุติยภูมิส่วนใหญ่จะเป็นสารที่ไม่ละลายน้ำและต้องอาศัยสารละลายอินทรีย์ในการสกัด (Elix &

Stocker-Wörgötter, 2008; Romagni & Dayan, 2002) โดยสารทุติยภูมิที่พบโครงสร้างแล้วมีมากกว่า 800 ชนิด (Dembitsky & Tolsikov, 2005; Huneck and Yoshimura, 1996; Huneck, 1999) สารทุติยภูมิเกิดจากการสร้างของราและราที่เพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการนั้นมีทั้งที่สร้างสารทั้งที่เหมือนและแตกต่างไปจากที่พบในไลเคนธรรมชาติ (Stocker-Wörgötter, 2001) ในขณะที่สาหร่ายจะสร้างสารปฐมภูมิ (primary metabolites) ซึ่งเป็นสารจำพวกคาร์โบไฮเดรตที่เกิดจากกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง (Mosbach, 1969) โดยสารทุติยภูมิส่วนใหญ่ที่พบจะเป็นสารที่พบได้เฉพาะในไลเคนเท่านั้น มีเพียงส่วนน้อยประมาณ 50-60 ชนิด ที่พบเหมือนกับในพืชชั้นสูงหรือราชนิดอื่น ๆ (Culberson, 1969; Elix, 1996; Elix & Stocker-Wörgötter, 2008) ตัวอย่างเช่น anthraquinone และ parietin เป็นรงควัตถุสีส้มที่พบได้ในไลเคนวงศ์ Teloschistales และยังสามารถพบได้ในราสกุลอื่นๆ เช่น *Aspergillus* และ *Penicillium* รวมทั้งในพืชหลายชนิด เช่น *Rheum*, *Rumex* และ *Ventilago* (Romagni & Dayan, 2002)

สารทุติยภูมิของราที่ก่อให้เกิดไลเคน

สารทุติยภูมิที่ราผลิตขึ้นจะมีความแตกต่างไปขึ้นอยู่กับลักษณะความสัมพันธ์ของรากับสาหร่าย ได้แก่ (1) ลักษณะความสัมพันธ์แบบไลเคนในสภาพธรรมชาติ (2) ลักษณะความสัมพันธ์แบบไลเคนที่สังเคราะห์ขึ้นในห้องปฏิบัติการ หรือ (3) ราที่ก่อให้เกิดไลเคนที่แยกมาเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ (Ahmadjian, 1993) จากกรณีตัวอย่างไลเคน *Cladonia cristatella* ในสภาพในธรรมชาติจะผลิตสาร usnic, barbatic และ didymic acids ขณะที่ไลเคนที่สังเคราะห์ขึ้นในห้องปฏิบัติการจะผลิต barbatic, didymic และ usnic acids ในปริมาณน้อย (Bastian, 1984; Culberson et al, 1983; Huovinen et al, 1989) และในการเลี้ยงราที่ก่อให้เกิดไลเคนของ *C. cristatella* ในห้องปฏิบัติการพบว่าบางครั้งผลิตเฉพาะ didymic acids (Ahmadjian & Jacobs, 1983)

การสร้างสารทุติยภูมิของราที่ก่อให้เกิดไลเคนในห้องปฏิบัติการขึ้นอยู่กับองค์ประกอบของสารอาหารในอาหารเลี้ยงเชื้อและปัจจัยทางกายภาพเช่น อุณหภูมิ,

ออกซิเจน, ความแห้ง และ รังสีอัลตราไวโอเล็ต (Hamada, 1996; Stocker-Wörgötter & Elix, 2002; Yamamoto, Kinoshita & Fujita, 1998)

Hamada (1996) ได้ผลึกของ usnic acid จำนวนมากจากการเลี้ยงราที่ก่อให้เกิดไลเคน *Lecanora pulverulenta* ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีการเติมซูโครสและ Hamada, Tanahashi, Miyagawa, and Miyawaki (2001) พบสารแซนโทนจากการเลี้ยงราที่ก่อให้เกิดไลเคน *Pyrenula pseudobufonia*

Stocker-Wörgötter, Hager and Elix, (2009) ศึกษาถึงการสร้างสาร anthraquinones และ depsides ในราที่ก่อให้เกิดไลเคนสกุล *Haematomma* ที่ได้จากการตอบสนองต่อความเครียดและความต้องการสารอาหาร

ตาราง 5

สารทุติยภูมิที่ผลิตขึ้นจากราที่ก่อให้เกิดไลเคน

Metabolite	Mycobiont (MY) (my) or Tissue	Reference
Culture (TC) (tc)		
Aliphatics		
Graphenone	<i>Graphis scripta</i> [MY]	(Miyagawa <i>et al</i> 1994)
Roccellic acid	<i>Lecanora rupicola</i> [MY]	(Fox & Huneck 1969)
Zeorin	<i>Anaptychia hypoleuca</i> [MY]	(Ejiri & Shibata 1974)
Anthraquinone		
Bellidiflorin	<i>Cladonia graciliformis</i> [my]	(Ejiri <i>et al</i> 1975)
	<i>Cladonia bellidiflora</i> [my]	(Ejiri <i>et al</i> 1975)
7-Chloroemodin Emodin	<i>Caloplaca ferruginea</i> [MY]	(Renner & Gerstner 1978)
Emodin	<i>Caloplaca</i> sp. [my]	(Nakano <i>et al</i> 1972)
	<i>Usnea diffracta</i> [my]	(Yamamoto <i>et al</i> 1998)

ตาราง 5 (ต่อ)

Metabolite	Mycobiont (MY) (my) or Tissue	Reference
	Culture (TC) (tc)	
Erythroglaucin	<i>Xanthoria fallax</i> [MY]	(Nakano <i>et al</i> 1972)
	<i>Xanthoria mandschurica</i> [MY]	(Nakano <i>et al</i> 1972)
Fallacinal	<i>Xanthoria fallax</i> [MY]	(Nakano <i>et al</i> 1972)
Fallacinol	<i>Xanthoria fallax</i> [MY]	(Nakano <i>et al</i> 1972)
Fragilin	<i>Caloplaca</i> sp. [MY]	(Nakano <i>et al</i> 1972)
Graciliformin	<i>Cladonia hellidiflora</i> [my]	(Ejiri <i>et al</i> 1975)
	<i>Cladonia graciliformis</i> [my]	(Ejiri <i>et al</i> 1975)
Parietin	<i>Caloplaca</i> sp. [MY]	(Nakano <i>et al</i> 1972)
	<i>Usnea diffracta</i> [my]	(Yamamoto <i>et al</i> 1998)
	<i>Xanthoria calcicola</i> [MY]	(Honegger & Kutasi 1990)
	<i>Xanthoria elegans</i> [MY]	(Honegger & Kutasi 1990;
		Yoshimura <i>et al</i> 1994)
	<i>Xanthoria fallax</i> [MY]	(Nakano <i>et al</i> 1972;
		Yoshimura <i>et al.</i> 1994)
	<i>Xanthoria mandschurica</i> [MY]	(Nakano <i>et al</i> 1972;
		Yoshimura <i>et al</i> 1994)
	<i>Xanthoria mawsoni</i> [MY]	(Yoshimura <i>et al</i> 1994)
Skyrin	<i>Xanthoria parietina</i> [MY]	(Honegger & Kutasi 1990)
	<i>Cladonia bellidiflora</i> [my]	(Ejiri <i>et al</i> 1975)
	<i>Cladonia graciliformis</i> [my]	(Ejiri <i>et al</i> 1975)

ตาราง 5 (ต่อ)

Metabolite	Mycobiont (MY) (my) or Tissue	Reference
Culture (TC) (tc)		
Chromones		
Eugentin	<i>Lecanora rupicola</i> [MY]	(Fox & Huneck 1969)
Eugentiol	<i>Lecanora rupicola</i> [MY]	(Fox & Huneck 1969)
5-Hydroxy-2,3-dimethyl-7-thoxychromone	<i>Graphis scripta</i> [MY]	(Takenaka <i>et al</i> 2000)
5-Hydroxy-3-hydroxymetyl-2-methyl-7-methoxychromone	<i>Graphis scripta</i> [MY]	(Takenaka <i>et al</i> 2000)
5-Hydroxy-2-hydroxymetyl-3-methyl-7-methoxychromone	<i>Graphis scripta</i> [MY]	(Takenaka <i>et al</i> 2000)
Rupicolon	<i>Lecanora rupicola</i> [MY]	(Fox & Huneck 1969)
Coumarins		
8-O-methyldichorodiaportin	<i>Graphis</i> sp. [MY]	(Tanahashi <i>et al</i> 2000)
6,8-Di-O-methylcitreoisocoumarin	<i>Graphis</i> sp. [MY]	(Tanahashi <i>et al</i> 2000)
Depsides		
Atranorin	<i>Usnea hirta</i> [MY]	
	<i>Lecanora bicincta</i> [MY]	(Hamada <i>et al</i> 1997)
Baeomycesic acid	<i>Flavocetraria nivalis</i> [MY]	(Yoshimura <i>et al</i> 1994)
Barbatic acid	<i>Acarospora fuscata</i> [my]	(Yamamoto <i>et al</i> 1996)
Decarboxystenosporic acid	<i>Usnea diffracta</i> [my]	(Yamamoto <i>et al</i> 1998)
Gyrophoric acid	<i>Rhizocarpon eupertraeum</i> [MY]	(Hamada <i>et al</i> 1997)

ตาราง 5 (ต่อ)

Metabolite	Mycobiont (MY) (my) or Tissue	Reference
	Culture (TC) (tc)	
Lecanoric acid	<i>Stereocaulon curtatum</i> [MY]	(Hamada & Ueno 1990)
Norbarbatic acid	<i>Ramalina siliquosa</i> [MY]	(Hamada & Ueno 1987)
	<i>Ramalina subcomplanata</i> [MY]	(Hamada 1988)
	<i>Ramalina subbreviscula</i> [MY]	(Hamada 1988)
Norsphaerophorin	<i>Cladonia grayi</i> [MY]	(Culberson & Armaleo 1992)
Squamatic acid	<i>Flavocetraria nivalis</i> [MY]	(Yoshimura <i>et al</i> 1994)
	<i>Cladonia cnskata</i> [MY]	(Ejiri & Shibata 1975)
Depsidone		
Confluent acid	<i>Lecidea tessellata</i> [MY]	(Hamada <i>et al</i> 1997)
Dechloropannarin	<i>Lecanora dispersa</i> [MY&my]	(Leuckert <i>et al</i> 1990)
Grayanic acid	<i>Cladonia grayi</i> [MY]	(Culberson & Armaleo 1992)
Norgrayanic acid	<i>Cladonia grayi</i> [MY]	(Culberson & Armaleo 1992)
Norstictic acid	<i>Protoparmelia cupreobadia</i> [MY]	
Pannarin	<i>Lecanora dispersa</i> [MY]	(Leuckert <i>et al</i> 1990)
Protocetraric acid	<i>Usnea flexilis</i> [MY&TC]	(Yoshimura <i>et al</i> 1989)
Salazinic acid	<i>Ramalina crassa</i> [MY]	(Komiya <i>et al</i> 1969)
Dibenzofurans		
Didymic acid	<i>Cladonia cristatella</i> [MY]	(Castle & Kubsch 1949)
	<i>Cladonia cristatella</i> [MY & TC]	(Culberson & Ahmadjian 1980)
Hyposterpsilalic acid	<i>Stereocaulon japonicum</i> [MY]	(Miyagawa <i>et al</i> 1997)

ตาราง 5 (ต่อ)

Metabolite	Mycobiont (MY) (my) or Tissue		Reference
	Culture (TC) (tc)		
Hypostrepsilic acid	<i>Evernia esorediosa</i> [MY]		(Miyagawa <i>et al</i> 1993)
	<i>Usnea orientalis</i> [MY]		(Kon <i>et al</i> 1997)
Isostrepsilic acid	<i>Usnea orientalis</i> [MY]		(Kon <i>et al</i> 1997)
Usnic acid	<i>Cetraria islandica</i> [MY]		(Yoshimura <i>et al</i> 1994)
	<i>Cladonia cristatella</i> [MY]		(Castle & Kubsch 1949)
	<i>Evernia prunastri</i> [MY]		(Yoshimura <i>et al</i> 1994)
	<i>Pseudephebe pubescens</i> [MY]		(Yoshimura <i>et al</i> 1994)
	<i>Ramalina crassa</i> [MY]		(Komiya & Shibata 1969)
	<i>Ramalina duriaei</i> [MY]		(Yoshimura <i>et al</i> 1994)
	<i>Ramalina siliquosa</i> [MY]		(Hamada 1991)
	<i>Ramalina subbreviscula</i> [MY]		(Yoshimura <i>et al</i> 1994)
	<i>Ramalina yasudae</i> [MY]		(Komiya & Shibata 1969)
	<i>Ramalina yasudae</i> [TC]		(Yamamoto <i>et al</i> 1985)
	<i>Usnea filipendula</i> [MY]		(Yoshimura <i>et al</i> 1994)
	<i>Usnea flexilis</i> [MY&TC]		(Yoshimura <i>et al</i> 1989)
	<i>Usnea hirta</i> [MY&TC]		(Kinoshita <i>et al</i> 1993)
	<i>Usnea montis-fuji</i> [MY]		(Yoshimura <i>et al</i> 1994)
	<i>Usnea mutabilis</i> [MY]		(Hamada <i>et al</i> 1997)
	<i>Usnea orientalis</i> [MY&TC]		(Kon <i>et al</i> 1993)
	<i>Usnea rubescens</i> [TC]		(Yamamoto <i>et al</i> 1985)

ตาราง 5 (ต่อ)

Metabolite	Mycobiont (MY) (my) or Tissue	Reference
Culture (TC) (tc)		
Dibenzopyranoues		
Graphislactone A	<i>Graphis scripta pulverulenta</i> [MY]	(Tanahashi <i>et al</i> 1997)
Graphislactone B	<i>Graphis scripta pulverulenta</i> [MY]	(Tanahashi <i>et al</i> 1997)
Graphislactone C	<i>Graphis scripta pulverulenta</i> [MY]	(Tanahashi <i>et al</i> 1997)
Furanoquinones		
Graphisquinone	<i>Graphis desquamescens</i> [MY]	(Miyagawa <i>et al</i> 1994)
Naphthoquinones		
Cristazarin	<i>Cladonia cristatella</i> [MY&my]	(Yamamoto <i>et al</i> 1996)
6-Methylcristazarin	<i>Cladonia cristatella</i> [MY&my]	(Yamamoto <i>et al</i> 1996)
5,7-Dihydroxy-6-hydroxymethyl-2-methoxy-1,4-naphthoquinone	<i>Opegrapha</i> sp. [MY]	(Amano <i>et al</i> 2000)
Pulvinics		
Calycin	<i>Candellariella vitellina</i>	(Mosbach 1967)
Pulvinic acid	<i>Candellariella vitellina</i>	(Mosbach 1967)
Vulpinic acid	<i>Candellariella vitellina</i>	(Mosbach 1967)

ที่มา. จาก "Studies on tropical mycobionts" by E. Sangvichien, 2005, Doctor of Philosophy Thesis. pp. 172-174.