การคัดแยกและจำแนกชนิดเชื้อราดินป่าชายเลนในจังหวัดนครศรีธรรมราช
Isolation and Identification of Soil Fungi from Mangrove In Nakhon Si Thammarat Province

สุมาลี เลี่ยมทอง* โสภนา วงศ์ทอง* อัซมานี อาลี พันธิวา สิทธิภาจิรสกุล**
ซูลกิฟลี อูมูดี** และ มูฮำหมัดซาฟีรี ยะโกะ****
Sumalee Liamthong*, Sopana Wongthong*, Assamanee Arlee**,
Panthiwa Sittiphajirasakool**, Sulgiflee Aumoodee**
and Muhummadsafeeree Yago**

บทคัดย่อ

การวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อคัดแยกและจำแนกชนิดของเชื้อราที่เก็บจากดินป่าชายเลน ในอำเภอเมือง อำเภอปากพนัง และอำเภอท่าศาลา จังหวัดนครศรีธรรมราช ผลการศึกษาพบว่าจากเชื้อราที่แยกได้ทั้งหมด 161 ไอโซเลต เมื่อนำมาจำแนกโดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยา มีเชื้อราที่สร้างสปอร์และสามารถจำแนกชนิดได้ 124 ไอโซเลต (77.0%) เป็นเชื้อรา *Penicillium* spp. มากที่สุด โดยพบ 52 ไอโซเลต (32.3%) พบเชื้อรา *Aspergillus* spp. รองลงมาโดยพบ 43 ไอโซเลต (26.7%) พบเชื้อรา *Trichoderma* spp. 19 ไอโซเลต (11.8%) *Fusarium* spp. 6 ไอโซเลต (3.7%) *Drechslera* spp. 2 ไอโซเลต (1.2%) *Gongronella* sp. 1 ไอโซเลต (0.6%) และ *Dendryphiopsis* sp. 1 ไอโซเลต (0.6%) นอกจากนั้นพบเชื้อราที่ไม่สร้างสปอร์ (mycelia sterilia) จำนวน 36 ไอโซเลต (22.4%) และเชื้อราที่สร้างสปอร์แต่ไม่สามารถจำแนกชนิดได้ (unidentified species) จำนวน 1 ไอโซเลต (0.6%) จากผลการศึกษาครั้งนี้ทำให้ทราบชนิดของเชื้อราที่แยกได้จากดินป่าชายเลน ซึ่งสามารถนำไปใช้เป็นข้อมูลประกอบการนำเชื้อราที่แยกได้ไปใช้ประโยชน์ต่อไป

คำสำคัญ : เชื้อราดิน ป่าชายเลน

* อาจารย์ประจำสาขาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช
Corresponding author e-mail: sumalee_lia@hotmail.com
** นักศึกษาหลักสูตรจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช

Abstract

The aim of this study was to isolate and identify soil fungi in mangrove areas in Muang, Pakpanang and Thasala Districts, Nakhon Si Thammarat Province. The morphological study of fungi showed that from the total of 161 isolates, 124 isolates (77.0%) produce spores and can be classified. *Penicillium* spp. were found to be the most dominant fungi (52 isolates; 32.3%) followed by *Aspergillus* spp. (43 isolates; 26.7%), *Trichoderma* spp. (19 isolates; 11.8%), *Fusarium* spp. (6 isolates; 3.7%), *Drechslera* spp. (2 isolates; 1.2%), *Gongronella* sp. (1 isolate; 0.6%) and *Dendryphiopsis* sp. (1 isolate; 0.6%). Thirty-six isolates (22.4%) did not sporulate being classified as mycelia sterilia while one isolate (0.6%) produced spore but cannot be classified. The results of this study revealed the types of fungi isolated from mangrove soil. This information can be used to support further studies in term of fungal activities.

Keywords : Soil fungi, Mangrove forest

1. บทนำ

ป่าชายเลนเป็นกลุ่มสังคมพืชทนความเค็มที่ขึ้นอยู่ในเขตน้ำลงต่ำสุดและน้ำขึ้นสูงสุด พบบริเวณชายฝั่งทะเล ปากแม่น้ำ อ่าว ทะเลสาบ บึง ลำธาร เขตโคลนชายฝั่ง ทั้งในเขตร้อน (tropical) และใกล้เขตร้อน (subtropical) ทั่วโลกมีพื้นที่ป่าชายเลนประมาณ 181,000 ตารางกิโลเมตร โดย 90% ของป่าชายเลน จะพบอยู่ในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ อเมริกา และแอฟริกา (Thatoi *et al*., 2013; Spalding *et al*., 1997) สำหรับประเทศไทยมีพื้นที่ป่าชายเลนใน 24 จังหวัด รวม 2,920,257.76 ไร่ ในจำนวนนี้เป็นพื้นที่ป่าชายเลนในจังหวัดนครศรีธรรมราช 153,642.48 ไร่ (สำนักอนุรักษ์ทรัพยากรป่าชายเลน, 2555) ในป่าชายเลนจะมีความหลากหลายของพืช สัตว์ รวมถึงจุลินทรีย์สูง (Thatoi *et al*., 2013)

เชื้อราเป็นหนึ่งในกลุ่มของจุลินทรีย์ที่เป็นผู้ย่อยสลายอินทรีย์วัตถุที่สำคัญในป่าชายเลน มีบทบาทมากในการหมุนเวียนสารและพลังงาน และเกี่ยวข้องกับการสร้างส่วนประกอบของดิน (Jones, *et al*., 2009; Kritensen *et. al*., 2008; Fontaine *et al*., 2007; Hyde & Lee, 1995) เชื้อราในป่าชายเลนมีความหลากหลายสูง (Shearer *et al*., 2007) ซึ่งชนิดและปริมาณของเชื้อราที่พบจะขึ้นอยู่กับปัจจัยสิ่งแวดล้อมต่าง ๆ เช่น ฤดูกาล ความเค็ม ความเป็นกรด-ด่าง อุณหภูมิ แหล่งอาหาร ความชื้น ปริมาณออกซิเจน และแสงสว่าง เป็นต้น (Jones, 2000) การที่เชื้อราสามารถทนต่อสภาพแวดล้อมที่มีความบีบเค้นเช่นในป่าชายเลนได้ มักเกิดจากความสามารถในการผลิตสารที่มีคุณสมบัติเฉพาะ (Kathiresan & Bingham, 2001) ซึ่งพบได้บ่อยว่าสารที่เชื้อราป่าชายเลนสร้างขึ้นเป็นสารชนิดใหม่ที่มีความแตกต่างจากสารที่ถูกสร้างโดยเชื้อราจากแหล่งอื่น (Thatoi *et al*., 2013; Song *et al*., 2012; Huang *et al*., 2010; Shao *et al*., 2007) ปัจจุบัน

เป็นที่ยอมรับกันโดยทั่วไปว่าเชื้อราป่าชายเลนสามารถสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพได้หลายชนิด (Thatoi *et al*., 2013)

การศึกษาเชื้อราป่าชายเลนส่วนใหญ่จะทำการศึกษาในเชื้อราที่อาศัยอยู่ในส่วนต่าง ๆ ของต้นไม้ที่มีชีวิตหรือในซากพืชซากสัตว์ที่ย่อยสลาย (Jones et al., 2006; Ananda & Sridhar, 2004; Maria & Sridhar, 2003) แต่มีการศึกษาในดินน้อย การศึกษาในครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อคัดแยกและจำแนกชนิดของเชื้อราดินจากป่าชายเลนใน 3 อำเภอ ของจังหวัดนครศรีธรรมราช ซึ่งนอกจากจะทำให้ทราบความหลากหลายของเชื้อราแล้ว เชื้อราที่แยกได้ยังสามารถนำไปใช้ประโยชน์ในการศึกษาเพื่อหาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพต่อไป

2. วิธีการดำเนินการวิจัย

2.1 การเก็บตัวอย่างดิน

เก็บตัวอย่างดินในป่าชายเลนจาก 3 อำเภอ ของจังหวัดนครศรีธรรมราช คือ อำเภอเมือง อำเภอท่าศาลา อำเภอปากพนัง ด้วยวิธีการสุ่ม อำเภอละ 5 จุด รวมทั้งหมด 15 จุด โดยเลือกพื้นที่ที่มีน้ำทะเลท่วมถึง บันทึกลักษณะทางกายภาพของจุดเก็บตัวอย่าง ได้แก่ ค่าความเค็ม ค่าความเป็นกรดด่าง และอุณหภูมิของน้ำ ดำเนินการเก็บตัวอย่างดินลึกประมาณ 10 เซนติเมตร จากผิวดิน นำตัวอย่างดินบรรจุใส่ในถุงพลาสติกใสปราศจากเชื้อ ขนาด 15 x 20 เซนติเมตร เก็บตัวอย่างดินไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อนำไปแยกเชื้อราให้บริสุทธิ์ในห้องปฏิบัติการต่อไป

2.2 การแยกเชื้อราจากตัวอย่างดิน

แยกราดินโดยวิธี dilution plate method โดยนำตัวอย่างดิน 25 กรัม ใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นปราศจากเชื้อ 225 มิลลิลิตร จะได้ความเข้มข้น 10^{-1} เจือจางต่อด้วยน้ำกลั่น แบบเจือจาง 10 เท่า จนได้ระดับความเข้มข้น 10^{-4} นำสารแขวนลอยที่ระดับความเข้มข้น 10^{-2}- 10^{-4} จำนวน 1 มิลลิลิตร ไปเกลี่ยบนอาหาร Glucose Seawater Agar ที่เติมยาปฏิชีวนะ tetracycline และ ampicillin ที่ระดับความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย นำจานเลี้ยงเชื้อไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง (28-30 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 3-7 วัน สังเกตผลทุกวัน เมื่อพบว่ามีการเจริญของเชื้อรา ทำการตัดส่วนปลายของเส้นใยราภายใต้กล้องสเตอริโอ (Stereo microscope) นำไปเพาะเลี้ยงบนอาหาร Potato Dextrose Agar (PDA) ที่ไม่เติมยาปฏิชีวนะ โดยทำการเก็บตัวอย่างเชื้อราเป็นเวลา 7 วัน นับจากวันแรกที่พบการงอกของเชื้อรา เมื่อแยกเชื้อราได้บริสุทธิ์แล้วทำการเก็บเชื้อราในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ผิวเอียง เททับด้วยพาราฟินเหลว เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง

2.3 การจำแนกชนิดของเชื้อราดินป่าชายเลน

นำเชื้อราดินป่าชายเลนที่แยกได้ไปเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA นำไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง เมื่อเชื้อราเจริญและมีลักษณะโคโลนีที่เด่นชัด นำมาบันทึกภาพ บันทึกลักษณะวัดขนาด และทำ slide culture เพื่อดูลักษณะทางสัณฐานวิทยา โครงสร้างสืบพันธุ์ทั้งชนิดมีเพศและไม่มีเพศภายใต้กล้องจุลทรรศน์ บันทึกภาพ แล้วนำไปเปรียบเทียบขนาดและลักษณะทางสัณฐานวิทยากับคู่มือจำแนกชนิดของเชื้อรา Compendium of Soil Fungi Volume I (Domsch *et al*., 1993) และ Illustrated Genera of Imperfect Fungi (Barnett and Hunter, 1998)

3. ผลการวิจัย

3.1 ลักษณะทางกายภาพของจุดเก็บตัวอย่างดิน

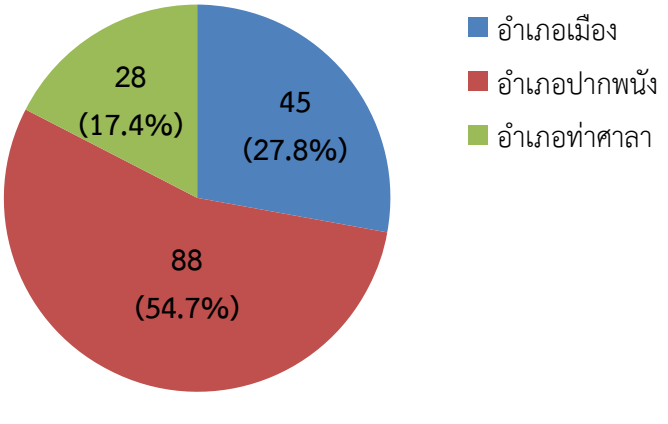
จากการเก็บข้อมูลลักษณะทางกายภาพบริเวณจุดเก็บตัวอย่างดินในป่าชายเลน อำเภอเมือง อำเภอท่าศาลา และอำเภอปากพนัง ซึ่งทำการเก็บตัวอย่างอำเภอละ 5 จุด รวมทั้งหมด 15 จุด พบว่าลักษณะทางกายภาพของจุดเก็บตัวอย่างทั้ง 3 อำเภอมีความใกล้เคียงกัน โดยมีค่าความเค็มของน้ำอยู่ในช่วง 10-15 ppt ค่าความเป็นกรดด่างอยู่ในช่วง 6-7 และอุณหภูมิ 27-27.5 องศาเซลเซียส (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 ลักษณะทางกายภาพของจุดเก็บตัวอย่างดินป่าชายเลนใน 3 อำเภอของจังหวัดนครศรีธรรมราช

จุดเก็บตัวอย่าง	ลักษณะทางกายภาพของจุดเก็บตัวอย่าง		
	ความเค็ม (ppt)	ความเป็นกรดด่าง	อุณหภูมิ (˚C)
อำเภอเมือง	12-13	6.5-7	27-27.3
อำเภอท่าศาลา	10-13	7	27-27.5
อำเภอปากพนัง	14-15	6-6.5	27.2-27.5

3.2 การคัดแยกราดินป่าชายเลน

จากการศึกษาสามารถแยกเชื้อราจากดินป่าชายเลนใน 3 อำเภอ ในจังหวัดนครศรีธรรมราชได้ทั้งสิ้น 161 ไอโซเลต เป็นเชื้อราจากอำเภอปากพนัง จำนวน 88 ไอโซเลต (54.7%) เชื้อราจากอำเภอเมือง จำนวน 45 ไอโซเลต (27.8%) และ อำเภอท่าศาลา จำนวน 28 ไอโซเลต (17.4%) (ภาพที่ 1)



ภาพที่ 1 จำนวนไอโซเลต (%) ของราดินป่าชายเลนที่แยกได้จาก 3 อำเภอ ในจังหวัดนครศรีธรรมราช

3.2 การจำแนกชนิดราดินป่าชายเลน

เมื่อนำเชื้อราดินป่าชายเลนที่แยกได้มาจำแนกชนิดโดยอาศัยลักษณะสัณฐานวิทยา พบว่า จากจำนวนเชื้อราทั้งหมด 161 ไอโซเลต มีเชื้อราที่สามารถสร้างสปอร์และสามารถจำแนกชนิดได้จำนวน 124 ไอโซเลต (77.0%) ซึ่งจัดอยู่ใน 2 Subdivisions ได้แก่ Subdivision

Deuteromycotina อยู่ใน Class Hyphomycetes พบ 6 genus ได้แก่ *Aspergillus* spp., *Dendryphiopsis* sp., *Drechslera* spp., *Fusarium* spp., *Penicillium* spp., และ *Trichoderma* spp. และกลุ่มเชื้อราใน Subdivision Zygomycotina อยู่ใน Class zygomycetes พบเพียง 1 genus ได้แก่ *Gongronella* sp. นอกจากนั้นพบเชื้อราที่ไม่สร้างสปอร์ (mycelia sterilia) จำนวน 36 ไอโซเลต (22.4%) และเชื้อราที่สร้างสปอร์แต่ยังไม่สามารถจำแนกชนิดได้ (unidentified species) จำนวน 1 ไอโซเลต (0.6%) (ตารางที่ 2)

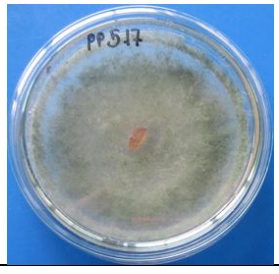
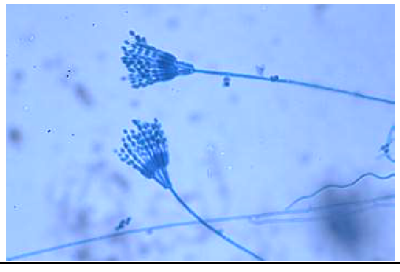
จากจำนวนเชื้อราทั้งหมดที่จำแนกชนิดได้ จำนวน 124 ไอโซเลต (77.0%) พบว่าเป็นเชื้อรา *Penicillium* spp. มากที่สุด โดยพบ 52 ไอโซเลต (32.3%) พบเชื้อรา *Aspergillus* spp. รองลงมา โดยพบ 43 ไอโซเลต (26.7%) พบเชื้อรา *Trichoderma* spp. 19 ไอโซเลต (11.8%) *Fusarium* spp. 6 ไอโซเลต (3.7%) *Drechslera* spp. 2 ไอโซเลต (1.2%) *Gongronella* sp. 1 ไอโซเลต (0.6%) และ *Dendryphiopsis* sp. 1 ไอโซเลต (0.6%) (ตารางที่ 2) สำหรับภาพตัวอย่างลักษณะโคโลนี และภาพถ่ายภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของเชื้อราดินป่าชายเลนในแต่ละกลุ่มแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 2 การจำแนกเชื้อราดินป่าชายเลนในจังหวัดนครศรีธรรมราช

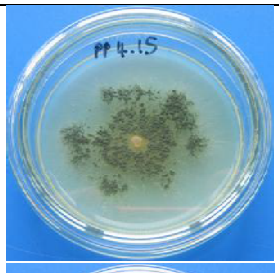
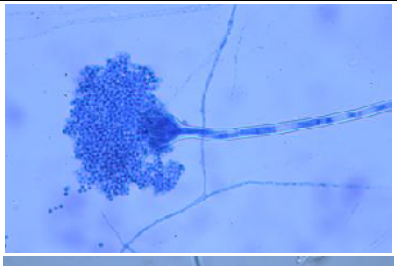
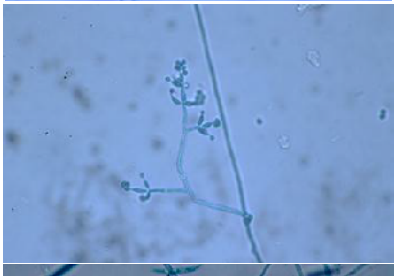
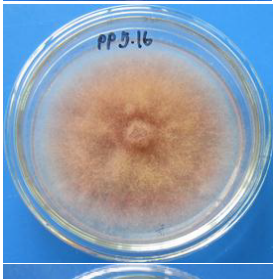
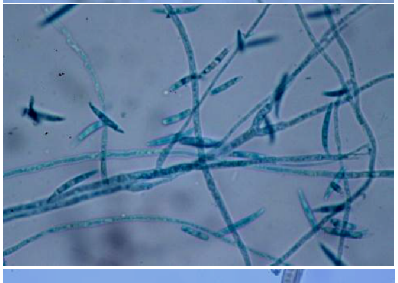
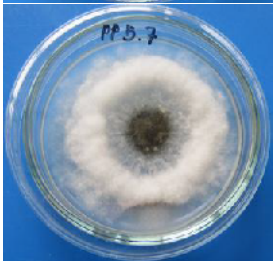
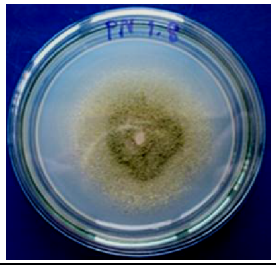
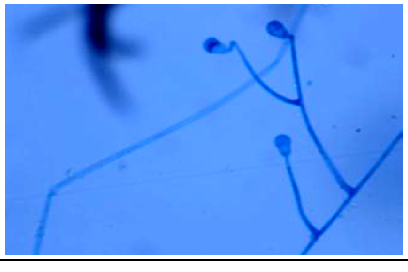
Divisions/Groups	Class	Genus
Deuteromycotina (123/76.4)*	Hyphomycetes	*Aspergillus* spp. (43/26.7)
		Dendryphiopsis sp. (1/0.6)
		Drechslera spp. (2/1.2)
		Fusarium spp. (6/3.7)
		Penicillium spp. (52/32.3)
		Trichoderma spp. (19/11.8)
Zygomycotina (1/0.6)	zygomycetes	*Gongronella* sp. (1/0.6)
Mycelia sterilia (36/22.4)	-	-
Unidentified species (1/0.6)	-	-

*(number of isolates /% of isolates)

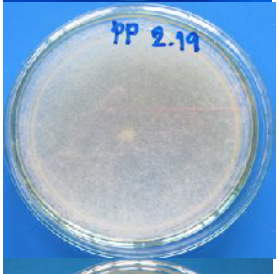
ตารางที่ 3 ตัวอย่างของเชื้อราดินป่าชายเลนที่พบในจังหวัดนครศรีธรรมราช

รหัส	ลักษณะโคโลนี	ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์	ชนิด
PP 5.17			*Penicillium* sp.

ตารางที่ 3 ตัวอย่างของเชื้อราดินป่าชายเลนที่พบในจังหวัดนครศรีธรรมราช (ต่อ)

รหัส	ลักษณะโคโลนี	ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์	ชนิด
PP 4.15			*Aspergillus* sp.
PP 5.22			*Trichoderma* sp.
PP 5.16			*Fusarium* sp.
PP 5.7			*Drechslera* sp.
PN 1.8			*Gongronella* sp.

ตารางที่ 3 ตัวอย่างของเชื้อราดินป่าชายเลนที่พบในจังหวัดนครศรีธรรมราช (ต่อ)

รหัส	ลักษณะโคโลนี	ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์	ชนิด
PP1.10			*Dendryphiopsis* sp.
PP2.19			Mycelia sterilia
PN 2.6			Unidentified species

4. อภิปรายและสรุปผลการวิจัย

จากการเก็บตัวอย่างดินป่าชายเลนใน 3 อำเภอ ของจังหวัดนครศรีธรรมราช ที่มีลักษณะทางกายภาพของจุดเก็บตัวอย่างที่ใกล้เคียงกัน คือ มีค่าความเค็มของน้ำอยู่ในช่วง 10-15 ppt ค่าความเป็นกรดด่างอยู่ในช่วง 6-7 และอุณหภูมิ 27-27.5 องศาเซลเซียส พบว่าสามารถแยกเชื้อราได้จำนวน 161 ไอโซเลต โดยแยกเชื้อราได้มากที่สุดจากอำเภอปากพนัง จำนวน 88 ไอโซเลต (54.7%) อำเภอเมือง จำนวน 45 ไอโซเลต (27.8%) และอำเภอท่าศาลา จำนวน 28 ไอโซเลต (17.4%) การที่สามารถแยกเชื้อราในอำเภอปากพนังได้มากที่สุดนั้นอาจเนื่องมาจากบริเวณป่าชายเลนที่เก็บตัวอย่างในอำเภอปากพนังมีความอุดมสมบูรณ์มากกว่า มีการทับถมของอินทรียสารสูงกว่าอีก 2 อำเภอ ทำให้เชื้อรามีสารอาหารที่สามารถนำไปใช้ในการเจริญได้มาก และเนื่องจากเชื้อราดินป่าชายเลนที่แยกได้ในครั้งนี้เป็นกลุ่มของราที่สามารถเพาะเลี้ยงได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อ (culturable fungi) เท่านั้น เชื้อราชนิดอื่นที่ไม่สามารถเจริญได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อจะไม่ถูกคัดเลือกจำนวนราที่แยกได้จึงมีจำนวนน้อยกว่าเชื้อราที่มีอยู่จริง การใช้เทคนิคในการตรวจหารา ที่ไม่ขึ้นกับอาหารเลี้ยงเชื้อ เช่น enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) (Johnson *et al*., 1982) การตรวจหา (1-3) β-D-glucan ในผนังเซลล์ของรา (Johnston *et al*., 2006) Denaturing Gradient Gel Electrophoresis (DGGE)) (Tao *et al*., 2008; Duong *et al*., 2006;

Nikolcheva & Bärlocher, 2004) Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism (TRFLP) (Nikolcheva & Bärlocher, 2005) หรือการวิเคราะห์ลำดับเบสบนสาย DNA (Seena *et al*., 2008; Yang *et al*., 2001) จะทำให้ตรวจพบชนิดของรามากขึ้น

จากจำนวนเชื้อราที่แยกได้ 161 ไอโซเลต เมื่อนำไปเปรียบเทียบกับคู่มือจำแนกเชื้อรา พบว่าเป็นเชื้อราที่สามารถสร้างสปอร์และสามารถจำแนกชนิดได้จำนวน 124 ไอโซเลต (77.0%) ซึ่งจัดอยู่ใน 2 Subdivisions ได้แก่ Subdivision Deuteromycotina อยู่ใน Class Hyphomycetes พบ 6 genus ได้แก่ *Aspergillus* spp., *Dendryphiopsis* sp., *Drechslera* spp., *Fusarium* spp., *Penicillium* spp. และ *Trichoderma* spp. และเชื้อราใน Subdivision Zygomycotina อยู่ใน Class zygomycetes พบเพียง 1 ชนิด ได้แก่ *Gongronella* sp. นอกจากนั้นพบเชื้อราที่ไม่สร้างสปอร์ (mycelia sterilia) จำนวน 36 ไอโซเลต (22.4%) และเชื้อราที่ไม่สามารถจำแนกชนิดได้ (unidentified species) จำนวน 1 ไอโซเลต (0.6%) เชื้อราสายพันธุ์เด่นที่พบมากได้แก่ คือ *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp. และ *Trichoderma* sp. สอดคล้องกับการศึกษาของ Gilna & Khaleel (2011) ที่ทำการศึกษาความหลากหลายของเชื้อราในดินป่าชายเลนในเมือง Kannur ประเทศ Kerala แล้วพบว่าเชื้อราทั้ง 3 จีนัส เป็นเชื้อราเด่นที่พบ ซึ่งเชื้อรา *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp. และ *Trichoderma* sp. เป็นเชื้อราที่เจริญเติบโตรวดเร็ว สามารถสร้างสปอร์ได้เป็นจำนวนมาก (Broder & Wagner, 1988; Charudattan & Lin, 1974) จึงอาจเป็นสาเหตุที่ทำให้สามารถพบเชื้อราเหล่านี้ได้บ่อยในป่าชายเลน

Ito และ Nakagiri (1997) ได้ศึกษาเชื้อราจากตัวอย่างดิน 36 ตัวอย่าง ที่เก็บบริเวณป่าชายเลนในเมือง Okinawa ประเทศญี่ปุ่น พบว่าเป็นสกุลของ Ascomycotina 11 สกุล Deuteromycotina 21 สกุล Zygomycotina 2 สกุล และ Unidentified อีก 2 สกุล มีสายพันธุ์ที่เป็นสายพันธุ์ที่เด่นที่พบตามลำดับดังนี้คือ *Penicillium purpurogenum, Aspergillus terreus*, *Trichoderma harzianum, Penicillium crustosum, Acremonium alabamense, Talaromyces flavus* var. *flavus* และ *Phialophora fastigiata* และจากการศึกษาของ Ito *et al*. (2001) ที่ศึกษาชนิดของราในป่าชายเลนในประเทศไทยเปรียบเทียบกับเชื้อราในป่าชายเลนประเทศญี่ปุ่น พบว่าจำนวนชนิดและปริมาณเฉลี่ยของราในประเทศไทยน้อยกว่าในป่าชายเลนประเทศญี่ปุ่น และมักพบ *Talalomyces byssochlamydoides* และ *Aspergillus aculeatus* ในประเทศไทย แต่ไม่พบในประเทศญี่ปุ่น และเชื้อ *Aspergillus* sp. ที่พบในประเทศไทยมักจะปรับตัวให้เจริญที่อุณหภูมิสูงและมีความหลากหลายสูง เชื้อที่พบในดินจากป่าชายเลนในประเทศไทยเป็นราใน genus *Acremonium*, *Aspergillus, Cladospiorium, Coniotyrium, Cylindrocladium, Eupenicillium, Fusarium, Geotrichum, Gongronella, Metarhizium, Microascus, Mucor, Neosartory, Paecilomyces, Penicillium, Pestalotiopsis, Phoma, Talaromyces, Trichoderma* และ unidentified strains

ในการศึกษาเชื้อราในป่าชายเลนในจังหวัดนครศรีธรรมราชในครั้งนี้พบเชื้อราบางสายพันธุ์ที่เป็นชนิดเดียวกับที่พบในป่าชายเลนใน Okinawa ประเทศญี่ปุ่น เชื้อราดังกล่าว ได้แก่ *Penicillium* sp., *Aspergillus* sp. และ*Trichoderma* sp. และมีเชื้อราบางชนิดที่พบในการศึกษาครั้งนี้แต่ไม่พบที่ Okinawa เชื้อราดังกล่าวได้แก่ *Drechslera* sp., *Gongronella* sp. และ

Dendryphiopsis sp. รวมทั้งมีเชื้อราบางชนิดที่พบที่ Okinawa แต่ไม่พบในการศึกษาครั้งนี้ เชื้อรา ดังกล่าวได้แก่ *Acremoniuma labamense*, *Talaromyces flavus* var. *flavus* และ *Phialophora fastigiata* การพบหรือไม่พบเชื้อราที่เหมือนกันในป่าชายเลนประเทศญี่ปุ่นและป่าชายเลนในประเทศไทย อาจเนื่องจากพื้นที่ป่าชายเลนในประเทศญี่ปุ่นกับป่าชายเลนในประเทศไทยมีความแตกต่างทางลักษณะโครงสร้างของป่าชายเลน เช่น ชนิด การกระจาย ภูมิประเทศ ภูมิอากาศ น้ำขึ้นน้ำลง คลื่น กระแสน้ำ ความเค็มของน้ำ ค่าความเป็นกรด-ด่าง ออกซิเจนละลายดิน และธาตุอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อราดินที่อาศัยอยู่ ซึ่งอาจส่งผลทำให้มีชนิดของเชื้อราในป่าชายเลนที่แตกต่างกัน

โสภนา วงศ์ทอง (2544) ได้ศึกษาความหลากหลายทางชีวภาพของเชื้อราชั้นสูงในป่าชายเลน ณ สถานีวิจัยทรัพยากรชายฝั่งระนอง แล้วพบราทั้งหมด 101 ชนิด แบ่งเป็นราในกลุ่ม Ascomycetes 14 ชนิด Deuteromycetes 78 ชนิด Basidiomycetes 2 ชนิด และ Sterile hyphae 7 ชนิด ในขณะที่วัชรินทร์ ศรีสวัสดิ์สกุลมี (2545) ได้ศึกษาความหลากหลายทางชีวภาพของเชื้อราในดินป่าชายเลน ณ พื้นที่สงวนชีวมณฑลระนอง แล้วพบเชื้อรารวม 12 สกุล เฉพาะในกลุ่ม Zygomycetes และ Deuteromycetes ส่วนการศึกษาครั้งนี้พบเชื้อราในกลุ่ม Deuteromycetes, Zygomycetes และ Ascomycetes แต่ไม่พบเชื้อราในกลุ่ม Basidiomycetes ในดินป่าชายเลนในจังหวัดนครศรีธรรมราช แสดงให้เห็นว่าแม้ว่าจะเป็นการศึกษาในประเทศเดียวกัน แต่จากสภาพแวดล้อมและสภาพอากาศที่แตกต่างกันในป่าชายเลนแต่ละพื้นที่ ก็อาจส่งผลให้มีเชื้อราที่แตกต่างกันได้

นอกจากการศึกษาราดินป่าชายเลนบริเวณผิวดินเช่นการศึกษาในครั้งนี้แล้ว ยังมีผู้ทำการศึกษาราดินป่าชายเลนในดินบริเวณที่ลึกลงไป เช่น Yonathan *et al*. (2012) ได้ศึกษาความหลากหลายของเชื้อราในดินตะกอนป่าชายเลนในสภาพที่ไม่มีออกซิเจนแล้วพบว่าเชื้อราเด่นที่พบได้แก่เชื้อราใน genus Sistotremastrum (Trechisporales), Dipodascus australiensis (Saccharomycetales), Alternaria spp. (Pleosporales) และเชื้อราที่ไม่ทราบชนิดในกลุ่ม Lecanoromycete แสดงให้เห็นว่ายังมีความหลากหลายของเชื้อราเป็นอย่างมากในดินบริเวณดังกล่าว เชื้อราดินป่าชายเลนที่พบสามารถปรับตัวให้เข้ากับสิ่งแวดล้อมได้เป็นอย่างดีและสามารถย่อยสลายสารอินทรีย์ในสภาพที่ไม่มีออกซิเจนได้

จากการศึกษาในครั้งนี้พบเชื้อราที่ไม่สามารถสร้างสปอร์ จำนวนสูงถึง 22.4 % ของเชื้อราที่แยกได้ทั้งหมด ซึ่งมีปัจจัยหลาย ๆ ปัจจัยที่ส่งผลต่อการสร้างสปอร์ของเชื้อรา ตัวอย่างของปัจจัยดังกล่าวได้แก่ ชนิดและความเข้มข้นของอาหารที่ใช้เลี้ยงเชื้อ และสภาวะแวดล้อม เช่น pH ความชื้น อุณหภูมิ ปริมาณแสงที่ใช้ในการเลี้ยง การศึกษาสภาวะที่ใช้เลี้ยงที่เหมาะสมเพื่อให้เชื้อราสร้างสปอร์จึงเป็นอีกหัวข้อหนึ่งที่น่าสนใจศึกษา อย่างไรก็ตามการจำแนกเชื้อราโดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยา เป็นวิธีการที่ต้องใช้เวลาในการเพาะเลี้ยง มักมีการปนเปื้อนจากเชื้อราในอากาศ และมักพบเชื้อราที่ไม่สร้างสปอร์ ทำให้ไม่สามารถจำแนกชนิดของเชื้อราได้ การจำแนกเชื้อราในปัจจุบันจึงมักเปลี่ยนมาใช้วิธีการทางชีวโมเลกุลแทนการใช้ลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อรา

การศึกษาวิจัยเรื่องนี้ทำให้ทราบชนิดของเชื้อราในดินป่าชายเลน ซึ่งเชื้อราดังกล่าวบางชนิด มีความสาคัญ เช่น ราในสกุล *Aspergillus, Penicillium* และ *Fusarium* ที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ

ที่หลากหลายสามารถนำไปใช้ประโยชน์ทางอุตสาหกรรมและทางแพทย์ และเชื้อรา *Trichoderma* ที่ใช้ควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืชและสามารถสร้างเอนไซม์เซลลูเลสช่วยในการย่อยสลายเศษพืช ผลจากการศึกษาในครั้งนี้สามารถนำไปใช้เป็นข้อมูลประกอบการนำเชื้อราที่แยกได้ไปศึกษาความสามารถในการสร้างสารที่มีประโยชน์ต่อไป

5. กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยชิ้นนี้เป็นส่วนหนึ่งของโครงการวิจัยที่ได้รับทุนสนับสนุนจากโครงการเมธีวิจัยอาวุโส สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย ภายใต้การนำของ ศ.ดร.วัชรินทร์ รุกขไชยศิริกุล ผู้วิจัย ขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูง

6. เอกสารอ้างอิง

วัชรินทร์ ศรีสวัสดิ์สกุลมี. (2545). **ความหลากหลายทางชีวภาพของเชื้อราในป่าชายเลน ณ พื้นที่สงวนชีวมณฑลระนอง**. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยา. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สำนักอนุรักษ์ทรัพยากรป่าชายเลน กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง. (2555). **พื้นที่ป่าชายเลนของประเทศไทย**. กรุงเทพมหานคร : กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง.

โสภนา วงศ์ทอง. (2544). **ความหลากหลายทางชีวภาพของเชื้อราชั้นสูงในป่าชายเลน ณ สถานีวิจัยทรัพยากรชายฝั่งระนอง**. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยา. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

Ananda, K. & Sridhar, K.R. (2004). Diversity of filamentous fungi on decomposing leaf and woody litter of mangrove forest in the southwest coast of India. **Current Science,** 87, 1431-1437.

Barnett, H.L. & Hunter, B.B. (1998). **Illustrated Genera of Imperfect Fungi**. 4th Edition. American Phytopathological Society, Minnesota, USA.

Broder, M.W. & Wagner, G.H. (1986). Microbial colonization and decomposition of corn, wheat, and soybean residue. **Soil Science Society of American Journal,** 52(1), 112-117.

Charudattan, R. & C. Y. Lin. (1974). Isolates of **Penicillium, Aspergillus**, and **Trichoderma** toxic to aquatic plants. **Hyacinth control Journal,** 12, 70-73.

Domsch, K.H., Gams, W. & Anderson, T.W. (1993). **Compendium of Soil Fungi Volume I**. IHW Verlag Press. London, UK.

Duong, L.M., Jeewon, R., Lumyong, S. & Hyse, K.D. (2006). DGGE coupled with ribosomal DNA phylogenies reveal uncharacterized fungal phylotypes on living leaves of *Magnolia liliifera*. **Fungal Diversity**, 23, 121-138.

Fontaine, S., Barot, S., Barre, P., Bdioui, N., Mary, B. & Rumpel, C. (2007). Stability of organic carbon in deep soil layers controlled by fresh carbon supply. **Nature,** 450, 277-280.

Gilna, V.V. & Khaleel, K.M. (2011). Diversity of fungi in mangrove ecosystem. **Journal of Experimental Science.** 2(2), 47-48.

Huang, Z., Yang, R., Gu, Z., She, Z. & Lin, Y. (2010). A new Naptho-γ-pyrone from mangrove endophytic fungus ZSU-H26. **Chemistry of Natural Compounds,** 46, 15-18.

Hyde, K.D. & Lee, S.Y. (1995). Ecology of mangrove fungi and their role in nutrient cycling – what gaps occur in our knowledge. **Hydrobiologia,** 295, 107-118.

Ito, T. & Nakagiri, A. (1997). Mycofloral study on mamgrove mud in Okinawa, Japan. **Research Communication,** 18, 32-39.

Ito, T., Nakagiri, A., Tanticharoen, M. & Manoch, L. (2001). Mycobiota of mamgrove forest soil in Thailand. Institute of fermentation Osaka. **Research Communication,** 20, 50-60.

Johnson, M.C., Pirone, T.P. Siegel, M.R. & Varney, D.R. (1982). Detection of *Epichloe typhina* in tall fescue by mean of enzyme-linked immunosorbent assay. **Photopathology,** 72, 647-650.

Johnston, P.R. Sutherland, P.W. & Joshee, S. (2006). Visualising endophytic fungi within leaves by detection of (1-3)-β-D-glucans in fungal cell wall. **Mycologist,** 20, 159-162.

Jones, E.B.G. (2000). Marine fungi: some factors influencing biodiversity. **Fungal Diversity,** 4, 53-73.

Jones, E.B.G., Pilantanapak, A., Chatmala, I., Sakayaroj, S., Phongpaichit, S. & Choeyklin, R. (2006). Thai marine fungal diversity. **Songklanakarin Journal of Science and Tchnoloy,** 28(4), 687-708.

Jones, E.B.G., Sakayaroj, S., Suetrong, S., Somrithipol, S. & Pang, K.L. (2009). Classification of marine Ascomycota, anamorphic taxa and Basidiomycota. **Fungal Diversity.** 35, 1-187.

Kathiresan, K., Bingham, B.L. (2001). Biology of mangrove and mangrove ecosystem. **Advances in marine biology,** 40, 81-251.

Kristensen, E., Bouillion, S., Dittmar, T. & Marchand, C. (2008). Organic carbon dynamics in mangrove ecosystems; a review. **Aquatic Botany,** 89, 201-219.

Maria, G.L. & Sridhar, K.R. (2003). Diversity of filamentous fungi on woody litter of five mangrove plant species from the southwest coast of India. **Fungal Diversity,** 14, 109-126.

Nikolcheva, L.G. & Bärlocher, F. (2004). Taxon-spcific fungal reveal unexpectedly high diversity during leaf decomposition in stream. **Mycological Progress,** 3(1), 41-49.

Nikolcheva, L.G. & Bärlocher, F. (2005). Seasonal and substrate preferences of fungi colonizing leaves in streams: traditional versus molecular evidence. **Environmental Microbiology,** 7(2), 270-280.

Seena,S.,Wynberg, N. & Bärlocher, F. 2008. Fungal diversity during leaf decomposition in a stream assessed through clone libraries. **Fungal Diversity,** 30, 1-14.

Shao, C., Guo, Z., Peng, H., Peng, G., Huang, Z., She, Z., Lin, Y. & Zhou, S. (2007). A new Isoprenyl phenyl ether compound from mangrove fungus. **Chemistry of Natural Compounds,** 43, 377-380.

Shearer, C.A., Descals, E., Kohlmeyer, B., Kohlmeyer, J., Marvanova, L., Padgett, D., Porter, D., Raja, H.A., Schmit, J.P., Holly, A., Thorton, H.A. & Voglymayr, H. (2007) Fungal diversity in aquatic habitats. **Biodiversity and Conservation,** 16, 49-67.

Song, Y., Wang, J., Huang, H., Ma, L., Wang, J., Gu, Y., Liu, L. & Lin, Y. (2012). Four eremophilane sesquiterpenes from the mangrove endophytic fungus *Xylaria* sp. BL321. **Marine Drugs,** 10, 340-348.

Spalding, M., Blasco, F. & Field, C. (1997). **World mangrove atlas**. Cambridge Samara Pub. Co., Cambridge, UK.

Tao, G., Liu, Z.Y., Hyde, K.D., Lui, X.Z. & Yu, Z.N. (2008). Whole rDNA analysis reveals novel an endophytic fungi in *Bletilla ochracea* (Orchidaceae). **Fungal Diversity,** 33, 101-122.

Thatoi, H., Behera, B. & Mishra, R. (2013). Ecological role and biotechnological potential of mangrove fungi: a review. **Mycology,** 4(1), 54-71.

Yang, C.H., Crowley, D.E., Borneman, J. & Keen, N.T. (2001). Microbial phyllosphere population are more complex than previously realized. **Proceeding of the National Academy of Sciences of the United State of America,** 98, 3889-3894.

Yonathan, A., Marchand, C., Wartel, M. & Record, E. 2011. Fungal diversity in anoxic-sulfidic sediments in a mangrove soil. **Fungal Ecology,** 5(2), 282-285.