สำนักหอสมุด มหาวิทยาลัยบูรพา
ต.แสนสุข อ.เมือง จ.ชลบุรี 20131

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตสารยับยั้งราสาเหตุโรคพืชโดยราจากป่าชายเลน

จิราภรณ์ ธนากุลปกรณ์

มหาวิทยาลัยบูรพา
Burapha University

24 ก.ค. 2557
340268

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาจุลชีววิทยา
คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา
กรกฎาคม 2556
ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยบูรพา

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์และคณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ได้พิจารณาวิทยานิพนธ์ของ จิราภรณ์ ธนากุลปกรณ์ ฉบับนี้แล้ว เห็นสมควรรับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาจุลชีววิทยา ของมหาวิทยาลัยบูรพาได้

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์

.....อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อภิรดี ปิลันธนภาคย์)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุดารัตน์ สวนจิตร)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....ประธาน
(ดร.บุษยา อภิชัยเสถียรโชติ)

.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อภิรดี ปิลันธนภาคย์)

.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุดารัตน์ สวนจิตร)

.....กรรมการ
(ดร.พัชรนันท์ อมรรัตนพันธ์)

คณะวิทยาศาสตร์อนุมัติให้รับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาจุลชีววิทยา ของมหาวิทยาลัยบูรพา

.....คณบดีคณะวิทยาศาสตร์
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อุษาวดี ตันติวรานุรักษ์)
วันที่.....เดือน.....พ.ศ. 2556

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลงได้ด้วยความกรุณาจากอาจารย์ที่ปรึกษาหลัก ผศ. ดร.อภิรดี ปีลันธนภาคย์ และอาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ผศ. ดร. สุดารัตน์ สวนจิตร ที่กรุณาให้คำปรึกษา แนะนำแนวทางที่ถูกต้อง ตลอดจนแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ ด้วยความละเอียดถี่ถ้วนจึงขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ โอกาสนี้

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ธุรการ และนักวิทยาศาสตร์ประจำภาควิชาจุลชีววิทยาทุกท่าน รวมถึง คุณสุติรัตน์ ปุ่นประเสริฐ นักวิทยาศาสตร์ประจำโครงการบัณฑิตศึกษา ที่อำนวยความสะดวกในเรื่องอุปกรณ์ เครื่องมือ และสารเคมี และขอขอบคุณ คุณศรัณยา รักเสรี คุณดวงนภา เครืออยู่ คุณภาวนา บูรณกิจ คุณพีรพัฒน์ สุพรรณพันธุ์ และคุณไตรมาศ บุญไทย สำหรับคำแนะนำเพิ่มเติมในงานวิจัย แบบฟอร์มการพิมพ์ การวิเคราะห์ข้อมูล และความช่วยเหลือผู้วิจัยในด้านอื่น ๆ เสมอมา และขอขอบคุณทุกท่านที่มีส่วนเกี่ยวข้อง

ขอกราบขอบพระคุณแม่ประชิด ธนากุลปกรณ์ และสมาชิกในครอบครัวที่คอยให้กำลังใจและเป็นแรงผลักดันให้ผู้วิจัยผ่านช่วงการทำวิจัยไปได้ด้วยดี รวมทั้งการสนับสนุนด้านทุนทรัพย์ผู้วิจัยเสมอมา

คุณค่าและประโยชน์ของวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ผู้วิจัยขอมอบเป็นกตัญญูกตเวทิตาแด่บุพการี บูรพาจารย์ และผู้มีพระคุณทุกท่านทั้งในอดีต และปัจจุบัน ที่ทำให้ข้าพเจ้าเป็นผู้มีการศึกษาและยังสามารถใช้ความรู้ทางวิชาการดังกล่าวให้เป็นประโยชน์ในอนาคตต่อไป นอกจากนี้ผู้วิจัยได้รับประสบการณ์การทำงานร่วมกับผู้อื่น ซึ่งเป็นประโยชน์ทางอ้อมที่ได้รับจากการทำวิจัยในครั้งนี้

จิราภรณ์ ธนากุลปกรณ์

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

การวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนวิทยานิพนธ์บางส่วน

จากคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

ประจำปีงบประมาณ 2555

มหาวิทยาลัยบูรพา
Burapha University

51911985: สาขาวิชา: จุลชีววิทยา; วท.ม. (จุลชีววิทยา)
คำสำคัญ: ราจากป่าชายเลน/ ราสาเหตุโรคพืช/ สารยับยั้งรา/ สารสกัด/ สภาวะเหมาะสม

จิราภรณ์ ธนากุลปกรณ์: การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตสารยับยั้งราสาเหตุโรคพืชโดยราจากป่าชายเลน (OPTIMIZATION OF ANTI-PHYTOPATHOGENIC FUNGI PRODUCED FROM MANGROVE FUNGI) คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์: อภิรดี ปิลันธนภาคย์, Ph.D., สุดารัตน์ สวนจิตร, Ph.D. 162 หน้า. ปี พ.ศ. 2556.

ทำการศึกษาสภาวะเหมาะสมของราทะเลต่อการสร้างสารยับยั้งราสาเหตุโรคพืช และราเอนโดไฟท์จากป่าชายเลนจำนวน 6 สายพันธุ์ ก่อนการศึกษาสภาวะเหมาะสมได้ทำการทดสอบยืนยันฤทธิ์ของสารสกัดในการยับยั้งราสาเหตุโรคพืชด้วยการเลี้ยงราจากป่าชายเลนในสภาวะตั้งต้นในอาหารเหลว PDB/DW และ PDB/SW บ่มโดยใช้สภาวะตั้งต้นสองสภาวะ คือตั้งทิ้งไว้ (Static) และเขย่า (Shaking) ด้วยความเร็ว 150 รอบ/นาที ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 วัน และ 7 วัน ในกรณีของราเอนโดไฟท์ และราทะเล ตามลำดับ ทำการสกัดสารจากอาหารเหลวที่ผ่านการเลี้ยงเชื้อด้วยเอธิลอะซิเตต และทดสอบฤทธิ์ยับยั้งด้วยวิธี Disc diffusion ผลการศึกษาพบว่าสารสกัดจากราป่าชายเลนทุกสายพันธุ์สามารถยับยั้งราสาเหตุโรคพืชได้ และสารสกัดที่ได้จากสภาวะตั้งทิ้งไว้ส่วนใหญ่มีฤทธิ์ยับยั้งต่ำกว่าผลของสารสกัดที่ได้จากการเขย่าที่ 150 รอบ/นาที

ทำการหาสภาวะเหมาะสมของราทะเล และราเอนโดไฟท์ต่อการผลิตสารยับยั้งราสาเหตุโรคพืชที่มีประสิทธิภาพสูงโดยใช้สภาวะตั้งต้นที่เขย่า 150 รอบ/นาที ในอาหารเหลว PDB เป็นหลัก และปรับสภาวะทางกายภาพอื่น ๆ ได้แก่ การศึกษาผลของความเค็มซึ่งเป็นการศึกษาเริ่มต้น ตามด้วยชนิดของอาหารเหลว ค่าความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้น ความเร็วในการเขย่า อุณหภูมิ และระยะเวลาในการเลี้ยง ตามลำดับ พบว่าสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตสารยับยั้งราสาเหตุโรคพืชที่มีประสิทธิภาพของราทะเลคือ ความเค็ม 15-20 ppt อาหาร PDB และ YMB ค่าความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้นเท่ากับ 6 เขย่าที่ 100-150 รอบ/นาที บ่มที่ 25-28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน และสภาวะเหมาะสมของราเอนโดไฟท์คือ ความเค็ม 0-10 ppt อาหาร PDB, YMB และ SDB ค่าความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้นเท่ากับ 5-6 เขย่าที่ 100-150 รอบ/นาที บ่มที่ 22-28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4-7 วัน พบฤทธิ์ยับยั้งราสาเหตุโรคพืชสูงสุดจากสารสกัดของราทะเลสายพันธุ์ BUSK 055-1 มีฤทธิ์ยับยั้งสูงสุดรองลงมาคือ สารสกัดของราเอนโดไฟท์จากป่าชายเลนสายพันธุ์ BUEN 830 เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพการยับยั้งกับฤทธิ์ยับยั้งในสภาวะตั้งต้นที่ตั้งทิ้งไว้ พบว่าสารสกัดราเอนโดไฟท์จากพืชป่าชายเลนสายพันธุ์ BUEN 834 มีฤทธิ์ยับยั้งเพิ่มขึ้นถึง 10 เท่า เมื่อเลี้ยงราทะเลสายพันธุ์ BUCS 004 ในสภาวะ

เหมาะสม ยังพบว่าสารสกัดที่ได้มีฤทธิ์ยับยั้ง *Pestalotiopsis* sp. เพิ่มขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดที่ได้จากสภาวะตั้งต้นที่ไม่มีฤทธิ์ยับยั้ง

ผลผลิตของราทะเลสายพันธุ์ BUSK 055-1 และราเอนโดไฟท์จากพืชป่าชายเลนสายพันธุ์ BUEN 830 ที่เลี้ยงในอาหารเหลวปริมาตร 50 มิลลิลิตร (Small scale) และในอาหารเหลวปริมาตร 1000 มิลลิลิตร (Scale up) ไม่แตกต่างกัน แต่เมื่อเปรียบเทียบฤทธิ์ยับยั้งของสารสกัดด้วยวิธี Disc diffusion พบว่าสารสกัดของราทะเลสายพันธุ์ BUSK 055-1 ที่ได้ภายหลังจากการขยายขนาดการหมักมีฤทธิ์ยับยั้งราสาเหตุโรคพืชทุกชนิดเพิ่มขึ้นประมาณ 0.2-0.4 เท่า ยกเว้นฤทธิ์ยับยั้ง *Pestalotiopsis* sp. เมื่อทดสอบค่าความเข้มข้นต่ำสุด (Minimal inhibitory concentration; MIC) ต่อการยับยั้งการเจริญของราสาเหตุโรคพืช จากสารสกัดของราทะเลสายพันธุ์ BUSK 055-1 ที่ได้ภายหลังจากการขยายขนาดการหมัก ด้วยวิธี Agar dilution พบค่า MIC ในการยับยั้ง *Colletotrichum gloeosporioides* และ *Alternaria brassicicola* เท่ากับ 1024 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร และ 2048 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ และค่า MIC ในการยับยั้ง *Fusarium oxysporum* และ *Pestalotiopsis* sp. เท่ากับ 4096 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ส่วนสารสกัดจากราเอนโดไฟท์สายพันธุ์ BUEN 830 มีค่า MIC ในการยับยั้งราสาเหตุโรคพืชทุกชนิด $\geq$ 4096 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

เมื่อแยกสารองค์ประกอบจากสารสกัดของราทะเลสายพันธุ์ BUSK 055-1 ที่ได้ภายหลังจากการขยายขนาดการหมัก บนแผ่น TLC พบสารองค์ประกอบจำนวน 9 ชนิด และเมื่อทำการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งราสาเหตุโรคพืชของสารองค์ประกอบโดยใช้วิธี TLC Disc diffusion พบว่าสารองค์ประกอบที่ 8 (Rf 0.78) มีฤทธิ์ยับยั้ง *A. brassicicola* และสารองค์ประกอบที่ 2 (Rf 0.43), 3 (Rf 0.48), 5-6 (Rf 0.64, Rf 0.68) และ 7 (Rf 0.71) มีฤทธิ์ยับยั้ง *C. gloeosporioides* ในขณะที่สารองค์ประกอบที่ 4 (Rf 0.58) มีฤทธิ์ยับยั้ง *Pestalotiopsis* sp.

51911985: MAJOR: MICROBIOLOGY; M.Sc. (MICROBIOLOGY)

KEYWORDS: MANGROVE FUNGI/ PHYTOPATHOGENIC FUNGI/ ANTIFUNGAL/ EXTRACT/ OPTIMAL CONDITION

JIRAPORN TANAKULPAKORN: OPTIMIZATION OF ANTI-PHYTOPATHOGENIC FUNGI PRODUCED FROM MANGROVE FUNGI. ADVISORY COMMITTEE: APIRADEE PILANTANAPAK, Ph.D., SUDARAT SUANJIT, Ph.D. 162 P. 2013.

Six mangrove fungi; marine fungi and endophytic fungi, were studied for their optimal condition to produce antifungal agents against four phytopathogenic fungi. Before optimization, the antifungal potential of the ethyl acetate extracts prepared from fungal cultures in PDB/DW and PDB/SW were studied. The cultures were under static and shaking at 150 rpm, incubated at 28 °C, 4 days and 7 days for endophytic fungi and marine fungi, respectively. The ethyl acetate extracts of culture filtrate were tested for antifungal activity by disc diffusion method. The antifungal activities were obtained from all extracts, confirmed the antifungal activity of all mangrove fungi. The extracts from static condition showed lower inhibition activity than from the shaking condition.

Optimization process for the maximum antifungal production was carried out stepwise in liquid medium under various cultural conditions began with salinity and then followed by type of medium, initial pH. shaking rate, temperature, and incubation time. After each optimizing step, the ethyl acetate extracts were tested for antifungal activity by disc diffusion method and the best condition was selected for using in the next step. After final optimization, strong antifungal activities against all phytopathogens were observed. The maximum antifungal activity was obtained after the marine fungi were fermented in 15-20 ppt, PDB and YMB, initial pH 6 after shaking at 100-150 rpm at 25-28 °C for 7 days. For endophytic fungi, the optimization conditions were fermentation in 0-10 ppt either in PDB, YMB or SDB, initial pH 5-6, shaking rate 100-150 rpm at 28 °C for 4-7 days. The highest antifungal activity against all phytopathogens fungi was

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

shown in the marine fungus BUSK 055-1-broth extracts. The second antifungal activity was from the endophytic fungus BUEN 830-broth extracts. Ten-fold increasing after optimization was obtained from the endophytic fungus BUEN 834. The extract from the marine fungus BUCS 004 showed increasing activity against *Pestalotiopsis* sp. compared to the inactivity before optimization.

The yield of crude extract from 50 ml (Small scale) and 1000 ml (Scale up) broth culture under optimization were not different but the antifungal activity of the marine fungus BUSK 055-1-broth extract against all fungi increased 0.2-0.4 times, except *Pestalotiopsis* sp. The extracts from marine fungus BUSK 055-1 showed the minimum inhibitory concentration (MIC) by agar dilution technique against *C. gloeosporioides, A. brassicicola, F. oxysporum* and *Pestalotiopsis* sp. of 1024, 2048, 4096 and 4096 µg/ml, respectively. The MIC of the endophytic fungus BUEN 830-broth extracts against all phytopathogens fungi were $\geq$ 4096 µg/ml.

The separation of antifungal compounds in extract was done by using TLC, nine components were obtained from extract of scale up culture BUSK 055-1. The bioautography of the extracts from BUSK 055-1 against growth of phytopathogenic fungi by TLC disc diffusion method on PDA/DW was studied. The antifungal activity against *A. brassicicola* was observed from the disc component 8 (Rf 0.78). The disc component 2 (Rf 0.43), component 3 (Rf 0.48), component 5-6 (Rf 0.64, Rf 0.68), and component 7 (Rf 0.71) inhibited *C. gloeosporioides* and the disc component 4 (Rf 0.58) active against *Pestalotiopsis* sp.

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ฉ
สารบัญ	ซ
สารบัญตาราง	ฎ
สารบัญภาพ	ด
บทที่	
1 บทนำ	1
ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
วัตถุประสงค์ของการวิจัย	4
กรอบแนวคิดในการวิจัย	4
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย	4
ขอบเขตของการวิจัย	5
สถานที่ทำการศึกษา	5
คำย่อ	6
2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	7
ราทะเลในระบบนิเวศป่าชายเลน	7
โรคพืช และราสาเหตุโรคพืช	9
การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี	14
ผลิตภัณฑ์ธรรมชาติจากราทะเล	16
สภาวะในการผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ	19
วิธีการศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากรา	20
เอกสารที่เกี่ยวข้องกับการศึกษา	28
3 วิธีดำเนินงานวิจัย	31
วัสดุอุปกรณ์	31
เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย	31
อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย	31
สารเคมี และอาหารเลี้ยงเชื้อ	32

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

สารบัญ (ต่อ)

บทที่		หน้า
	จุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดลอง.....	33
	วิธีดำเนินการวิจัย.....	33
	การทดสอบยืนยันประสิทธิภาพของราจากป่าชายเลนต่อราสาเหตุโรคพืช บนอาหารแข็งด้วยวิธีการเลี้ยงเชื้อร่วมกัน.....	33
	การศึกษาฤทธิ์ยับยั้งราสาเหตุโรคพืชของสารสกัดจากป่าชายเลนโดยใช้ สภาวะตั้งต้น.....	35
	การศึกษาสภาวะเหมาะสมในการเลี้ยงราจากป่าชายเลนให้ผลิตสารยับยั้ง ราสาเหตุโรคพืช.....	36
	การศึกษาความสัมพันธ์ของการเจริญ กับความสามารถในการผลิตสารยับยั้ง ราสาเหตุโรคพืชของราจากป่าชายเลน.....	38
	การศึกษาผลของการใช้สภาวะเหมาะสมกับการเลี้ยงราจากป่าชายเลนในการ ขยายขนาดการหมัก (Scale up).....	39
	การหาค่า Minimum inhibition concentration (MIC) ของสารสกัดที่ได้ต่อ ราสาเหตุโรคพืชด้วยวิธี Agar dilution.....	40
	การแยกสารองค์ประกอบของสารสกัดด้วยวิธี Thin-layer chromatography (TLC)	40
	การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของราสาเหตุโรคพืชจากแถบสารองค์ประกอบที่ ได้ด้วยวิธี TLC disc diffusion.....	41
4	ผลการวิจัย.....	42
	การทดสอบยืนยันประสิทธิภาพของราจากป่าชายเลนต่อราสาเหตุโรคพืช บนอาหารแข็งด้วยวิธีการเลี้ยงเชื้อร่วมกัน.....	42
	การศึกษาฤทธิ์ยับยั้งราสาเหตุโรคพืชของสารสกัดจากราป่าชายเลนที่เลี้ยงใน สภาวะตั้งต้น.....	42
	การศึกษาสภาวะที่เหมาะในการผลิตสารยับยั้งราสาเหตุโรคพืชของราจาก ป่าชายเลน.....	45
	สภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตสารยับยั้งราสาเหตุโรคพืชของราทะเลบนเศษไม้ ในป่าชายเลน สายพันธุ์ BUCS 004.....	47

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

สารบัญ (ต่อ)

บทที่		หน้า
	สภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตสารยับยั้งราสาเหตุโรคพืชของราทะเลบนเศษไม้ในป่าชายเลน สายพันธุ์ BUCS 032-2	56
	สภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตสารยับยั้งราสาเหตุโรคพืชของราทะเลบนเศษไม้ในป่าชายเลน สายพันธุ์ BUSK 055-1	60
	สภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตสารยับยั้งราสาเหตุโรคพืชของราเอนโดไฟท์จากพืชป่าชายเลน สายพันธุ์ BUEN 121	69
	สภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตสารยับยั้งราสาเหตุโรคพืชของราเอนโดไฟท์จากพืชป่าชายเลน สายพันธุ์ BUEN 830	78
	สภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตสารยับยั้งราสาเหตุโรคพืชของราเอนโดไฟท์จากพืชป่าชายเลน สายพันธุ์ BUEN 834	88
	การศึกษาเปรียบเทียบสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตสารยับยั้งราสาเหตุโรคพืชของราจากป่าชายเลนสายพันธุ์ต่าง ๆ	97
	การเปรียบเทียบฤทธิ์ยับยั้งราสาเหตุโรคพืชของสารสกัดที่ได้จากราป่าชายเลนแต่ละสายพันธุ์	97
	การศึกษาความสัมพันธ์ของการเจริญ กับความสามารถในการผลิตสารยับยั้งราสาเหตุโรคพืชของราจากป่าชายเลน	99
	การศึกษาผลของการใช้สภาวะเหมาะสมกับการเลี้ยงราจากป่าชายเลนในการขยายขนาดการหมัก (Scale up)	101
	การหาค่า Minimum inhibition concentration (MIC) ของสารสกัดที่ได้ต่อราสาเหตุโรคพืช ด้วยวิธี Agar dilution	104
	การแยกสารองค์ประกอบของสารสกัดด้วยวิธี Thin-layer Chromatography (TLC)	105
	การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของราสาเหตุโรคพืชของสารองค์ประกอบที่ได้ด้วยวิธี TLC Disc diffusion	109

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

สารบัญ (ต่อ)

บทที่	หน้า
5 สรุปและอภิปรายผล	113
สรุปผลการทดลอง	113
อภิปรายผลการทดลอง	115
ข้อเสนอแนะ	127
บรรณานุกรม	128
ภาคผนวก	151
ภาคผนวก ก อาหารเลี้ยงเชื้อ	152
ภาคผนวก ข สารเคมี และยาปฏิชีวนะ	155
ภาคผนวก ค ผลการทดลอง	158
ประวัติย่อของผู้วิจัย	162

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
2-1	สารยับยั้งราก่อโรค (Antifungal) จากราในระบบนิเวศทางทะเล.....	17
2-2	สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพอื่น ๆ จากราในระบบนิเวศทางทะเล.....	18
2-3	ชนิดของอาหารเหลวในการเลี้ยงราเอนโดไฟท์เพื่อผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ.....	21
2-4	ชนิดของอาหารเหลวในการเลี้ยงราทะเลเพื่อผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ.....	22
2-5	ปัจจัยทางกายภาพอื่น ๆ ในการเลี้ยงราเอนโดไฟท์เพื่อผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ.....	23
2-6	ปัจจัยทางกายภาพอื่น ๆ ในการเลี้ยงราทะเลเพื่อผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ	24
3-1	ราจากป่าชายเลนจำนวน 6 สายพันธุ์ ที่เป็นตัวแทนในการศึกษาสภาวะเหมาะสม.....	33
3-2	สภาวะตั้งต้นที่ใช้ในการผลิตสารยับยั้งราสาเหตุโรคพืชของราจากป่าชายเลน..	36
3-3	สภาวะทางกายภาพที่ศึกษาสภาวะเหมาะสมของราป่าชายเลน ต่อการผลิตสารยับยั้งราสาเหตุโรคพืช.....	38
4-1	ระดับ Antibiosis ของราจากป่าชายเลนเมื่อเลี้ยงร่วมกับราสาเหตุโรคพืชบนอาหาร PDA/DW และ PDA/SW เป็นระยะเวลา 3 วัน.....	43
4-2	ผลของความเค็มต่อความสามารถในการผลิตสารยับยั้งการเจริญของราสาเหตุโรคพืชโดยราทะเลสายพันธุ์ BUCS 004.....	47
4-3	ผลของชนิดอาหารเหลวเลี้ยงราทะเลสายพันธุ์ BUCS 004 ต่อความสามารถในการผลิตสารยับยั้งการเจริญของราสาเหตุโรคพืช.....	48
4-4	ผลของค่าความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้นของอาหารเหลวเลี้ยงราทะเลสายพันธุ์ BUCS 004 ต่อความสามารถในการผลิตสารยับยั้งการเจริญของราสาเหตุโรคพืช.....	49
4-5	ผลของความเร็วในการเขย่าเลี้ยงราทะเลสายพันธุ์ BUCS 004 ในการผลิตสารยับยั้งการเจริญของราสาเหตุโรคพืช.....	50
4-6	ผลของอุณหภูมิในการเลี้ยงราทะเลสายพันธุ์ BUCS 004 ต่อความสามารถในการผลิตสารยับยั้งการเจริญของราสาเหตุโรคพืช.....	51

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
4-7	ผลของระยะเวลาเลี้ยงราทะเลสายพันธุ์ BUCS 004 ต่อความสามารถในการผลิตสารยับยั้งการเจริญของราสาเหตุโรคพืช.....	52
4-8	สภาวะทางกายภาพที่เพิ่มฤทธิ์ยับยั้งราสาเหตุโรคพืชของราทะเลสายพันธุ์ BUCS 004.....	54
4-9	เปรียบเทียบฤทธิ์ยับยั้งราสาเหตุโรคพืชของสารสกัดจากราทะเลสายพันธุ์ BUCS 004	55
4-10	ผลของความเค็มต่อความสามารถในการผลิตสารยับยั้งการเจริญของราสาเหตุโรคพืชจากราทะเลสายพันธุ์ BUCS 032-2.....	56
4-11	เปรียบเทียบฤทธิ์ยับยั้งราสาเหตุโรคพืชของสารสกัดจากราทะเลสายพันธุ์ BUCS 032-2.....	59
4-12	ผลของความเค็มต่อความสามารถในการผลิตสารยับยั้งการเจริญของราสาเหตุโรคพืชโดยราทะเลสายพันธุ์ BUSK 055-1.....	60
4-13	ผลของชนิดอาหารเหลวเลี้ยงราทะเลสายพันธุ์ BUSK 055-1 ต่อความสามารถในการผลิตสารยับยั้งการเจริญของราสาเหตุโรคพืช.....	61
4-14	ผลของค่าความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้นของอาหารเหลวเลี้ยงราทะเลสายพันธุ์ BUSK 055-1 ต่อความสามารถในการผลิตสารยับยั้งการเจริญของราสาเหตุโรคพืช.....	62
4-15	ผลของความเร็วในการเขย่าเลี้ยงราทะเลสายพันธุ์ BUSK 055-1 ในการผลิตสารยับยั้งการเจริญของราสาเหตุโรคพืช.....	63
4-16	ผลของอุณหภูมิในการเลี้ยงราทะเลสายพันธุ์ BUSK 055-1 ต่อความสามารถในการผลิตสารยับยั้งการเจริญของราสาเหตุโรคพืช.....	64
4-17	ผลของระยะเวลาเลี้ยงราทะเลสายพันธุ์ BUSK 055-1 ต่อความสามารถในการผลิตสารยับยั้งการเจริญของราสาเหตุโรคพืช.....	65
4-18	สภาวะทางกายภาพที่เพิ่มฤทธิ์ยับยั้งราสาเหตุโรคพืชของราทะเลสายพันธุ์ BUSK 055-1.....	66
4-19	เปรียบเทียบฤทธิ์ยับยั้งราสาเหตุโรคพืชของสารสกัดจากราทะเลสายพันธุ์ BUSK 055-1.....	68

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
4-20	ผลของความเค็มต่อความสามารถในการผลิตสารยับยั้งการเจริญของราสาเหตุโรคพืชโดยราเอนโดไฟท์สายพันธุ์ BUEN 121	70
4-21	ผลของชนิดอาหารเหลวเลี้ยงราเอนโดไฟท์สายพันธุ์ BUEN 121 ต่อความสามารถในการผลิตสารยับยั้งการเจริญของราสาเหตุโรคพืช	71
4-22	ผลของค่าความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้นของอาหารเหลวเลี้ยงราเอนโดไฟท์สายพันธุ์ BUEN 121 ต่อความสามารถในการผลิตสารยับยั้งการเจริญของราสาเหตุโรคพืช	72
4-23	ผลของความเร็วในการเขย่าเลี้ยงราเอนโดไฟท์ BUEN 121 ในการผลิตสารยับยั้งการเจริญของราสาเหตุโรคพืช	73
4-24	ผลของอุณหภูมิในการเลี้ยงราเอนโดไฟท์สายพันธุ์ BUEN 121 ต่อความสามารถในการผลิตสารยับยั้งการเจริญของราสาเหตุโรคพืช	74
4-25	ผลของระยะเวลาเลี้ยงราเอนโดไฟท์สายพันธุ์ BUEN 121 ต่อความสามารถในการผลิตสารยับยั้งการเจริญของราสาเหตุโรคพืช	75
4-26	สภาวะทางกายภาพที่เพิ่มฤทธิ์ยับยั้งราสาเหตุโรคพืชของราเอนโดไฟท์สายพันธุ์ BUEN 121	76
4-27	เปรียบเทียบฤทธิ์ยับยั้งราสาเหตุโรคพืชของสารสกัดที่ได้จากราเอนโดไฟท์สายพันธุ์ BUEN 121	77
4-28	ผลของความเค็มต่อความสามารถในการผลิตสารยับยั้งการเจริญของราสาเหตุโรคพืชโดยราเอนโดไฟท์สายพันธุ์ BUEN 830	79
4-29	ผลของชนิดอาหารเหลวเลี้ยงราเอนโดไฟท์สายพันธุ์ BUEN 830 ต่อความสามารถในการผลิตสารยับยั้งการเจริญของราสาเหตุโรคพืช	80
4-30	ผลของค่าความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้นของอาหารเหลวเลี้ยงราเอนโดไฟท์สายพันธุ์ BUEN 830 ต่อความสามารถในการผลิตสารยับยั้งการเจริญของราสาเหตุโรคพืช	81

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
4-31	ผลของความเร็วในการเขย่าเลี้ยงราเอนโดไฟท์สายพันธุ์ BUEN 830 ในการผลิตสารยับยั้งการเจริญของราสาเหตุโรคพืช	82
4-32	ผลของอุณหภูมิในการเลี้ยงราเอนโดไฟท์สายพันธุ์ BUEN 830 ต่อความสามารถในการผลิตสารยับยั้งการเจริญของราสาเหตุโรคพืช	83
4-33	ผลของระยะเวลาเลี้ยงราเอนโดไฟท์สายพันธุ์ BUEN 830 ต่อความสามารถในการผลิตสารยับยั้งการเจริญของราสาเหตุโรคพืช	84
4-34	สภาวะทางกายภาพที่เพิ่มฤทธิ์ยับยั้งราสาเหตุโรคพืชของราเอนโดไฟท์สายพันธุ์ BUEN 830	86
4-35	เปรียบเทียบฤทธิ์ยับยั้งราสาเหตุโรคพืชของสารสกัดที่ได้จากราเอนโดไฟท์สายพันธุ์ BUEN 830	87
4-36	ผลของความเค็มต่อความสามารถในการผลิตสารยับยั้งการเจริญของราสาเหตุโรคพืชโดยราเอนโดไฟท์สายพันธุ์ BUEN 834	88
4-37	ผลของชนิดอาหารเหลวเลี้ยงราเอนโดไฟท์สายพันธุ์ BUEN 834 ต่อความสามารถในการผลิตสารยับยั้งการเจริญของราสาเหตุโรคพืช	89
4-38	ผลของค่าความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้นของอาหารเหลวเลี้ยงราเอนโดไฟท์สายพันธุ์ BUEN 834 ต่อความสามารถในการผลิตสารยับยั้งการเจริญของราสาเหตุโรคพืช	90
4-39	ผลของความเร็วในการเขย่าเลี้ยงราเอนโดไฟท์สายพันธุ์ BUEN 834 ในการผลิตสารยับยั้งการเจริญของราสาเหตุโรคพืช	91
4-40	ผลของอุณหภูมิในการเลี้ยงราเอนโดไฟท์สายพันธุ์ BUEN 834 ต่อความสามารถในการผลิตสารยับยั้งการเจริญของราสาเหตุโรคพืช	92
4-41	ผลของระยะเวลาเลี้ยงราเอนโดไฟท์สายพันธุ์ BUEN 834 ต่อความสามารถในการผลิตสารยับยั้งการเจริญของราสาเหตุโรคพืช	93
4-42	สภาวะทางกายภาพที่เพิ่มฤทธิ์ยับยั้งราสาเหตุโรคพืชของราเอนโดไฟท์สายพันธุ์ BUEN 834	95

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
4-43	เปรียบเทียบฤทธิ์ยับยั้งราสาเหตุโรคพืชของสารสกัดที่ได้จากราเอนโดไฟท์สายพันธุ์ BUEN 834.....	96
4-44	สภาวะทางกายภาพที่เหมาะสมต่อการผลิตสารยับยั้งราสาเหตุโรคพืชของราจากป่าชายเลนแต่ละสายพันธุ์.....	98
4-45	ฤทธิ์ยับยั้งราสาเหตุโรคพืชของสารสกัดจากราจากป่าชายเลนแต่ละสายพันธุ์เมื่อเลี้ยงราจากป่าชายเลนภายหลังการศึกษาสภาวะเหมาะสม.....	98
4-46	ผลผลิต (Yield) ของราป่าชายเลนจากการศึกษาก่อนและหลังขยายขนาดการหมัก.....	101
4-47	ค่าความเข้มข้นต่ำสุด (MIC) ของสารสกัดจากราป่าชายเลน และยา Fluconazole ในการยับยั้งการเจริญของราสาเหตุโรคพืช	105
4-48	ค่า Rf ของสารองค์ประกอบ จากสารสกัดของราทะเลสายพันธุ์ BUSK 055-1 ที่เลี้ยงในสภาวะต่าง ๆ.....	107
4-49	ค่า Rf ของสารองค์ประกอบ จากสารสกัดของราเอนโดไฟท์สายพันธุ์ BUEN 830 ที่เลี้ยงในสภาวะต่าง ๆ.....	108
4-50	ฤทธิ์ของสารองค์ประกอบที่แยกบนแผ่น TLC ของราทะเลสายพันธุ์ BUSK 055-1 ในการยับยั้งราสาเหตุโรคพืช.....	111

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
2-1	ลักษณะทางสัณฐานของ *A. brassicicola* DOAC 0436.....	10
2-2	ลักษณะทางสัณฐานของ *C. gloeosporioides* DOAC 0782.....	11
2-3	ลักษณะทางสัณฐานของ *F. oxysporum* DOAC 1808.....	12
2-4	ลักษณะทางสัณฐานของ *Pestalotiopsis* sp. DOAC 1098.....	13
2-5	การเคลื่อนที่ของสารบนแผ่น TLC.....	27
3-1	การเลี้ยงเชื้อร่วมกันระหว่างราจากป่าชายเลน กับราสาเหตุโรคพืช บนอาหารแข็ง.....	34
4-1	การเกิด Antibiosis ของราทะเลสายพันธุ์ BUSK 055-1.....	44
4-2	ระยะยับยั้งราสาเหตุโรคพืชของสารสกัดจากราป่าชายเลนที่เลี้ยงในสภาวะตั้งทิ้งไว้ (Static) และเขย่าด้วยความเร็ว 150 รอบ/นาที (Shaking).....	46
4-3	ฤทธิ์ยับยั้งของสารสกัดจากราทะเลสายพันธุ์ BUCS 004 จากการศึกษาสภาวะตั้งต้นโดยตั้งทิ้งไว้ (Static) เขย่า (Shaking) ด้วยความเร็ว 150 รอบ/นาที และภายหลังการศึกษาสภาวะเหมาะสม (After optimization) ต่อการยับยั้งการเจริญของราสาเหตุโรคพืช.....	53
4-4	การเปรียบเทียบฤทธิ์ยับยั้ง *C. gloeosporioides* ของสารสกัดจากราทะเลสายพันธุ์ BUCS 032-2 จากการศึกษาผลของความเค็มในอาหารเหลว PDB และผลของชนิดอาหารเหลวที่ความเค็ม 20 ppt.....	58
4-5	ระยะยับยั้งของสารสกัดของราทะเลสายพันธุ์ BUCS 032-2 จากการศึกษาสภาวะตั้งต้นโดยตั้งทิ้งไว้ (Static) เขย่า (Shaking) ด้วยความเร็ว 150 รอบ/นาที และภายหลังการศึกษาสภาวะที่เหมาะสม (After optimization) ต่อการผลิตสารยับยั้งการเจริญของราสาเหตุโรคพืช.....	58
4-6	ฤทธิ์ยับยั้ง *C. gloeosporioides* ของสารสกัดที่ได้จากราทะเลสายพันธุ์ BUSK 055-1 ที่สภาวะต่าง ๆ.....	67
4-7	ระยะยับยั้งของสารสกัดของราทะเลสายพันธุ์ BUSK 055-1 จากการศึกษาสภาวะตั้งต้นโดยตั้งทิ้งไว้ (Static) เขย่า (Shaking) ด้วยความเร็ว 150 รอบ/นาที และภายหลังการศึกษาสภาวะที่เหมาะสม (After optimization) ต่อการยับยั้งการเจริญของราสาเหตุโรคพืช.....	69

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
4-8	ระยะยับยั้งของสารสกัดของราเอนโดไฟท์สายพันธุ์ BUEN 121 จากการศึกษาสภาวะตั้งต้นโดยตั้งทิ้งไว้ (Static) เขย่า (Shaking) ด้วยความเร็ว 150 รอบ/นาที และภายหลังการศึกษาสภาวะเหมาะสม (After optimization) ต่อการยับยั้งราสาเหตุโรคพืช.....	78
4-9	ระยะยับยั้งของสารสกัดของราเอนโดไฟท์สายพันธุ์ BUEN 830 จากการศึกษาสภาวะตั้งต้นโดยตั้งทิ้งไว้ (Static) เขย่า (Shaking) ด้วยความเร็ว 150 รอบ/นาที และภายหลังการศึกษาสภาวะเหมาะสม (After optimization) ต่อการยับยั้งราสาเหตุโรคพืช.....	85
4-10	ระยะยับยั้งของสารสกัดของราเอนโดไฟท์สายพันธุ์ BUEN 834 จากการศึกษาสภาวะตั้งต้นโดยตั้งทิ้งไว้ (Static) เขย่า (Shaking) ด้วยความเร็ว 150 รอบ/นาที และภายหลังการศึกษาสภาวะเหมาะสม (After optimization) ต่อการยับยั้งราสาเหตุโรคพืช.....	94
4-11	ระยะยับยั้งราสาเหตุโรคพืช (เซนติเมตร) และน้ำหนักแห้งเซลล์ (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) จากการเลี้ยงราทะเลสายพันธุ์ BUSK 055-1 ในสภาวะที่เหมาะสม.....	100
4-12	ระยะยับยั้งราสาเหตุโรคพืช (เซนติเมตร) และน้ำหนักแห้งเซลล์ (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) จากการเลี้ยงราเอนโดไฟท์สายพันธุ์ BUEN 830 ในสภาวะที่เหมาะสม.....	100
4-13	ระยะยับยั้ง *A. brassicicola* (Ab), *C. gloeosporioides* (Cg), *F. oxysporum* (Fo) และ *Pestalotiopsis* sp. (Ps) ของสารสกัดจากการเลี้ยงราทะเลสายพันธุ์ BUSK 055-1 ในสภาวะที่เหมาะสมก่อนการขยายขนาดการหมัก (Optimization) และภายหลังการขยายขนาดการหมัก (Scale up).....	102
4-14	ระยะยับยั้ง *A. brassicicola* (Ab), *C. glocosporioides* (Cg), *F. oxysporum* (Fo) และ *Pestalotiopsis* sp. (Ps) ของสารสกัดจากการเลี้ยงราเอนโดไฟท์สายพันธุ์ BUEN 830 ในสภาวะที่เหมาะสมก่อนการขยายขนาดการหมัก (Optimization) และภายหลังการขยายขนาดการหมัก (Scale up).....	102

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
4-15	ฤทธิ์ยับยั้งราสาเหตุโรคพืชของสารสกัดจากการเลี้ยงราทะเลสายพันธุ์ BUSK 055-1 ในสภาวะที่เหมาะสมก่อนการขยายขนาดการหมัก และภายหลังการขยายขนาดการหมัก.....	103
4-16	สารองค์ประกอบที่ได้จากการแยกสารสกัดของราทะเลสายพันธุ์ BUSK 055-1 บนแผ่น TLC.....	109
4-17	สารองค์ประกอบที่ได้จากการแยกสารสกัดจากราเอนโดไฟท์ BUEN 830 บนแผ่น TLC.....	110
4-18	สารองค์ประกอบที่ได้จากการแยกสารสกัดจากราทะเล BUSK 055-1 จากการขยายขนาดการหมักบนแผ่น TLC ด้วยตัวทำละลาย คลอโรฟอร์ม: เอธิลอะซิเตต: เมทานอลในอัตราส่วน 8: 1.5: 0.5.....	110
4-19	ฤทธิ์ยับยั้งราสาเหตุโรคพืชของสารองค์ประกอบจากสารสกัดราทะเลสายพันธุ์ BUSK 055-1 ที่ทดสอบด้วยวิธี TLC Disc diffusion.....….....	111
4-20	ฤทธิ์ยับยั้งราสาเหตุโรคพืชของสารองค์ประกอบจากสารสกัดราทะเลสายพันธุ์ BUSK 055-1 ที่ทดสอบด้วยวิธี TLC Disc diffusion.....….....	112

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University