ห้องสมุดงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
209191

สภาวะที่เหมาะสมต่อการสร้างสารทุติยภูมิของราที่ก่อให้เกิดโรคเหา

มนตรี แสงสมเจริญกิจ

วิทยานิพนธ์เสนอต่อมหาวิทยาลัยรามคำแหง
เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (ชีววิทยา)
ปีการศึกษา 2554

b00257392

ห้องสมุดงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
209191

สภาวะที่เหมาะสมต่อการสร้างสารทุติยภูมิของราที่ก่อให้เกิดไลเคน

มนตรี แสงลาภเจริญกิจ

วิทยานิพนธ์เสนอต่อมหาวิทยาลัยรามคำแหง
เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (ชีววิทยา)
ปีการศึกษา 2554
ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยรามคำแหง

OPTIMIZATION OF LICHEN-FORMING FUNGI FOR PRODUCING SECONDARY MATABOLITES

MOMTRI SANGLARPCHAROENKIT

A THESIS PRESENTED TO RAMKHAMHAENG UNIVERSITY

IN PARTIAL FULFILLMENT OF THE REQUIREMENTS

FOR THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE

(BIOLOGY)

2011

COPYRIGHTED BY RAMKHAMHAENG UNIVERSITY

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ สภาวะที่เหมาะสมต่อการสร้างสารทุติยภูมิของราที่ก่อให้เกิดไลเคน

ชื่อผู้เขียน นายมนตรี แสงลาภเจริญกิจ

สาขาวิชา ชีววิทยา

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. เอก แสงวิเชียร ประธานกรรมการ

รองศาสตราจารย์ ดร. กัณฑรีย์ บุญประกอบ

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. จิตรตรา เพียภูเขียว

มหาวิทยาลัยรามคำแหงอนุมัติให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

.....คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์พิมล พูพิพิธ)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....ประธานกรรมการ

(รองศาสตราจารย์พชร มงคลสุข)

.....กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร. กัณฑรีย์ บุญประกอบ)

.....กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. เอก แสงวิเชียร)

.....กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. จิตรตรา เพียภูเขียว)

บทคัดย่อ

209191

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์	สภาวะที่เหมาะสมต่อการสร้างสารทุติยภูมิของราที่ก่อให้เกิดไลเคน
ชื่อผู้เขียน	นายมนตรี แสงลาภเจริญกิจ
ชื่อปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา	ชีววิทยา
ปีการศึกษา	2554

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์:

1. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. เอก แสงวิเชียร ประธานกรรมการ
2. รองศาสตราจารย์ ดร. กัณฑรีย์ บุญประกอบ
3. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. จิตรตรา เพียภูเขียว

ราที่ก่อให้เกิดไลเคนสามารถแยกและนำมาเลี้ยงในห้องปฏิบัติการได้ เมื่อทดสอบฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ด้วยวิธี Disc diffusion method ของสารสกัดหยาบจากรา จำนวน 116 ตัวอย่างพบว่า สามารถสร้างสารยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ทดสอบได้ทั้งแบคทีเรียแกรมบวก แบคทีเรียแกรมลบ และยีสต์ คัดเลือกราที่ให้ผลในการต้านจุลินทรีย์ได้ดีจำนวน 8 ไอโซเลตได้แก่ (1) *Arthopyrenia consobriana* HRK9, (2) *Arthonia myriocarpella* HRK134, (3) *Graphina albissima* KJB12, (4) *Phaeographina montagnii* KY406, (5) *Trypethelium eluteriae* KY408, (6) *Ocellularia* sp. KY491, (7) *Pyrenula kurzii* SMS11, (8) *Pyrenula* sp. KJB17 มาศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการสร้างสารทุติยภูมิต่างๆ ดังนี้

เมื่อเลี้ยงราที่ก่อให้เกิดไลเคนบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง 4 ชนิดได้แก่ Czapek' Dox (Cza), Lilly and Barnett's (LBA), Malt-Yeast Extract (MYA) และ Sabouraud 4 percent Glucose (SBA) ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 9 สัปดาห์ นำสารสกัดที่ได้มาทดสอบด้วยวิธีทินเลเยอร์โครมาโทกราฟีด้วยระบบตัวทำละลายผสมระหว่างไดคลอโรมีเทน

และเมทานอลในอัตราส่วน 10 : 0.2 โดยปริมาตร พบว่าราสร้างสารทุติยภูมิได้มากที่สุดในอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งชนิด MYA และ SBA ผลการศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการเลี้ยงราที่ก่อให้เกิดไลเคนกับการสร้างสาร เมื่อเลี้ยงราเป็นเวลา 27 สัปดาห์ เก็บตัวอย่างทุก ๆ 3 สัปดาห์พบว่า ช่วงเวลาที่เหมาะสมในการสร้างสารทุติยภูมิอยู่ในระหว่างสัปดาห์ที่ 9 ถึง 15 ส่วนผลของรังสีอัลตราไวโอเลตในสภาวะที่ทำการทดลอง ไม่มีผลต่อการสร้างสารของราที่ก่อให้เกิดไลเคนยกเว้น *T. eluteriae* สร้างจำนวนจุดสารได้มากกว่าสภาวะปกติ ส่วน *Ocellularia* sp. นั้นสร้างจุดสารได้น้อยลง เมื่อปรับค่าความเป็นกรด-ด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง MYAให้เป็น 4, 7 และ 10 ตามลำดับ เลี้ยงราที่ก่อให้เกิดไลเคน 3 ชนิดได้แก่ *G. albissima*, *Pyrenula* sp. และ *T. eluteriae* ที่อุณภูมิห้อง เป็นเวลา 9 สัปดาห์ พบว่า สารที่เกิดขึ้นในอาหารที่ได้มีการปรับค่าความเป็นกรด-ด่างไว้ทั้งสามค่ามีจำนวนจุดสารที่เท่ากันทั้งหมด การเลี้ยงราที่ก่อให้เกิดไลเคนในอาหารเหลวมอลต์ ที่อุณภูมิห้อง นาน 9 สัปดาห์โดยใช้สภาวะในการเลี้ยงที่ต่างกัน 4 แบบคือ แบบตั้งนิ่งบนชิ้นฟองน้ำสังเคราะห์ แบบการกวนอาหารเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 15 นาทีทุกๆ 3 ชั่วโมง แบบเขย่าอาหารเลี้ยงเชื้อ และแบบที่มีการให้อากาศ พบว่าในการเลี้ยงแบบตั้งนิ่ง ราสร้างสารทุติยภูมิได้มากที่สุด ในขณะที่ในสภาวะที่มีการให้อากาศไม่ประสบความสำเร็จ เนื่องจาก (1) การเลี้ยงในขวด DURAN® อาหารเลี้ยงเชื้อลดปริมาตรและแห้งลงจนเกือบหมดภายในเวลา 5 วัน (2) ใน Air-lift bioreactor พบว่ามีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์อื่นเกิดขึ้น ราที่ก่อให้เกิดไลเคน 8 ไอโซเลตในการทดลองนี้สร้างสารทุติยภูมิในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวได้มากกว่าในอาหารแข็ง

ABSTRACT

209191

Thesis Title	Optimization of Lichen-Forming Fungi for Producing Secondary Metabolites
Student's Name	Mr. Montri Sanglarpcharoenkit
Degree Sought	Master of Science
Field of Study	Biology
Academic Year	2011

Advisory Committee

1. Asst. Prof. Dr. Ek Sangvichien — Chairperson
2. Assoc. Prof. Dr. Kansri Boonpragob
3. Asst. Prof. Dr. Jittra Piapukiew

The lichen-forming fungi or mycobionts can be isolated and grown in the laboratory. Using a screening scheme for antimicrobial assay by the disc diffusion method, one hundred and sixteen mycobiont concentrated culture broths were evaluated. Most of them exhibited activities against test organisms, including Gram positive and negative bacteria and yeasts. Eight selected mycobionts (1) *Arthopyrenia consobriana* HRK9, (2) *Arthonia myriocarpella* HRK134, (3) *Graphina albissima* KJB12, (4) *Trypethelium eluteriae* KY408, (5) *Ocellularia* sp. KY491, (6) *Phaeographina montagnii* KY406, (7) *Pyrenula kurzii* SMS11 and (8) *Pyrenula* sp. KJB17 were chosen for further studies of secondary metabolite production under different culture conditions.

The mycobionts were grown on four different solid media (1) Czapek' Dox Agar (Cza), (2) Lilly and Barnett's Agar (LBM), (3) Malt-Yeast Extract Agar (MYA) and (4) Sabouraud 4 percent Glucose (SBA) for 9 weeks of cultivation at 25°C. Secondary metabolites were extracted and detected by TLC with a solvent system comprising of dichloromethane : methanol (10 : 0.2). Most of the mycobionts produced a higher number of secondary metabolites after growth in MYA and SBA. During 27 weeks of cultivation, samples were collected every three weeks and investigated for metabolites produced. The results showed that most of the mycobionts produced the highest yield of secondary metabolites from weeks 9 to 15. Furthermore ultraviolet light had no effects on metabolite production except for *T. eluteriae* (KY408) which produced more substances whilst *Ocellularia* sp. (KY491) produced a lower number of substances. Culturing with MYA at pH 4, 7 and 10 under the same conditions revealed that all of the representative mycobionts *G. albissima*, *Pyrenula* sp. and *T. eluteriae* produced the same number of bioactive substances. For liquid culture conditions, MYB was chosen, the mycobionts were grown under four different conditions; static culture on synthetic sponge, interval stirred every 3 hours for 15 minutes, shaking at 200 rpm and with aeration systems. It was found that the mycobionts grown on synthetic sponge produced the highest amount of secondary metabolites. The effect of aeration in DURAN® flasks and an air-lift bioreactor, was unsatisfactory as the media dried out rapidly and microbial contamination was a problem. All of the mycobionts produced higher number of substances in liquid media.

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จสมบูรณ์ได้ด้วยความกรุณาของ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. เอก แสงวิเชียร อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่ช่วยให้คำแนะนำ ข้อคิดเห็นต่าง ๆ ตลอดจนช่วยเหลือสนับสนุนในทุก ๆ ด้านพร้อมทั้งแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ ด้วยความเอาใจใส่อย่างดียิ่งตลอดมา รวมทั้งได้ช่วยตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูง

ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. กัณฑรีย์ บุญประกอบ และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. จิตรตรา เพียภูเขียว กรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่ได้กรุณาช่วยตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์พชร มงคลสุข ที่กรุณารับเป็นประธานกรรมการสอบป้องกันวิทยานิพนธ์ รองศาสตราจารย์ ดร. กัณฑรีย์ บุญประกอบ และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. จิตรตรา เพียภูเขียว ที่กรุณารับเป็นกรรมการสอบป้องกันวิทยานิพนธ์และได้ให้ข้อคิดเห็น ข้อแนะนำที่ช่วยทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้มีสมบูรณ์มากขึ้น

ขอกราบขอบพระคุณ ศาสตราจารย์ ดร. อภิชาต สุขสำราญ และขอขอบคุณนางสาวประภากร แค่มจันทึก ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยรามคำแหง ขอขอบคุณ ดร. รัชนาพร โชคชัยสิริ ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยพะเยา สำหรับคำแนะนำและความช่วยเหลือในการสกัดแยกสารและวิเคราะห์โครงสร้างสาร

ขอกราบขอบพระคุณอาจารย์และขอขอบคุณนักวิจัยประจำหน่วยวิจัยไลเคน ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยรามคำแหงทุกท่าน สำหรับความช่วยเหลือในการเก็บตัวอย่างและการตรวจสอบชื่อวิทยาศาสตร์ของไลเคน

ขอขอบคุณนายธีรภัทร เหลืองศุภบูลย์ สำหรับคำแนะนำและความช่วยเหลือในการทำวิทยานิพนธ์เล่มนี้

ขอขอบคุณคณาจารย์และเจ้าหน้าที่ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยรามคำแหงทุกท่านที่ให้ความช่วยเหลือและอำนวยความสะดวกในการทำวิทยานิพนธ์ด้วยดีตลอดมา

คุณค่าและประโยชน์อันพึงเกิดจากวิทยานิพนธ์เล่มนี้ ผู้วิจัยขอมอบเป็นเครื่องบูชาพระคุณของบิดามารดา ครูอาจารย์ และผู้มีพระคุณทุกท่านด้วยความเคารพรัก

มนตรี แสงลาภเจริญกิจ

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย..... (4)

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ..... (6)

กิตติกรรมประกาศ..... (8)

สารบัญตาราง..... (12)

สารบัญภาพ..... (15)

คำอธิบายคำย่อ..... (19)

บทที่

1 บทนำ..... 1

วัตถุประสงค์ของการวิจัย..... 3

นิยามศัพท์เฉพาะ..... 3

2 วรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง..... 5

ไลเคน..... 5

ราที่ก่อให้เกิดไลเคน..... 5

สารทุติยภูมิของไลเคน..... 13

สารทุติยภูมิของราที่ก่อให้เกิดไลเคน..... 21

3 วิธีดำเนินการวิจัย..... 28

สถานที่ศึกษาเก็บข้อมูลวิจัย..... 28

เครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง..... 28

สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง..... 29

ขั้นตอนในการดำเนินการวิจัย..... 32

การจัดจำแนกชนิดไลเคน..... 32

การแยกเชื้อบริสุทธิ์และเพาะเลี้ยงราที่ก่อให้เกิดไลเคน..... 33

บทที่ หน้า
การทดสอบฤทธิ์ในการต้านจุลชีพของสารสกัดจากราที่ก่อให้เกิดไลเคน 33
ราที่ก่อให้เกิดไลเคนที่ใช้ในการทดลอง 34
การทดลองเพื่อศึกษาสารทุติยภูมิจากราที่ก่อให้เกิดไลเคนในสภาวะแวดล้อมต่าง ๆ 35
การตรวจสอบสารทุติยภูมิเบื้องต้นด้วยวิธีทินเลเยอร์โครมาโทกราฟี (Thin layer Chromatography - - TLC) 41
4 ผลการศึกษา 42
ผลการทดสอบฤทธิ์ในการต้านจุลชีพของสารสกัดจากราที่ก่อให้เกิดไลเคน 42
การทดลองเพื่อศึกษาสารทุติยภูมิจากราที่ก่อให้เกิดไลเคนในสภาวะแวดล้อมต่าง ๆ 46
5 อภิปราย และสรุปผลการศึกษา 124
อภิปรายผลการศึกษา 124
สรุปผลการศึกษา 131
ภาคผนวก 134
อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี 135
บรรณานุกรม 139
ประวัติผู้เขียน 147

สารบัญตาราง

ตาราง		หน้า
1	ชนิดของราที่ก่อให้เกิดไลเคนในซับดิวิชัน (subdivision) ของรา	6
2	การจัดจำแนกหมวดหมู่ราที่ก่อให้เกิดไลเคน (Classification of lichen-forming fungi)	6
3	กลุ่มของสารทุติยภูมิหลักที่พบในไลเคน	13
4	ชนิดของสารทุติยภูมิที่ไลเคนชนิดต่าง ๆ สร้างและการใช้ประโยชน์	16
5	สารทุติยภูมิที่ผลิตขึ้นจากราที่ก่อให้เกิดไลเคน	22
6	แหล่งที่มา จำนวนตัวอย่างไลเคนที่เก็บและจำนวนไอโซเลตที่แยกได้	30
7	ผลทดสอบฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ทดสอบของราที่ก่อให้เกิดไลเคน	42
8	รูปแบบตำแหน่งค่า Rf ของแถบสารสกัดของ *A. consobriana*	48
9	รูปแบบตำแหน่งค่า Rf ของแถบสารสกัดของ *A. myriocarpella*	50
10	รูปแบบตำแหน่งค่า Rf ของแถบสารสกัดของ *G. albissima*	52
11	รูปแบบตำแหน่งค่า Rf ของแถบสารสกัดของ *Pyrenula* sp.	55
12	รูปแบบตำแหน่งค่า Rf ของแถบสารสกัดของ *P. montagnii*	57
13	รูปแบบตำแหน่งค่า Rf ของแถบสารสกัดของ *T. eluteriae*	60
14	รูปแบบตำแหน่งค่า Rf ของแถบสารสกัด ของ*Ocellularia* sp.	62
15	รูปแบบตำแหน่งค่า Rf ของแถบสารสกัด ของ *P. kurzii*	64
16	จำนวนจุดสารที่เกิดขึ้น	65
17	รูปแบบตำแหน่งค่า Rf ของแถบสารสกัด ของ *A. consobriana*	67
18	รูปแบบตำแหน่งค่า Rf ของแถบสารสกัด ของ *A. myriocarpella*	68
19	รูปแบบตำแหน่งค่า Rf ของแถบสารสกัด ของ*G. albissima*	69
20	รูปแบบตำแหน่งค่า Rf ของแถบสารสกัด ของ *Pyrenula* sp.	71
21	รูปแบบตำแหน่งค่า Rf ของแถบสารสกัด ของ *P. montagnii*	72

ตาราง หน้า

22 รูปแบบตำแหน่งค่า Rf ของแถบสารสกัด ของ *T. eluteriae*..... 74
23 รูปแบบตำแหน่งค่า Rf ของแถบสารสกัด ของ *Ocellularia* sp. 76
24 รูปแบบตำแหน่งค่า Rf ของแถบสารสกัด ของ *P. kurzii*..... 77
25 จำนวนจุดสารที่เกิดขึ้นในแต่ละช่วงเวลา 78
26 รูปแบบตำแหน่งค่า Rf ของแถบสารสกัด ของ *A. consobriana*..... 80
27 รูปแบบตำแหน่งค่า Rf ของแถบสารสกัด ของ *A. myriocarpella* 82
28 รูปแบบตำแหน่งค่า Rf ของแถบสารสกัด ของ *G. albissima*..... 84
29 รูปแบบตำแหน่งค่า Rf ของแถบสารสกัด ของ *Pyrenula* sp. 86
30 รูปแบบตำแหน่งค่า Rf ของแถบสารสกัด ของ *P. montagnii* 88
31 รูปแบบตำแหน่งค่า Rf ของแถบสารสกัด ของ *T. eluteriae*..... 90
32 รูปแบบตำแหน่งค่า Rf ของแถบสารสกัด ของ *Ocellularia* sp. 92
33 รูปแบบตำแหน่งค่า Rf ของแถบสารสกัด ของ *P. kurzii*..... 94
34 จำนวนจุดสารที่เกิดขึ้น..... 95
35 รูปแบบตำแหน่งค่า Rf ของแถบสารสกัด ของ *G. albissima*. 97
36 รูปแบบตำแหน่งค่า Rf ของแถบสารสกัด ของ *Pyrenula* sp. 99
37 รูปแบบตำแหน่งค่า Rf ของแถบสารสกัด ของ *T. eluteriae*..... 101
38 จำนวนจุดสารที่เกิดขึ้น..... 102
39 รูปแบบตำแหน่งค่า Rf ของแถบสารสกัด ของ *A. consobriana*..... 105
40 รูปแบบตำแหน่งค่า Rf ของแถบสารสกัด ของ *A. myriocarpella* 107
41 รูปแบบตำแหน่งค่า Rf ของแถบสารสกัด ของ *G. albissima*..... 109
42 รูปแบบตำแหน่งค่า Rf ของแถบสารสกัด ของ *Pyrenula* sp. 111
43 รูปแบบตำแหน่งค่า Rf ของแถบสารสกัด ของ *P. montagnii* 113
44 รูปแบบตำแหน่งค่า Rf ของแถบสารสกัด ของ *T. eluteriae*..... 115
45 รูปแบบตำแหน่งค่า Rf ของแถบสารสกัด ของ *Ocellularia* sp. 117

ตาราง หน้า

46 รูปแบบตำแหน่งค่า Rf ของแถบสารสกัด ของ *P. kurzii*..... 119
47 จำนวนจุดสารที่เกิดขึ้นในอาหารเหลว..... 120
48 เปรียบเทียบจำนวนจุดสารที่เกิดขึ้นในอาหารแข็งกับอาหารเหลว..... 121

สารบัญภาพประกอบ

ภาพ		หน้า
1	วิถีการสังเคราะห์สารทุติยภูมิ (secondary metabolites) ในไลเคน	15
2	โครงสร้างสารทุติยภูมิจากไลเคน (lichen substances)	20
3	บริเวณแหล่งที่ใช้ในการสำรวจและเก็บตัวอย่างไลเคนในจังหวัดต่าง ๆ	31
4	ขวดเลี้ยงเซลล์ Spinner Flasks ขนาด 500 มิลลิลิตร	38
5	ขวด DURAN® ขนาด 250 มิลลิลิตร	39
6	ถังหมัก Air-lift bioreactor ขนาด 1000 มิลลิลิตร	40
7	*A. consobriana* เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง 4 ชนิด ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 9 สัปดาห์ (ก). Czapek' Dox (ข). Lilly & Barnett's (ค). Malt-Yeast Extract (ง). Sabouraud 4% Glucose	47
8	ผลการตรวจหาสารทุติยภูมิที่ *A. consobriana* สร้าง ด้วยวิธี TLC (ก). เซลล์ (ข). อาหารเลี้ยงเชื้อ	48
9	*A. myriocarpella* เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง 4 ชนิด ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 9 สัปดาห์ (ก). Czapek' Dox (ข). Lilly & Barnett's (ค). Malt-Yeast Extract (ง). Sabouraud 4% Glucose	49
10	ผลการตรวจหาสารทุติยภูมิที่ *A. myriocarpella* สร้าง ด้วยวิธี TLC (ก). เซลล์ (ข). อาหารเลี้ยงเชื้อ	50
11	*G. albissima* เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง 4 ชนิด ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 9 สัปดาห์ (ก). Czapek' Dox (ข). Lilly & Barnett's (ค). Malt-Yeast Extract (ง). Sabouraud 4% Glucose	51
12	ผลการตรวจหาสารทุติยภูมิที่ *G. albissima* สร้าง ด้วยวิธี TLC (ก). เซลล์ (ข). อาหารเลี้ยงเชื้อ	52

ภาพ หน้า

13 *Pyrenula* sp. เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง 4 ชนิด ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 9 สัปดาห์ (ก).Czapek' Dox (ข).Lilly & Barnett's (ค).Malt-Yeast Extract (ง). Sabouraud 4% Glucose 53

14 ผลการตรวจหาสารทุติยภูมิที่ *Pyrenula* sp. สร้าง ด้วยวิธี TLC (ก). เซลล์ (ข). อาหารเลี้ยงเชื้อ 54

15 *P. montagnii* เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง 4 ชนิด ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 9 สัปดาห์ (ก). Czapek' Dox (ข). Lilly & Barnett's (ค). Malt-Yeast Extract (ง). Sabouraud 4% Glucose 56

16 ผลการตรวจหาสารทุติยภูมิที่ *P. montagnii* สร้าง ด้วยวิธี TLC (ก). เซลล์ (ข). อาหารเลี้ยงเชื้อ 57

17 *T. eluteriae* เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง 4 ชนิด ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 9 สัปดาห์ (ก). Czapek' Dox (ข). Lilly & Barnett's (ค). Malt-Yeast Extract (ง). Sabouraud 4% Glucose 58

18 ผลการตรวจหาสารทุติยภูมิที่ *T. eluteriae* สร้าง ด้วยวิธี TLC (ก). เซลล์ (ข). อาหารเลี้ยงเชื้อ 59

19 *Ocellularia* sp. เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง 4 ชนิด ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 9 สัปดาห์ (ก). Czapek' Dox (ข). Lilly & Barnett's (ค). Malt-Yeast Extract (ง). Sabouraud 4% Glucose 61

20 ผลการตรวจหาสารทุติยภูมิที่ *Ocellularia* sp. สร้าง ด้วยวิธี TLC (ก). เซลล์ (ข). อาหารเลี้ยงเชื้อ 62

21 *P. kurzii* เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง 4 ชนิด ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 9 สัปดาห์ (ก). Czapek' Dox (ข). Lilly & Barnett's (ค). Malt-Yeast Extract (ง). Sabouraud 4% Glucose 63

22 ผลการตรวจหาสารทุติยภูมิที่ *P. kurzii* สร้าง ด้วยวิธี TLC (ก). เซลล์ (ข). อาหารเลี้ยงเชื้อ 64

ภาพ หน้า

23 ผลการตรวจหาสารทุติยภูมิที่ *A. consobriana* สร้าง ด้วยวิธี TLC
(ก). เซลล์ (ข). อาหารเลี้ยงเชื้อ..... 66
24 ผลการตรวจหาสารทุติยภูมิที่ *A. myriocarpella* สร้าง ด้วยวิธี TLC
(ก). เซลล์ (ข). อาหารเลี้ยงเชื้อ 68
25 ผลการตรวจหาสารทุติยภูมิที่ *G. albissima* สร้าง ด้วยวิธี TLC
(ก). เซลล์ (ข). อาหารเลี้ยงเชื้อ 69
26 ผลการตรวจหาสารทุติยภูมิที่ *Pyrenula* sp. สร้าง ด้วยวิธี TLC
(ก). เซลล์ (ข). อาหารเลี้ยงเชื้อ 70
27 ผลการตรวจหาสารทุติยภูมิที่ *P. montagnii* สร้าง ด้วยวิธี TLC
(ก). เซลล์ (ข). อาหารเลี้ยงเชื้อ 72
28 ผลการตรวจหาสารทุติยภูมิที่ *T. eluteriae* สร้าง ด้วยวิธี TLC
(ก). เซลล์ (ข). อาหารเลี้ยงเชื้อ 73
29 ผลการตรวจหาสารทุติยภูมิที่ *Ocellularia* sp. สร้าง ด้วยวิธี TLC
(ก). เซลล์ (ข). อาหารเลี้ยงเชื้อ 75
30 ผลการตรวจหาสารทุติยภูมิที่ *P. kurzii* สร้าง ด้วยวิธี TLC
(ก). เซลล์ (ข). อาหารเลี้ยงเชื้อ 77
31 ผลการตรวจหาสารทุติยภูมิที่ *A. consobriana* สร้าง ด้วยวิธี TLC 79
32 ผลการตรวจหาสารทุติยภูมิที่ *A. myriocarpella* สร้าง ด้วยวิธี TLC..... 81
33 ผลการตรวจหาสารทุติยภูมิที่ *G. albissima* สร้าง ด้วยวิธี TLC..... 83
34 ผลการตรวจหาสารทุติยภูมิที่ *Pyrenula* sp. สร้าง ด้วยวิธี TLC..... 85
35 ผลการตรวจหาสารทุติยภูมิที่ *P. montagnii* สร้าง ด้วยวิธี TLC 87
36 ผลการตรวจหาสารทุติยภูมิที่ *T. eluteriae* สร้าง ด้วยวิธี TLC 89
37 ผลการตรวจหาสารทุติยภูมิที่ *Ocellularia* sp. สร้าง ด้วยวิธี TLC..... 91
38 ผลการตรวจหาสารทุติยภูมิที่ *P. kurzii* สร้าง ด้วยวิธี TLC 93
39 ผลการตรวจหาสารทุติยภูมิที่ *G. albissima* สร้าง ด้วยวิธี TLC..... 96

ภาพ หน้า

40 ผลการตรวจหาสารทุติยภูมิที่ *Pyrenula* sp. สร้าง ด้วยวิธี TLC..... 98
41 ผลการตรวจหาสารทุติยภูมิที่ *T. eluteriae* สร้าง ด้วยวิธี TLC 100
42 ผลการตรวจหาสารทุติยภูมิที่ *A. consobriana* สร้าง ด้วยวิธี TLC 104
43 ผลการตรวจหาสารทุติยภูมิที่ *A. myriocarpella* สร้าง ด้วยวิธี TLC..... 106
44 ผลการตรวจหาสารทุติยภูมิที่ *G. albissima* สร้าง ด้วยวิธี TLC..... 108
45 ผลการตรวจหาสารทุติยภูมิที่ *Pyrenula* sp. สร้าง ด้วยวิธี TLC..... 110
46 ผลการตรวจหาสารทุติยภูมิที่ *P. montagnii* สร้าง ด้วยวิธี TLC 112
47 ผลการตรวจหาสารทุติยภูมิที่ *T. eluteriae* สร้าง ด้วยวิธี TLC 114
48 ผลการตรวจหาสารทุติยภูมิที่ *Ocellularia* sp. สร้าง ด้วยวิธี TLC..... 116
49 ผลการตรวจหาสารทุติยภูมิที่ *P. kurzii* สร้าง ด้วยวิธี TLC 118

คำอธิบายคำย่อ

ATTC	=	American Type Culture Collection
BBM	=	Bold's Basal Medium
Cza	=	Czapek' Dox Agar
DMST	=	Department of Medical Sciences Thailand
et al.	=	*et alii*; and others
KOH	=	Potassium hydroxide
LBA	=	Lilly & Barnett's Agar
MYA	=	Malt-Yeast Extract Agar
MYB	=	Malt-Yeast Extract Broth
NMR	=	Nuclear Magnetic Resonance
Rf	=	retention factor
rpm	=	Revolutions per minute
SBA	=	Sabouraud 4% Glucose Agar
sp.	=	species
spp.	=	more than one species
TLC	=	Thin layer chromatography
TISTR	=	Thailand Institute of Scientific and Technological Research
UV	=	Ultraviolet