



การระบุชนิดของรา *Aspergillus* species และการคัดกรองสายพันธุ์ที่สร้าง
เอนไซม์ไคตินเนสเบื้องต้น

**Identification of *Aspergillus* Species and Primary Screening of Chitinase-
Producing Strains**

อิทธิพล จิตพิทักษ์

Ithipon Chitphithak

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาโรคพืชวิทยา
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

**A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the
Degree of Master of Science in Plant Pathology**

Prince of Songkla University

2566

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์



การระบุชนิดของรา *Aspergillus* species และการคัดกรองสายพันธุ์ที่สร้าง
เอนไซม์ไคตินเนสเบื้องต้น

**Identification of *Aspergillus* Species and Primary Screening of Chitinase-
Producing Strains**

อิทธิพล จิตพิทักษ์

Ithipon Chitphithak

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาโรคพืชวิทยา

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the

Degree of Master of Science in Plant Pathology

Prince of Songkla University

2566

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ชื่อวิทยานิพนธ์ การระบุชนิดของรา *Aspergillus* species และการคัดกรองสายพันธุ์ที่สร้าง
 เอนไซม์ไคติเนสเบื้องต้น

ผู้เขียน นาย อธิพล จิตพิทักษ์

สาขาวิชา โรคพืชวิทยา

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

คณะกรรมการสอบ

.....
 (ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ชนินันท์ พรสุริยา)

.....ประธานกรรมการ
 (ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ธนัญชนก ไชยรินทร์)

.....กรรมการ
 (รองศาสตราจารย์ ดร. อนุรักษ์ สันป่าเป้า)

.....กรรมการ
 (ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สายทอง แก้วฉาย)

.....กรรมการ
 (ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ชนินันท์ พรสุริยา)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อนุมัติให้บัณฑิตวิทยาลัยฉบับนี้เป็นส่วน
 หนึ่งของการศึกษา ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาโรคพืชวิทยา

.....
 (ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. เถกิง วงศ์ศิริ โชติ)
 รักษาการแทนคณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

(3)

ขอรับรองว่า ผลงานวิจัยนี้มาจากการศึกษาวิจัยของนักศึกษาเอง และได้แสดงความขอบคุณบุคคลที่มีส่วนช่วยเหลือแล้ว

ลงชื่อ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ชนินันท์ พรสุริยา)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

ลงชื่อ

(นาย อธิพล จิตพิทักษ์)

นักศึกษา

(4)

ข้าพเจ้าขอรับรองว่า ผลงานวิจัยนี้ไม่เคยเป็นส่วนหนึ่งในการอนุมัติปริญญาในระดับใดมาก่อน และ
ไม่ได้ถูกใช้ในการยื่นขออนุมัติปริญญาในขณะนี้

ลงชื่อ

(นาย อธิพัล จิตพิทักษ์)

นักศึกษา

ชื่อวิทยานิพนธ์	การระบุชนิดของรา <i>Aspergillus</i> species และการคัดกรองสายพันธุ์ที่สร้างเอนไซม์ไคตินเนสเบื้องต้น
ผู้เขียน	นายอิทธิพล จิตพิทักษ์
สาขาวิชา	โรคพืชวิทยา
ปีการศึกษา	2565

บทคัดย่อ

Aspergillus เป็นราที่มีความสำคัญในระบบนิเวศ โดยมีบทบาทเป็นผู้ย่อยสลายที่พบได้ทั่วไปในดิน ราบางชนิดในสกุลนี้มีคุณสมบัติเป็นราปฏิปักษ์ในการควบคุมราสาเหตุโรคพืช แต่การศึกษาว่า *Aspergillus* species ในประเทศไทยส่วนใหญ่เน้นการทดสอบสารพิษ ในขณะที่การศึกษาเกี่ยวกับการระบุชนิดและการนำมาใช้เป็นจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ยังไม่แพร่หลาย ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อ ระบุชนิดและอธิบายลักษณะทางสัณฐานวิทยาของรา *Aspergillus* species ที่แยกได้จากดินในภาคใต้ของประเทศไทย และคัดกรองสายพันธุ์ที่มีคุณสมบัติในการสร้างเอนไซม์ไคตินเนสเบื้องต้น ผลการแยกแกร *Aspergillus* species จากตัวอย่างดิน 14 จังหวัดในภาคใต้ของประเทศไทยด้วยวิธี serial dilution และ pour plate ได้รา *Aspergillus* species จำนวน 106 ไอโซเลต และคัดกรองไอโซเลตที่ไม่สร้างสารพิษอะฟลาทอกซินได้ 84 ไอโซเลต จัดรา *Aspergillus* species ที่แยกได้ทั้งหมดออกเป็น 4 section ตามสีของ conidial head และลักษณะของเวซิกิลและไฟอะไลด์ การระบุชนิดโดยใช้ลำดับนิวคลีโอไทด์บน DNA บริเวณตำแหน่ง internal transcribed spacer (ITS1-5.8-ITS2) ด้วยคู่ไพรเมอร์ ITS1/ITS4 และยีน calmodulin (*CaM*) ด้วยคู่ไพรเมอร์ Cmd5/Cmd6 ได้รา *Aspergillus* spp. 11 ชนิด ได้แก่ *A. aculeatimus* (9 สายพันธุ์) *A. brunneoviolaceus* (2 สายพันธุ์) *A. flavipes* (4 สายพันธุ์) *A. floridensis* (13 สายพันธุ์) *A. niger* (19 สายพันธุ์) *A. terreus* (7 สายพันธุ์) *A. neoniger* (13 สายพันธุ์) *A. trinidadensis* (2 สายพันธุ์) *A. unguis* (3 สายพันธุ์) *A. tubingensis* (11 สายพันธุ์) และ *A. vadensis* (1 สายพันธุ์) ผลทดสอบการสร้างเอนไซม์ไคตินเนสเบื้องต้นบนอาหาร chitinase detection medium พบรา *Aspergillus* species จำนวน 82 ไอโซเลต สามารถสร้างเอนไซม์ไคตินเนสบนอาหารทดสอบได้ ซึ่งส่วนใหญ่อยู่ใน Section *Nigri* และ *Terrei* รา *Aspergillus* species ทั้ง 82 สายพันธุ์ มีแนวโน้มในการเป็นจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ ซึ่งสามารถนำไปคัดกรองคุณสมบัติอื่น ๆ ของการเป็นจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ต่อไป

Thesis Title	Identification of <i>Aspergillus</i> species and primary screening of chitinase-producing strains
Author	Mr. Ithipon Chitphithak
Major Program	Plant Pathology
Academic Year	2022

ABSTRACT

Aspergillus species is an important fungus in the ecosystem. It plays a role as a decomposer commonly found in the soil. Some species in this genus have antifungal properties to control plant pathogenic fungi. However, much research on *Aspergillus* in Thailand mainly focuses on toxicity tests. While the research on the identification and application of antagonistic microorganisms is not universal. Therefore, this research aimed to identify and describe the morphology of *Aspergillus* species isolated from soil in southern Thailand, and to preliminarily screen the chitinase-producing strains. Soil samples from 14 provinces in southern Thailand were collected. One hundred and six isolates of *Aspergillus* species were isolated by serial dilution and pour plate methods. Eighty-four non-aflatoxin-producing isolates were screened and grouped into 4 sections according to the color of the conidial head, and characteristics of vesicles and phialides. Eleven species of *Aspergillus* species namely *A. aculeatinus* (9 strains), *A. brunneoviolaceus* (2 strains), *A. flavipes* (4 strains), *A. floridensis* (13 strains), *A. niger* (19 strains), *A. terreus* (7 strains), *A. neoniger* (13 strains), *A. trinidadensis* (2 strains), *A. unguis* (3 strains), *A. tubingensis* (11 strains) and *A. vadensis* (1 strain) were identified using the nucleotide sequences of the internal transcribed spacers (ITS1-5.8-ITS2) of ribosomal DNA and calmodulin (*CaM*) genes with the primers pairs ITS1/ITS4 and Cmd5/Cmd6, respectively. Eighty-two strains of the isolated

Aspergillus species were detected to produce chitinase on the chitinase detection medium. Most of them were *Aspergillus* species in section *Nigri* and *Terrei*. All 82 strains of *Aspergillus* species were promising antagonists against plant pathogenic fungi for further screening of other antagonistic properties.

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ชนินันท์ พรสุริยา อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาให้คำปรึกษาและชี้แนะแนวทางในการทำวิทยานิพนธ์จนวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จนสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.ชญชชนก ไชยรินทร์ ประธานกรรมการสอบ รศ.ดร.อนุรักษ์ สันป่าเป้า และ ผศ.ดร. สายทอง แก้วฉาย คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่ให้ความกรุณาชี้แนะแนวทางและให้คำปรึกษาอันเป็นประโยชน์ต่อการแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณสาขาวิชาสัตวศาสตร์และการจัดการ วิชาเอกการจัดการศัตรูพืช (โรคพืชวิทยา) คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่อำนวยความสะดวกและสถานที่ทำวิจัย รวมถึงบุคลากรที่คอยให้ความช่วยเหลืองานด้านธุรการ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากสถานวิจัยความเป็นเลิศเทคโนโลยีชีวภาพเกษตรและทรัพยากรธรรมชาติ ระยะที่ 2 คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ท้ายนี้ผู้เขียนขอขอบพระคุณ พ่อ แม่ และครอบครัว ผู้เป็นแรงผลักดันและคอยสนับสนุนให้กำลังใจที่สำคัญในการทำวิทยานิพนธ์ รวมถึง พี่ เพื่อน และน้อง ๆ นักศึกษาปริญญาโท ที่คอยให้ความช่วยเหลือ และกำลังใจในการทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

อิทธิพล จิตพิทักษ์

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	(5)
Abstract	(6)
กิตติกรรมประกาศ	(8)
สารบัญ	(9)
รายการตาราง	(10)
รายการภาพ	(11)
บทที่ 1	1
บทนำ	1
ตรวจเอกสาร	3
วัตถุประสงค์	29
บทที่ 2	30
วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการ	30
บทที่ 3	40
ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง	40
บทที่ 4	73
สรุปผลและข้อเสนอแนะ	73
เอกสารอ้างอิง	75
ประวัติผู้เขียน	83

รายการตาราง

ตารางที่		หน้า
1	Section และลักษณะของรา <i>Aspergillus</i> species ในปัจจุบัน	9
2	รายชื่อของรา <i>Aspergillus</i> species	10
3	NCBI GenBank accessions ของรา <i>Aspergillus</i> species ที่ใช้สร้างแผนภูมิวิวัฒนาการ	32
4	ตำแหน่งเก็บตัวอย่างดินและจำนวนรา <i>Aspergillus</i> species ที่แยกได้จากดิน	40
5	การจำแนกรรา <i>Aspergillus</i> species ด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยาตาม Section	42
6	รา <i>Aspergillus</i> species ที่สร้างเอนไซม์ไคตินเอสในช่วง 1-14 วัน	71
7	ค่า Halo : Colony ratio ของรา <i>Aspergillus</i> spp. ที่ละลายฟอสเฟตได้	72

รายการภาพ

ภาพที่		หน้า
1	ที่มาของชื่อรา <i>Aspergillus</i>	4
2	ลักษณะโครงสร้างของรา <i>Aspergillus</i> sp. ระยะ perfect stage	5
3	ลักษณะโครงสร้างของรา <i>Aspergillus</i> sp.	5
4	ภาพวาดลักษณะไฟอะไนด์ของรา <i>Aspergillus</i> sp.	6
5	ตัวอย่างสีโคโลนีราของ <i>Aspergillus</i> sp.	6
6	รา <i>Aspergillus</i> species ที่สร้างสารอะฟลาทอกซินบนอาหาร Aspergillus Differentiation Medium Base (ADMB)	41
7	Maximum likelihood phylogenetic tree ของ Section <i>Terrei</i> , <i>Flavipes</i> และ <i>Flavi</i> ที่ตำแหน่ง internal transcribed spacer (ITS) และตำแหน่ง Calmodulin (<i>CaM</i>)	44
8	Maximum likelihood phylogenetic tree ของ Section <i>Nidulant</i> ที่ตำแหน่ง internal transcribed spacer (ITS) และตำแหน่ง Calmodulin (<i>CaM</i>)	45
9	Maximum likelihood phylogenetic tree ของ Section <i>Nigri</i> Groups ที่ตำแหน่ง internal transcribed spacer (ITS) และตำแหน่ง Calmodulin (<i>CaM</i>)	46
10	<i>Aspergillus aculeatinus</i> ไอโซเลต AsKBI 06 ลักษณะโคโลนีอายุ 7 วัน ที่อุณหภูมิห้อง	48
11	<i>Aspergillus assiutensis</i> ไอโซเลต AsYLA 04 ลักษณะโคโลนีอายุ 7 วัน ที่อุณหภูมิห้อง	50
12	<i>Aspergillus flavipes</i> ไอโซเลต AsTRG 04 ลักษณะโคโลนีอายุ 7 วัน ที่อุณหภูมิห้อง	52
13	<i>Aspergillus floridensis</i> ไอโซเลต AsKBI 04 ลักษณะโคโลนีอายุ 7 วัน ที่อุณหภูมิห้อง	54
14	<i>Aspergillus niger</i> ไอโซเลต AsPNA 01 ลักษณะโคโลนีอายุ 7 วัน ที่อุณหภูมิห้อง	56
15	<i>Aspergillus neoniger</i> ไอโซเลต AsKBI 07 ลักษณะโคโลนีอายุ 7 วัน ที่อุณหภูมิห้อง	58
16	<i>Aspergillus terreus</i> ไอโซเลต AsSKL 07 ลักษณะโคโลนีอายุ 7 วัน ที่อุณหภูมิห้อง	60
17	<i>Aspergillus tubingensis</i> ไอโซเลต AsPLT 02 ลักษณะโคโลนีอายุ 7 วัน ที่อุณหภูมิห้อง	62
18	<i>Aspergillus trinidadensis</i> ไอโซเลต AsPLG 06 ลักษณะโคโลนีอายุ 7 วัน ที่อุณหภูมิห้อง	64
19	<i>Aspergillus vadensis</i> ไอโซเลต AsKBI 02 ลักษณะโคโลนีอายุ 7 วัน ที่อุณหภูมิห้อง	66
20	<i>Aspergillus ungui</i> ไอโซเลต AsNRT 04 ลักษณะโคโลนีอายุ 7 วัน ที่อุณหภูมิห้อง	68
21	รา <i>Aspergillus</i> species ไอโซเลตที่สร้างเอนไซม์ไคตินเนสบนอาหาร chitinase detection medium	70
22	ลักษณะด้านบนและล่างของวงไสรอบโคโลนีรา <i>Aspergillus</i> spp. ที่ละลายฟอสเฟตได้บนอาหาร Pikovskaya	72

บทที่ 1

บทนำ

บทนำต้นเรื่อง

รา *Aspergillus* species เป็นราในอาณาจักร Fungi ไฟลัม Ascomycota อันดับ Eurotiales วงศ์ Trichocomaceae พบครั้งแรกเมื่อ ค.ศ. 1729 โดย Pier Antonio Micheli (Devi *et al.*, 2014) ปัจจุบันพบว่ามีการระบุชนิดที่ถูกต้องของรา *Aspergillus* species ทั้งหมด 1,083 ชนิด (<http://www.indexfungorum.org/names/Names.asp>) และในประเทศไทยมีการศึกษาเพื่อระบุชนิดรา *Aspergillus* species ที่ถูกต้อง 26 ชนิด คือ *A. awamori*, *A. candidus*, *A. carbonarius*, *A. fischeri*, *A. flavus*, *A. hiratsukae*, *A. ibericus*, *A. keratitidis*, *A. lacinosus*, *A. niger*, *A. noonimiae*, *A. ochraceus*, *A. oryzae*, *A. ostianus*, *A. parasiticus*, *A. pualistensis*, *A. sclerotiorum*, *A. sclerotii-carbonarius*, *A. siamensis*, *A. spinosus*, *A. takakii*, *A. terreus*, *A. thailandensis*, *A. waynelawii*, *A. westerdijkiae* และ *A. whitfieldii* (Buaruang *et al.*, 2015; Kuntawee and Akarapisan, 2015; Tanney *et al.*, 2017) ในปัจจุบันพบว่ารา *Aspergillus* บางชนิดเป็นราปฏิปักษ์สามารถเข้าทำลายศัตรูพืชอย่างเฉพาะเจาะจง จึงมีการนำมาใช้ควบคุมแมลงและเชื้อสาเหตุโรคพืช เช่น *A. nomius* สามารถใช้ในการควบคุมมดตัดใบ (*Acronomyrmex versicolor*) มดตะนอย (*Dolichoderus thoracicus*) และสามารถเข้าทำลายปลวกใต้ดิน (*Coptotermes gestroi*) ได้ (Silva-Junior, 2017)

ในการควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี รา *Aspergillus* species บางสายพันธุ์สามารถใช้ควบคุมรา *Fusarium oxysporum* สาเหตุโรคเหี่ยว (Fusarium wilt) ของเมล่อน (Suarez *et al.*, 2007) หรือ *A. piparis* มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของรา *Pythium aphanidermatum* สาเหตุโรคน้ำคอดิน (damping-off) (Petrovic *et al.*, 2016) รา *A. flavus* สายพันธุ์ที่ไม่สร้างสารพิษใช้ควบคุมการเจริญของรา *A. flavus* ที่สร้างสารพิษได้ (Atehnkeng *et al.*, 2008) และพบว่ารา *A. niger* SN72 มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของรา *Rigidoporus microporus* สาเหตุโรครากขาวของยางพาราได้ (Bruce, 1991) เมื่อไม่นานมานี้ Ngo และคณะ (2021) พบว่ารา *A. candidus* SFC20200425-M11 และ *A. montenegroi* SFC20200425-M27 สร้างสารเมตาบอไลต์ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคใบไหม้มะเขือเทศและโรคราสนิมในข้าวสาลีได้ 95% ซึ่งอาจมีประโยชน์ในการพัฒนาเป็นสารฆ่าเชื้อราตามธรรมชาติได้ กลไกสำคัญในการเป็นปฏิปักษ์ต่อราสาเหตุโรคพืชของรา *Aspergillus* คือ กลไกการทำลายชีวิต (antibiosis) และการเป็นปรสิต (parasitism) โดยราชนิดนี้สร้างเอนไซม์ไคตินเนส (chitinase) เพื่อย่อยไคติน (chitin) ซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักของผนังเซลล์รา (Muzzarelli, 1997) ในการนำไปใช้

ประโยชน์ทางการเกษตรจึงนำเอารา *Aspergillus* species ที่สร้างเอนไซม์ชนิดนี้มาใช้ควบคุมโรคพืชที่เกิดจากรา ส่งผลให้มีการทำวิจัยมากขึ้น แต่ในประเทศไทยมีการวิจัยและทดลองเกี่ยวกับราปฏิปักษ์ *Aspergillus* น้อยและยังไม่แพร่หลาย และแม้ว่าในภาคใต้ของประเทศไทยเป็นเขตที่มีความหลากหลายของราสูง เนื่องจากมีสภาพอากาศร้อนชื้นเหมาะสมต่อการเจริญของรา *Aspergillus* แต่ยังไม่มีการเก็บรวบรวมและระบุชนิด *Aspergillus* อย่างจริงจัง

ดังนั้นงานวิจัยนี้ จึงทำการระบุชนิดของรา *Aspergillus* species ตลอดจนทดสอบการสร้างเอนไซม์ไคตินเนสเบื้องต้นของรา *Aspergillus* species ที่แยกได้จากดินในภาคใต้ของประเทศไทย เพื่อเป็นฐานข้อมูลในการนำไปคัดกรองและพัฒนาไปใช้เป็นราปฏิปักษ์ต่อไป

ตรวจเอกสาร

ประเทศไทยอยู่ในเขตภูมิอากาศแบบร้อนชื้น มีสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมและเอื้ออำนวยต่อการเจริญของรา *Aspergillus* species ทำให้ส่งผลกระทบต่อทั้งบวกและลบทางเศรษฐกิจและสังคมเป็นอย่างมาก เช่น ทำให้อาหารและผลผลิตทางการเกษตรหรือวัตถุดิบที่นำมาเป็นอาหารทั้งของคนและสัตว์เกิดการปนเปื้อน รา *Aspergillus* species บางสายพันธุ์ เช่น *A. flavus*, *A. nomiae* (syn. *A. nomius*), *A. parasiticus* และ *A. pseudotamarii* สามารถสร้างสารพิษอะฟลาทอกซิน (aflatoxin) ที่เป็นอันตรายต่อมนุษย์และสัตว์ ซึ่งก่อพิษรุนแรงและส่งผลให้เกิดโรคมะเร็งตับ โรคตับแข็ง โรคสมองอักเสบ (IARC, 1993) แต่ยังมีรา *Aspergillus* อีกหลายชนิดที่มีประโยชน์ต่อสิ่งมีชีวิตและมนุษย์ เช่น รา *A. oryzae* เป็นราที่สำคัญในทางอุตสาหกรรมอาหาร โดยราชนิดนี้ใช้หมักซีอิ้วจากถั่วเหลือง นอกจากนั้นยังใช้กับกระบวนการเปลี่ยนแป้งในข้าว ธัญพืช และมันฝรั่งให้เป็นน้ำตาล (saccharify) โดยทำหน้าที่เป็นแหล่งของเอนไซม์ที่สลายองค์ประกอบทางธรรมชาติของพืชให้กลายเป็นสารประกอบที่ง่ายต่อการนำไปหมักในการทำเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ เช่น ไวน์ข้าวของจีน (huangjiu) สาเก และมักก็้อลลี (สาโทพื้นเมืองชนิดหนึ่งของเกาหลี) นอกจากความสามารถในด้านอุตสาหกรรมแล้ว รา *Aspergillus* species ยังมีประโยชน์ในด้านการเกษตรอีกด้วย เช่น ใช้หมักปุ๋ยอินทรีย์ ใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืช และควบคุมราสาเหตุโรคพืช

สุธีรา และคณะ (2562) ทำการแยกราจากดินและคัดกรองราที่สามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลส พบว่าราไอโซเลต m ผลิตเอนไซม์เซลลูเลสได้ดีที่สุด และมีประสิทธิภาพในการย่อยเซลลูโลสเพื่อผลิตปุ๋ยหมักอินทรีย์จากกากมันสำปะหลังได้ เมื่อศึกษาลักษณะทางสัณฐานร่วมกับการจัดจำแนกทางด้านชีวโมเลกุล สามารถระบุชนิดเป็นรา *Aspergillus allahabadii*

รา *Aspergillus* species

Aspergillus เป็นสกุลของราที่พบได้ทั่วไปในธรรมชาติทั้งใน ดิน อากาศ น้ำ และซากพืช เป็นต้น *Aspergillus* พบครั้งแรกเมื่อ ค.ศ. 1729 โดย Pier Antonio Micheli ชาวอิตาลี ซึ่งสังเกตโครงสร้างของราได้กล้องจุลทรรศน์ พบว่ารูปร่างมีลักษณะคล้ายไม้พรมน้ามนต์ (aspergill) ของนักบวชโรมันคาทอลิกในพิธีพรมน้ามนต์ asperges (Devi et al., 2014) ซึ่งมีลักษณะน้ำออกมาเป็นสายเหมือนสปอร์ของรา *Aspergillus* (ภาพที่ 1)



ภาพที่ 1 ที่มาของชื่อรา *Aspergillus* ก) ไม้พรมน้ำมนต์ aspergillum ข) รา *Aspergillus* ได้กลี้องจุลทรรศน์ ที่มา: moe bedard,/(2562) //Catholic priests use the Aspergillum (from *Aspergillus*) to sprinkle holy water (antifungal) on the faithful <https://gnosticwarrior.com/aspergillum.html>

รา *Aspergillus* เป็นสกุลของราที่พบได้ทั่วไปในธรรมชาติ การจัดจำแนกรา *Aspergillus* species อาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยาและข้อมูลทางพันธุกรรม ซึ่งในปี ค.ศ. 2007 Webster และ Weber ได้จัดหมวดหมู่อนุกรมวิธานรา *Aspergillus* species ดังนี้

โดเมน: Eukarya

อาณาจักร: Fungi

ไฟลัม: Ascomycota

ชั้น: Ascomycetes

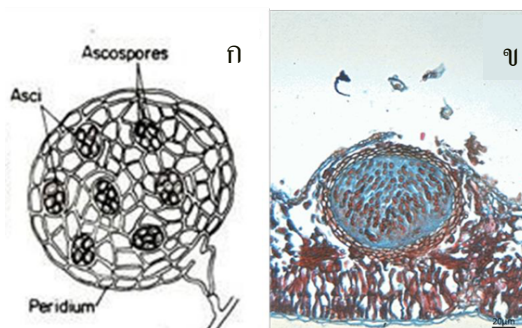
อันดับ: Eurotiales

วงศ์: *Trichocomaceae*

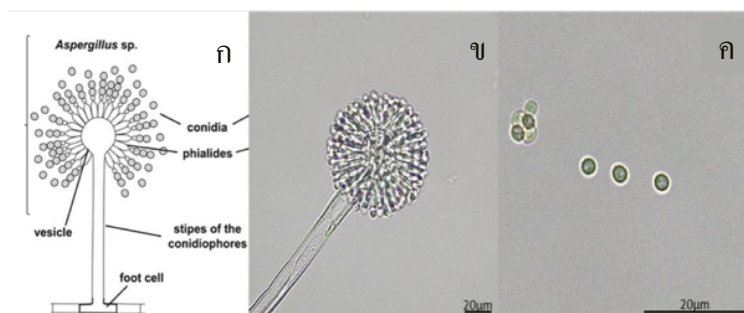
สกุล: *Aspergillus*

ลักษณะของรา *Aspergillus* species

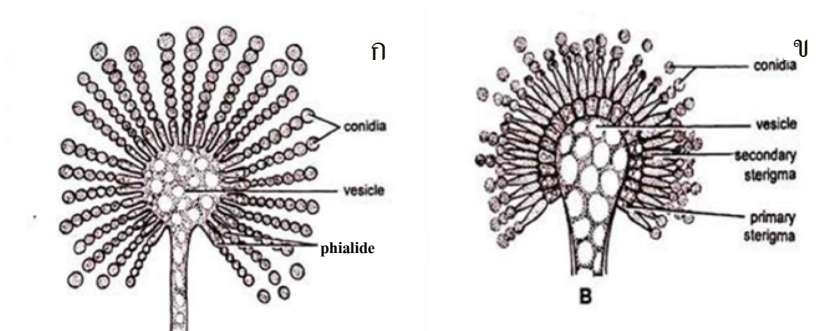
Aspergillus species เป็นราในไฟลัม Ascomycota พบได้ 2 รูปแบบ ทั้งแบบอาศัยเพศ (teleomorph) สร้างสปอร์ เรียกว่า แอสโคสปอร์ (ascospore) 6-8 แอสโคสปอร์ ในถุงแอสคัส (ascus) ซึ่งอยู่ในฟรุติจิงบอดี fruiting body หรือแอสโคคาร์ป (ascocarp) เรียกว่าแอสโคมาตา (ascomata) (ภาพที่ 2) และแบบไม่อาศัยเพศ (anamorph) สร้างสปอร์เรียกว่า โคนิเดีย (conidia) บนก้านชูสปอร์ (conidiospore) (ภาพที่ 3) เส้นใยมีผนังกัน แต่ละส่วนที่กันมีหลายนิวเคลียส ก้านชูสปอร์อาจมีผนังกันหรือไม่มีก็ได้ ส่วนปลายของก้านชูสปอร์มีลักษณะโป่งออกเป็นทรงกลมเรียกว่า เวซิกิล (vesicle) และมีไฟอะไลด์ (phialide) (ชื่อเดิมคือสเตอริกมา; sterigma) ขึ้นออกมา ไฟอะไลด์มีทั้งแบบชั้นเดียว (uniseriate) และสองชั้น (biseriate) (ภาพที่ 4) โคนิเดีย (conidia) ถูกสร้างภายในไฟอะไลด์ โดยโคนิเดียที่ถูกสร้างขึ้นหลังคั้น โคนิเดียที่สร้างก่อนออกมา และติดกันเป็นสายของโคนิเดีย ลักษณะโคโลนีเมื่อเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อคล้ายกำมะหยี่ หรือปุยคล้ายสำลี หลากหลายสี เช่น สีเขียว เขียวเหลือง น้ำตาล ดำ ขาว เหลือง แตกต่างกันตามชนิด เช่น *A. niger* มีโคโลนีสีดำ *A. flavus* มีโคโลนีสีเขียวอมเหลือง *A. clavatus* โคนิสีฟ้าอมเขียวและ *A. nomiae* มีโคโลนีสีเขียวอ่อน เป็นต้น (ภาพที่ 5)



ภาพที่ 2 ลักษณะโครงสร้างของรา *Aspergillus* sp. แบบอาศัยเพศ (teleomorph ก) ภาพวาดโครงสร้าง Ascumata ข) โครงสร้าง Ascumata ได้กล่อ่งจุลทรรศน์ (Adl et al., 2005)

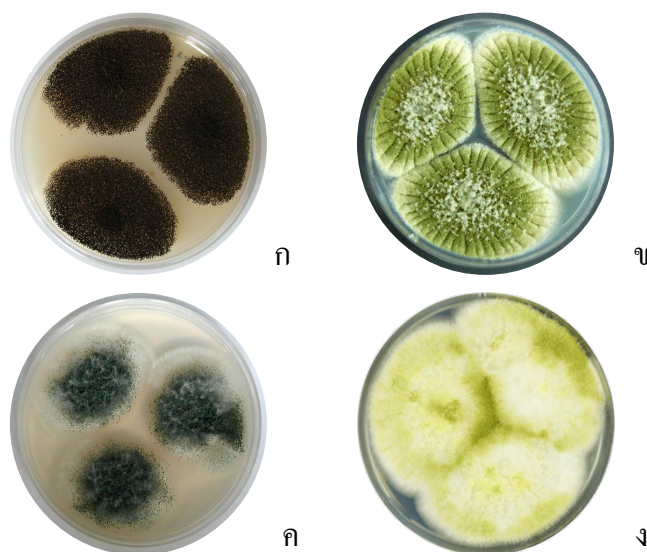


ภาพที่ 3 ลักษณะโครงสร้างของรา *Aspergillus* sp. แบบไม่อาศัยเพศ (anamorph ก) ภาพวาดโครงสร้างของรา *Aspergillus* sp. ข) ภาพได้กล่อ่งจุลทรรศน์ ค) โคนิเดีย (conidia) (Piepenbring, 2015)



ภาพที่ 4 ภาพวาดลักษณะไฟอะไค์ของรา *Aspergillus* sp. ก) มีไฟอะไค์ชั้นเดียว (uniseriate) ข) โครงสร้างของรา *Aspergillus* sp. มีไฟอะไค์ 2 ชั้น (biseriate)

ที่มา: <http://www.biologydiscussion.com/fungi/aspergillus-habitat-reproduction-and-importance-ascomycotina/24000>



ภาพที่ 5 ตัวอย่างสีโคโลนีของรา *Aspergillus* sp. ก) *A. niger* มีโคโลนีสีดำ ข) *A. flavus* มีโคโลนีสีเขียวอมเหลือง ค) *A. clavatus* โคโลนีสีฟ้าอมเขียว ง) *A. nomiae* มีโคโลนีสีเขียวอ่อน

ที่มา: <https://fungi.myspecies.info/file>

การระบุชนิดของรา *Aspergillus species*

ในอดีตการระบุชนิดของ *Aspergillus* ใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาเพียงอย่างเดียว ตามโปรโตคอลของ Raper และ Fennell (1965), Klich (2002) และ Pitt และ Hocking (2009) โดยแบ่งรา *Aspergillus* เป็นกลุ่ม (section) ทั้งหมด 18 section ตามสีโคนิเดียมเฮด (conidial heads) และลักษณะของ เวชิลและไฟอะไลด์ จากผลการสำรวจชนิดของรา *Aspergillus species* ด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยา โดย Samson และคณะ (2014) ได้บันทึกชนิดของรา *Aspergillus species* 339 ชนิด ต่อมาได้มีการศึกษา วิวัฒนาการซึ่งเป็นสิ่งสำคัญในการแสดงให้เห็นถึงความสัมพันธ์ระหว่างสายพันธุ์ของรา *Aspergillus* โดยวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ควบคู่กับการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา ซึ่งได้รับการยอมรับเป็น อย่างมาก (Berbee *et al.*, 1995; Houbraeken *et al.*, 2020; Ogawa *et al.*, 2010; Peterson *et al.*, 2008)

รา *Aspergillus* สามารถระบุชนิดได้จากลักษณะรูปร่างของโคนิเดียม โคนิดิโอฟอร์ ลักษณะเส้นใยภายใต้กล้องจุลทรรศน์ รูปร่างของโคโลนี และการเจริญบนอาหารและซับสเตรต (substrate) ต่าง ๆ เช่น การใช้แหล่งคาร์บอน ซึ่งการทดสอบการใช้สารอาหารและการสังเกตลักษณะ รูปร่างของรา *Aspergillus spp.* ก่อนข้างยุ่งยากและมีความผิดพลาดสูง จึงต้องใช้การระบุชนิดทาง โมเลกุลเข้ามาช่วย โดยปัจจุบันวิธีที่นิยมใช้คือการศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมจากลำดับ นิวคลีโอไทด์บนสาย DNA ที่ตำแหน่งยีน beta-tubulin (*BenA*) (Glass and Donaldson, 1995), internal transcribed spacer (ITS) (White *et al.*, 1990) และยีน calmodulin (*CaM*) (Peterson *et al.*, 2008)

ในประเทศไทยได้มีการศึกษาเพื่อระบุชนิดรา *Aspergillus species* ในปี 2549 โดย ชลนิชา ทองขลิบ ได้แยกรา *Aspergillus* จากดิน 42 ตัวอย่าง บนอาหาร potato dextrose agar ด้วยวิธี spread plate ได้ราทั้งหมด 154 ไอโซเลต นำไปจัดจำแนกกลุ่มและระบุชนิดตามวิธีของ Raper and Fennell (1965) ได้ 4 ชนิด ได้แก่ *A. niger* จำนวน 97 ไอโซเลต *A. favus* จำนวน 39 ไอโซเลต *A. fumigatus* จำนวน 13 ไอโซเลต และ *A. terreus* จำนวน 5 ไอโซเลต

ปิยวรรณ กลมเกลี้ยง และคณะ (2557) ระบุชนิดของรา *Aspergillus* ที่มีประสิทธิภาพ ในการบำบัดสี reactive red 141 (RR141) ด้วยลักษณะสัณฐานวิทยา และการวิเคราะห์ลำดับ นิวคลีโอไทด์บนสาย DNA บริเวณ ITS1 พบราที่แยกได้ คือ *A. awamori*

Meijer และคณะ (2011) ได้เปรียบเทียบการเจริญบนอาหาร malt extract agar (MEA) ที่ เติม D-galactose และ locust bean gum และความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมจากลำดับนิวคลีโอไทด์บนสาย DNA ที่บริเวณ ITS และ ยีน beta-tubulin ของรา *Aspergillus* สีดำ ใน Section *Nigri* พบว่า *A. brasiliensis* เพียงชนิดเดียวที่สามารถเจริญได้บนอาหาร MEA ที่เติม D-galactose และ *A. aculeatus* เจริญได้ดีกว่าสาย พันธุ์อื่น ๆ ในอาหาร MEA ที่เติม locust bean gum และจากการศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม เปรียบเทียบกับสายพันธุ์ต้นแบบ (ex-type) แสดงให้เห็นว่าจาก 34 ไอโซเลต มี 14 ไอโซเลต ระบุชนิด

เป็น *A. niger* ไอโซเลตอื่นคือ *A. tubingensis* (13 ไอโซเลต) *A. brasiliensis* (3 ไอโซเลต) และ *A. acidus* (3 ไอโซเลต) *A. costaricaensis* (1 ไอโซเลต)

Silva และคณะ (2011) ได้จำแนกราก *Aspergillus* ใน section *Nigri* ด้วยวิธี polyphasic taxonomy โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและสรีรวิทยา รวมถึงการหาลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน beta-tubulin และ calmodulin พบว่าการใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาสามารถจำแนกชนิดราก *Aspergillus* บางไอโซเลตได้คือราก *A. carbonarius* ซึ่งลักษณะโคโลนีมีสีน้ำตาลดำถึงสีดำ มีฟองไคต์ชั้นเดียวหรือสองชั้น สร้าง sclerotia สีเหลืองส้ม และการเลี้ยงเชื้อบนอาหาร creatine sucrose agar (CREA) สามารถระบุได้โดยมีลักษณะเฉพาะคือ *A. carbonarius* และ *A. niger* ไม่สร้างสปอร์บนอาหารแต่สร้าง sclerotia และสร้างสารพิษ Ochratoxin A นอกจากนี้ยังพบว่าลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน beta-tubulin สามารถแยกความแตกต่างของราก *Aspergillus* ใน section *Nigri* ได้ดี

Ashtiani และคณะ (2017) ได้ระบุชนิดราก *Aspergillus* ใน section *Fumigati*, *Flavi* และ *Nisri* ซึ่งเป็นรากที่มีความสำคัญทางการแพทย์ เกษตร และอุตสาหกรรมต่าง ๆ ด้วยวิธีทางชีวโมเลกุล โดยการเพิ่มปริมาณ DNA ของยีนที่ตำแหน่ง beta-tubulin, calmodulin และ RNA polymerase II (*RPB2*) จากนั้นนำไปวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์โดยใช้ซอฟต์แวร์ MEGA6 เปรียบเทียบกับฐานข้อมูลของ National Center for Biotechnology Information (NCBI) สามารถระบุชนิดของราก *Aspergillus* ทั้ง 3 section ได้ดังนี้ section *Nigri* 56 ชนิด section *Fumigati* 32 ชนิด section *Flavi* 32 ชนิด ส่วนที่เหลือไม่สามารถแยก section ได้ (14 ชนิด) นอกจากนี้ยังพบว่ายีน beta-tubulin และ calmodulin เหมาะสมที่สุดสำหรับการแยกความแตกต่างระหว่างราก *Aspergillus* 3 section นี้ โดยยีน beta-tubulin ใช้สำหรับระบุชนิดของรากใน section *Fumigati* และยีน calmodulin ใช้สำหรับระบุชนิดของรากใน section *Flavi* and *Nigri*

ในปี ค.ศ. 2020 Houbraken และคณะ (2020) ได้เก็บรวบรวมและจำแนกราก *Aspergillus* จากทั่วโลก โดยนำมาระบุชนิดด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยาและชีวโมเลกุล เพื่อเป็นฐานข้อมูลในการศึกษาต่อไป โดยราก *Aspergillus* ที่ศึกษาทั้งหมด 27 section (ตารางที่ 1) มีมากถึง 446 ชนิด (ตารางที่ 2)

Sklenár และคณะ (2021) วิเคราะห์สายพันธุ์ราก *Aspergillus* Section *Flavipedes* ใหม่ โดยใช้ลำดับนิวคลีโอไทด์บนสาย DNA ที่ตำแหน่งยีน beta-tubulin (*benA*), calmodulin (*CaM*) และ RNA polymerase II (*RPB2*) ประกอบด้วยสองขั้นตอน คือการประยุกต์ใช้ single-locus และ multi-locus เพื่อแยกเชื้อออกเป็นสปีชีส์และตรวจสอบความถูกต้องด้วยซอฟต์แวร์ DELINEATE ซึ่งใช้ครั้งแรกในอนุกรมวิธานของเชื้อราก พบรากสายพันธุ์ใหม่สี่ชนิด ได้แก่ *A. alboluteus*, *A. alboviridis*, *A. inusitatus* และ *A. lamuginosus* และจากการวิเคราะห์ฟีโนไทป์ของสปีชีส์ใหม่และสายพันธุ์ที่ใกล้ชิด พบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญและลักษณะของโคโลนีมีความแตกต่างกันซึ่งมีประโยชน์สำหรับการจัดอนุกรมวิธาน

ปัจจุบัน (พ.ศ. 2565) ใน Index Fungorum มีรายงานรา *Aspergillus* ทั้งหมด 1,083 ชนิด (www.indexfungorum.org/names/Names.asp) และในปี ค.ศ. 2022 Wang และ Zhuang ค้นพบรา *Aspergillus* ชนิดใหม่ 4 ชนิด ได้แก่ *A. xishaensis*, *A. neoterreus*, *A. hainanicus* และ *A. qilianyuensis* ซึ่งแยกได้จาก ตัวอย่างดินที่เก็บบนเกาะเขตร้อนของจีน

ตารางที่ 1 Section และลักษณะของรา *Aspergillus* species ในปัจจุบัน

Section	Conidial head	vesicle	Phialide
<i>Aspergillus</i>	yellow or orange	Pyriform	uniseriate
<i>Restricti</i>	pale yellow	globose to sub globose	uniseriate
<i>Candidi</i>	white or yellow	globose	biseriate
<i>Circumdati</i>	light yellow ochre	globose	biseriate
<i>Flavi</i>	yellow-green	pyriform	biseriate
<i>Flavipedes</i>	yellow- brown	spathulate	biseriate
<i>Janorum</i>	green and white	pyriform to clavate	biseriate
<i>Nigri</i>	black or blackish brown	globose	uniseriate or biseriata
<i>Petersoniorum</i>	green	pyriform	biseriate
<i>Robusti</i>	yellow	globose	biseriate
<i>Tannerorum</i>	white	pyriform	biseriate
<i>Terrei</i>	cream-white	pyriform	biseriate
<i>Cremeri</i>	shades of green	globose	biseriate
<i>Cervini</i>	grey	-	biseriate
<i>Clavati</i>	blue-green	clavate	uniseriate
<i>Fumigati</i>	blue-green	pyriform	uniseriate
<i>Vargarum</i>	yellowish white	-	-
<i>Aenei</i>	green or olive-brown	pyriform	biseriate
<i>Bispori</i>	olive to dark brown	-	uniseriate
<i>Cavernicolarum</i>	green or brown	pyriform	biseriate
<i>Nidulantes</i>	pale brown	pyriform	biseriate
<i>Ochraceorosei</i>	yellow-green	-	uniseriate
<i>Raperorum</i>	yellow or green	-	uniseriate or biseriata
<i>Silvatici</i>	green	pyriform	biseriate
<i>Sparsi</i>	dark green	globose	biseriate
<i>Usti</i>	greyish yellow, brownish grey	pyriform	biseriate
<i>Polypaecilum</i>	yellowish white	-	-

- = ไม่มีข้อมูล ที่มา: Houbraken *et al.* (2020)

ตารางที่ 2 รายชื่อของรา *Aspergillus* species

species	section	Ex-type culture
<i>A. acanthosporus</i>	<i>Clavati</i>	CBS 558.71 = NRRL 5293 = ATCC 22931
<i>A. acidohumus</i>	<i>Cervini</i>	CBS 141577 = CGMCC 3.18217
<i>A. acrensis</i>	<i>Fumigati</i>	IFM 57291 = CCF 4670.
<i>A. aculeatinus</i>	<i>Nigri</i>	BS 121060 = DTO 202-G5 = IBT 29077.
<i>A. aculeatus</i>	<i>Nigri</i>	CBS 172.66 = NRRL 5094 = NRRL 20623
<i>A. aeneus</i>	<i>Aenei</i>	CBS 128.54 = NRRL 4769 = ATCC 16803
<i>A. aerius</i>	<i>Aspergillus</i>	CBS 141771 = DTO 241-G7
<i>A. affinis</i>	<i>Circumdati</i>	CBS 129190 = DTO 223-C6 = BT 32310
<i>A. aflatoxiformans</i>	<i>Flavi</i>	CBS 143679 = DTO 228-G2 = IBT 32085.
<i>A. alabamensis</i>	<i>Terrei</i>	CBS 125693 = UAB20 = DTO 045-C5.
<i>A. allahabadii</i>	<i>Terrei</i>	CBS 164.63 = NRRL 4539 = ATCC 15055
<i>A. alliaceus</i>	<i>Flavi</i>	CBS 536.65 = DTO 034-B3 = DTO 046
<i>A. amazonicus</i>	<i>Sparsi</i>	CBS 124228 = DTO 092- D6 = DTO 411-B6.
<i>A. ambiguus</i>	<i>Terrei</i>	CBS 117.58 = NRRL 4737 = ATCC 16827
<i>A. amethystinus</i>	<i>Nidulantes</i>	NRRL 4178 = CCF 5261
<i>A. amoenus</i>	<i>Nidulantes</i>	NRRL 4838 = CBS 111.32
<i>A. angustatus</i>	<i>Nidulantes</i>	CBS 273.65 = DTO 319-H8
<i>A. anthodesmis</i>	<i>Sparsi</i>	CBS 552.77 = NRRL 22884 = IMI 223070
<i>A. appendiculatus</i>	<i>Aspergillus</i>	CBS 374.75 = DTO 196-H3 = ETH8286
<i>A. arachidicola</i>	<i>Flavi</i>	DTO 009-G3 = CBS 117610 = IBT 117610
<i>A. arcoverdensis</i>	<i>Fumigati</i>	IFM 61334 = JCM 19878 = CCF 4695
<i>A. ardalensis</i>	<i>Flavipedes</i>	CCF 4031 = CCF 4426 = CMF ISB 1688
<i>A. arenarioides</i>	<i>Petersoniorum</i>	CBS 138200 = DTO 268-E3
<i>A. argenteus</i>	<i>unknown</i>	-
<i>A. arxii</i>	<i>Cremeri</i>	CBS 525.83 = ATCC 52744 = FMR 416
<i>A. asclerogenus</i>	<i>Petersoniorum</i>	CCF 4947 = NRRL 58502
<i>A. askiburgiensis</i>	<i>Nidulantes</i>	CCF 4716 = CCF 4428 = CBS 134374
<i>A. aspearensis</i>	<i>Flavi</i>	CBS 143672 = DTO 203- D9 = CCTU 758
<i>A. asper</i>	<i>Usti</i>	CBS 140842 = NRRL 35910 = CCF 5174
<i>A. asperescens</i>	<i>Nidulantes</i>	CBS 110.51 = NRRL 2252 = NRRL 4770
<i>A. assiutensis</i>	<i>Nigri</i>	CBS 132773 = AUMC 5748
<i>A. astellatus</i>	<i>Nidulantes</i>	CBS 134.55 = CBS 261.93 = NRRL 2396

ตารางที่ 2 ต่อ

species	section	Ex-type culture
<i>A. aurantiacoflavus</i>	<i>Aspergillus</i>	CBS 141930 = EMSL No. 2903 = CCF 5393
<i>A. aurantiobrunneus</i>	<i>Nidulantes</i>	CBS 465.65 = NRRL 4545 = NRRL 2775
<i>A. aurantiopurpureus</i>	<i>Nidulantes</i>	CBS 140608 = IBT 12601 = DTO 060-A7
<i>A. auratus</i>	<i>Fumigati</i>	CBS 466.65 = NRRL 4378 = ATCC 16894
<i>A. aureolatus</i>	<i>Nidulantes</i>	CBS 190.65 = NRRL 5126 = ATCC 16810
<i>A. aureolus</i>	<i>Fumigati</i>	BS 105.55 = NRRL 2244 = ATCC 16896
<i>A. aureoterreus</i>	<i>Terrei</i>	CBS 503.65 = NRRL 1923 = ATCC 16793
<i>A. auricomus</i>	<i>Circumdati</i>	CBS 467.65 = NRRL 391 = IBT 14581
<i>A. australiensis</i>	<i>Fumigati</i>	CBS 112.55 = NRRL 2392 = IMI 061450
<i>A. austroafricanus</i>	<i>Nidulantes</i>	CBS 145748 = NRRL 233 = DTO 225-D8
<i>A. austwickii</i>	<i>Flavi</i>	CBS 143677 = DTO 228-F7 = IBT 32590
<i>A. avenaceus</i>	<i>Flavi</i>	CBS 109.46 = NRRL 517 = ATCC 16861
<i>A. baarnensis</i>	<i>Polypaecilum</i>	CBS 232.32 = VKM F-204
<i>A. baeticus</i>	<i>Usti</i>	NRRL 62501 = CCF 4226 = CMFISB 2153
<i>A. beijingensis</i>	<i>unknown</i>	CBM FD-285
<i>A. bertholletiae</i>	<i>Flavi</i>	DTO 223-D3 = ITAL 270/06 = IBT 29228
<i>A. bezerrae</i>	<i>Fumigati</i>	CCDCA 11511 = 9EM2
<i>A. bicephalus</i>	<i>Terrei</i>	CBS 142900 = FMR 14918
<i>A. bicolor</i>	<i>Aenei</i>	CBS 425.77 = NRRL 6364 = ATCC 36104
<i>A. biplanus</i>	<i>Sparsi</i>	CBS 468.65 = NRRL 5071 = ATCC 16858 = IMI 235602
<i>A. bisporus</i>	<i>Bispori</i>	CBS 707.71 = NRRL 3693
<i>A. botswanensis</i>	<i>Nidulantes</i>	CBS 314.89 = DTO 04714
<i>A. brasiliensis</i>	<i>Nigri</i>	CBS 101740 = IMI 381727 = IBT 101740
<i>A. brevijanus</i>	<i>Janorum</i>	CBS 111.46 = NRRL 1935 = ATCC 16828
<i>A. brevipes</i>	<i>Fumigati</i>	CBS 118.53 = NRRL 2439 = NRRL 4078
<i>A. brevistipitatus</i>	<i>Fumigati</i>	CBS 135454 = CCF 4149 = CMF ISB 2152
<i>A. bridgeri</i>	<i>Circumdati</i>	CBS 350.81 = NRRL 13000 = IBT 13380
<i>A. brunneouniseriatus</i>	<i>Cremeri</i>	CBS 127.61 = NRRL 4273 = ATCC 16916
<i>A. brunneoviolaceus</i>	<i>Nigri</i>	CBS 621.78 = NRRL 4912 = IMI 312981
<i>A. brunneus</i>	<i>Aspergillus</i>	CBS 112.26 = CBS 524.65 = NRRL 131
<i>A. caatingaensis</i>	<i>Fumigati</i>	IFM 61335 = CBS 137446 = DTO 278-B3

ตารางที่ 2 ต่อ

species	section	Ex-type culture
<i>A. caesiellus</i>	<i>Restricti</i>	CBS 470.65 = NRRL 5061 = ATCC 11905
<i>A. caespitosus</i>	<i>Nidulantes</i>	CBS 103.45 = NRRL 1929 = ATCC 11256
<i>A. californicus</i>	<i>Cavernicolarum</i>	CBS 123895 = IBT 16748 = DTO 061-D4
<i>A. campestris</i>	<i>Candidi</i>	CBS 348.81 = NRRL 13001 = ATCC 44563 = IMI 259099
<i>A. canadensis</i>	<i>Restricti</i>	CCF 5548 = KAS 6194 = DTO 356-H9
<i>A. candidus</i>	<i>Candidi</i>	CBS 566.65 = NRRL 303 = ATCC 1002
<i>A. caninus</i>	<i>Polypaecilum</i>	CBS 128032 = UAMH 10337 = DTO 139-A6
<i>A. capensis</i>	<i>Flavipedes</i>	CBS 138188 = DTO 179-E6
<i>A. caperatus</i>	<i>Aspergillus</i>	CBS 141774 = DTO 337-E6 = IBT 34451
<i>A. carbonarius</i>	<i>Nigri</i>	CBS 111.26 = NRRL 369 = ATCC 1025
<i>A. carlsbadensis</i>	<i>Usti</i>	CBS 123894 = IBT 14493 = DTO 061-C7
<i>A. carneus</i>	<i>Terrei</i>	CBS 494.65 = NRRL 527 = ATCC 16798
<i>A. cavernicola</i>	<i>Cavernicolarum</i>	CBS 117.76 = NRRL 6327
<i>A. cejpii</i>	<i>Vargarum</i>	CBS 157.66
<i>A. cerealis</i>	<i>Flavi</i>	CBS 143674 = DTO 228-E7 = IBT 32067
<i>A. cervinus</i>	<i>Cervini</i>	CBS 537.65 = NRRL 5025 = ATCC 16915
<i>A. chaetosartoryae</i>	<i>Cremeri</i>	CBS 265.73 = ATCC 24480 = IMI 171880
<i>A. chevalieri</i>	<i>Aspergillus</i>	CBS 522.65 = NRRL 78 = ATCC 16443
<i>A. chlamydosporus</i>	<i>Polypaecilum</i>	CBS 109945 = IMI 387422 = FMR 7371
<i>A. christenseniae</i>	<i>Cervini</i>	CBS 122.56 = DTO 022-C8 = IBT 22043
<i>A. chrysellus</i>	<i>Cremeri</i>	CBS 472.65 = NRRL 5084 = ATCC 16852
<i>A. cibarius</i>	<i>Aspergillus</i>	DTO 197-D3 = KACC 46346
<i>A. citocrescens</i>	<i>Cremeri</i>	CCF 4001 = CBS 140566 = DTO 376-B3
<i>A. citrinoterreus</i>	<i>Terrei</i>	CBS 138921 = GM 228 = DTO 331-H6
<i>A. clavatonanicus</i>	<i>Clavati</i>	CBS 474.65 = NRRL 4741 = ATCC 12413
<i>A. clavatorphorus</i>	<i>Restricti</i>	NRRL 25874 = CCF 5454 = IBT 34560
<i>A. clavatus</i>	<i>Clavati</i>	CBS 513.65 = NRRL 1 = ATCC 1007 = ATCC 9598
<i>A. collemboforum</i>	<i>unknown</i>	n.a.
<i>A. collinsii</i>	<i>Usti</i>	CBS 140843 = NRRL 66196 = CCF 5175
<i>A. coloradensis</i>	<i>Aenei</i>	CCF 6118 = EMSL No. 2726
<i>A. conicus</i>	<i>Restricti</i>	CBS 475.65 = NRRL 149 = ATCC 16908

ตารางที่ 2 ต่อ

species	section	Ex-type culture
<i>A. contaminans</i>	<i>Usti</i>	CCF 4682 = CBS 142451 = NRRL 66666
<i>A. conversis</i>	<i>Fumigati</i>	CBS 135457 = NRRL 62496 = CCF 4190
<i>A. coremiiiformis</i>	<i>Flavi</i>	CBS 553.77 = NRRL 13603 = ATCC 38576
<i>A. corrugatus</i>	<i>Nidulantes</i>	CBS 191.77 = NHL 2763 = DTO 047-19
<i>A. costiformis</i>	<i>Aspergillus</i>	CBS 101749 = AS 3.4664
<i>A. crassihyphae</i>	<i>Nigri</i>	unknown
<i>A. creber</i>	<i>Nidulantes</i>	CBS 145749 = NRRL 58592 = DTO 225-G7
<i>A. cremeus</i>	<i>Cremeri</i>	CBS 477.65 = NRRL 5081 = ATCC 16857
<i>A. cretensis</i>	<i>Circumdati</i>	CBS 112802 = NRRL 35672 = IBT 17505
<i>A. cristatus</i>	<i>Aspergillus</i>	CBS 123.53 = NRRL 4222 = ATCC 16468
<i>A. croceiaffinis</i>	<i>Nidulantes</i>	CCF 6035 = EMSL No. 2282 = NRRL 66887
<i>A. croceus</i>	<i>Nidulantes</i>	CCF 4405 = CBS 134396 = NRRL 62495 = IBT 33602
<i>A. crustosus</i>	<i>Aenei</i>	CBS 478.65 = NRRL 4988 = ATCC 16806
<i>A. cumulatus</i>	<i>Aspergillus</i>	KACC 47316
<i>A. curviformis</i>	<i>Fumigati</i>	unknown.
<i>A. cvjetkovicii</i>	<i>Nidulantes</i>	NRRL 227 = CBS 599.65
<i>A. deflectus</i>	<i>Usti</i>	CBS 109.55 = NRRL 2206 = ATCC 16807
<i>A. delicatus</i>	<i>Fumigati</i>	CBS 101754 = AS 3.4697
<i>A. denticulatus</i>	<i>Fumigati</i>	CBS 652.73 = KACC 41183 = DTO 050-D8
<i>A. desertorum</i>	<i>Nidulantes</i>	CBS 653.73 = NRRL 5921 = IMI 343076
<i>A. destruens</i>	<i>Restricti</i>	NRRL 145 = IMI 358691 = CCF 5462 = CBS 593.91
<i>A. dimorphicus</i>	<i>Cremeri</i>	CBS 649.74 = NRRL 3650 = IMI 131553
<i>A. dipodomyus</i>	<i>Nidulantes</i>	CCF 5265 = NRRL 66273
<i>A. discophorus</i>	<i>Aenei</i>	CBS 469.88 = IBT 21910 = IMI 328717
<i>A. diversus</i>	<i>Sparsi</i>	CBS 480.65 = NRRL 5074 = ATCC 16849
<i>A. dobrogensis</i>	<i>Candidi</i>	CCF 4651 = CCF 4655 = NRRL 62821 = IBT 32697
<i>A. domesticus</i>	<i>Restricti</i>	DTO 079-F2 = CCF 5464 = NRRL 66616 = IBT 34814
<i>A. dromiae</i>	<i>Nidulantes</i>	CBS 140633 = IBT 25166 = DTO 059-H5
<i>A. duricaulis</i>	<i>Fumigati</i>	CBS 481.65 = NRRL 4021 = ATCC 16900 = IMI 172282
<i>A. eburneocremerus</i>	<i>Aenei</i>	CBS 130.54 = NRRL 4773 = ATCC 16802 = IMI 69856
<i>A. egyptiacus</i>	<i>Cavernicolarum</i>	CBS 656.73 = NRRL 5920 = ATCC 32114

ตารางที่ 2 ต่อ

species	section	Ex-type culture
<i>A. ellipsoideus</i>	<i>Nigri</i>	unknown
<i>A. ellipticus</i>	<i>Nigri</i>	CBS 482.65 = CBS 707.79 = DTO 035-B7
<i>A. elsenburgensis</i>	<i>Fumigati</i>	PPRI 2994 = CMV 011G4
<i>A. endophyticus</i>	<i>Aspergillus</i>	CBS 141766 = DTO 354-I2 = CCF 5345 = IBT 34511
<i>A. eucalypticola</i>	<i>Nigri</i>	CBS 122712 = IBT 29274
<i>A. europaeus</i>	<i>Cremeri</i>	CCF 4409 = CBS 134393 = IBT 32228
<i>A. falconensis</i>	<i>Nidulantes</i>	CBS 271.91 = IFM 4997 = NHL 2999
<i>A. felis</i>	<i>Fumigati</i>	CBS 130245 = DTO 131-F4 = CCF 5620
<i>A. fennelliae</i>	<i>Fumigati</i>	AF4 = CBS 599.74 = NRRL 5535 = ATCC 24326
<i>A. filifer</i>	<i>Nidulantes</i>	CBS 113636 = IBT 23443 = DTO 011-A5
<i>A. fischeri</i>	<i>Fumigati</i>	CBS 544.65 = NRRL 181 = ATCC 1020
<i>A. flaschentraegeri</i>	<i>Cremeri</i>	CBS 108.63 = NRRL 5042 = ATCC 15535 = IMI 101651
<i>A. flavipes</i>	<i>Flavipedes</i>	NRRL 302 = ATCC 24487 = IMI 171885 = QM 9566
<i>A. flavus</i>	<i>Flavi</i>	CBS 569.65 = NRRL 1957 = ATCC 16883 = IMI 124930
<i>A. floccosus</i>	<i>Terrei</i>	CBS 116.37 = CBS H-24278 = IBT 10846 = IBT 22556
<i>A. floridensis</i>	<i>Nigri</i>	DTO 198-A8 = NRRL 62478 = ITEM 14783
<i>A. foeniculicola</i>	<i>Aenei</i>	CBS 156.80 = ATCC 42155 = IMI 334933
<i>A. foveolatus</i>	<i>Nidulantes</i>	CBS 279.81 = IFM 4547 = NHL 2839 = NBRC 30559
<i>A. frankstonensis</i>	<i>Fumigati</i>	CBS 142233 = DTO 341-E7
<i>A. fresenii</i>	<i>Circumdati</i>	CBS 550.65 = NRRL 4077 = ATCC 16893
<i>A. fructus</i>	<i>Nidulantes</i>	NRRL 239 = CBS 584.65
<i>A. fruticosus</i>	<i>Nidulantes</i>	CBS 486.65 = NRRL 4903 = ATCC 16823
<i>A. fumigatiaffinis</i>	<i>Fumigati</i>	CBS 117186 = KACC 41148 = IBT 12703
<i>A. fumigatus</i>	<i>Fumigati</i>	CBS 133.61 = NRRL 163 = ATCC 1022
<i>A. fumisynnematus</i>	<i>Fumigati</i>	DTO 354- A5 = CBS 141446 = IFM 42277
<i>A. funiculosus</i>	<i>Ochraceorosei</i>	NRRL 4744 = NRRL 2550 = NRRL A-6752
<i>A. fuscicans</i>	<i>Usti</i>	BAFCcult 4564!
<i>A. galapagensis</i>	<i>Fumigati</i>	CBS 117522 = IBT 16756 = KACC 41935 = DTO 003-H5
<i>A. germanicus</i>	<i>Usti</i>	CBS 123887 = DTO 027-D9
<i>A. giganteus</i>	<i>Clavati</i>	CBS 526.65 = NRRL 10=ATCC10059
<i>A. glabripes</i>	<i>Restricti</i>	CCF 5474 = DTO 356- E8 = EMSL No. 2462

ตารางที่ 2 ต่อ

species	section	Ex-type culture
<i>A. gracilis</i>	<i>Restricti</i>	CBS 539.65 = NRRL 4962 = ATCC 16906 = IMI 211393
<i>A. granulosis</i>	<i>Usti</i>	NRRL 1932 = ATCC 16837 = IMI 17278 = QM 6846
<i>A. griseoaurantiacus</i>	<i>Nidulantes</i>	CBS 138191 = DTO 267-D8
<i>A. haitiensis</i>	<i>Sparsi</i>	CBS 464.91
<i>A. halophilicus</i>	<i>Restricti</i>	CBS 122.62 = NRRL 2739 = ATCC 16401 = IFO 7054
<i>A. hancockii</i>	<i>Flavi</i>	CBS 142004 = DTO 360-G7
<i>A. heldtia</i>	<i>Terrei</i>	PPRI 4229 = CMV 004A2
<i>A. heteromorphus</i>	<i>Nigri</i>	CBS 117.55 = NRRL 4747 = ATCC 12064
<i>A. heterothallicus</i>	<i>Usti</i>	CBS 488.65 = NRRL 5096 = ATCC 16847 = IMI 139277
<i>A. heyangensis</i>	<i>Aenei</i>	CBS 101751 = AS 3.4630 = DTO 026-G6.
<i>A. hiratsukae</i>	<i>Fumigati</i>	CBS 294.93 = NRRL 20820 = IMI 349859
<i>A. homomorphus</i>	<i>Nigri</i>	CBS 101889 = ITEM 7556.
<i>A. hongkongensis</i>	<i>Nidulantes</i>	CBS 145671 = HKU49 = NBRC 110693 = NCPF 7870
<i>A. hordei</i>	<i>Restricti</i>	NRRL 25825 = CCF 5483 = DTO 356-D3 = IBT 34539.
<i>A. hortae</i>	<i>Terrei</i>	CBS 124230 = NRRL 274 = ATCC 10070 = IBT 26384
<i>A. huiyanae</i>	<i>Fumigati</i>	IFM 57847 = JCM 19448 = CBS 139185
<i>A. ibericus</i>	<i>Nigri</i>	NRRL 35644
<i>A. iizukae</i>	<i>Flavipedes</i>	CBS 541.69 = NRRL 3750 = IMI 141552
<i>A. implicatus</i>	<i>Sparsi</i>	CBS 484.95
<i>A. incahuasiensis</i>	<i>Nidulantes</i>	NRRL 66825
<i>A. indologenus</i>	<i>Nigri</i>	CBS 114.80 = IBT 3679 = ITEM 7038
<i>A. inflatus</i>	<i>Cremeri</i>	CBS 682.70 = FRR 1549 = IMI 191498
<i>A. infrequens</i>	<i>Restricti</i>	NRRL 25868 = CCF 5486 = DTO 356-D6 = IBT 34524
<i>A. insolitus</i>	<i>Polypaecilum</i>	CBS 384.61 = ATCC 18164 = IFO 8788 = IMI 75202
<i>A. insuetus</i>	<i>Usti</i>	CBS 107.25 = NRRL 279 = NRRL 1726 = ATCC 1033
<i>A. insulicola</i>	<i>Circumdati</i>	CBS 382.75 = NRRL 6138 = ATCC 26220
<i>A. iranicus</i>	<i>Terrei</i>	CCTU 756 = CBS 139561 = IBT 32596
<i>A. israelensis</i>	<i>Nidulantes</i>	CBS 140627 = IBT 24293 = DTO 325-E2
<i>A. itaconicus</i>	<i>Cremeri</i>	CBS 115.32 = NRRL 161 = ATCC 10021 = IHEM 4378
<i>A. ivoriensis</i>	<i>Raperorum</i>	CBS 551.77 = NRRL 22883.
<i>A. jaipurensis</i>	<i>Nidulantes</i>	IMI 378525 = DTO 320-A9 = FMR 6232 = CBS 952.97

ตารางที่ 2 ต่อ

species	section	Ex-type culture
<i>A. japonicus</i>	<i>Nigri</i>	CBS 114.51 = ITEM 7034
<i>A. jensenii</i>	<i>Nidulantes</i>	NRRL 58600
<i>A. kalimae</i>	<i>Polypaecilum</i>	DAOMC 251762 = UAMH 11837 = CBS 143506
<i>A. kanagawaensis</i>	<i>Cervini</i>	CBS 538.65 = NRRL 4774 = NRRL 2854
<i>A. karnatakaensis</i>	<i>Aenei</i>	CBS 102800 = IBT 22153.
<i>A. kassunensis</i>	<i>Cavernicolarum</i>	CBS 419.69 = NRRL 3752 = IMI 334938
<i>A. keratitidis</i>	<i>Polypaecilum</i>	BCRC 34221 = DTO 198-E8
<i>A. keveii</i>	<i>Usti</i>	CBS 209.92 = DTO 013- G8
<i>A. keveioides</i>	<i>Usti</i>	AS 3.15305 = CBS 132737 = DTO 328-D7
<i>A. koreanus</i>	<i>Cremeri</i>	JMRC:SF:012334
<i>A. krugeri</i>	<i>Flavi</i>	PPRI 8986 = CMV 006G4
<i>A. labruscus</i>	<i>Nigri</i>	DTO 357-D4 = ITAL 22.223 = IBT 33586
<i>A. lacinosus</i>	<i>Fumigati</i>	CBS 117721 = NRRL 35589 = KACC 41657
<i>A. lanosus</i>	<i>Flavi</i>	CBS 650.74 = DTO 034-B7 = NRRL 3648
<i>A. latilabiatu</i>	<i>Nidulantes,</i>	CBS 426.93 = IBT 33959 = DTO 320-B2.
<i>A. lentulus</i>	<i>Fumigati</i>	CBS 117885 = NRRL 35552 = IBT 27201
<i>A. leporis</i>	<i>Flavi</i>	CBS 151.66 = NRRL 3216 = ATCC 16490
<i>A. leucocarpus</i>	<i>Aspergillus</i>	CBS 353.68 = NRRL 3497 = QM 9365
<i>A. levisporus</i>	<i>Aspergillus</i>	CBS 141767 = DTO 355-G4 = EMSL No.3211 = CCF 5378
<i>A. longistipitatus</i>	<i>Nidulantes</i>	CCF 5788 = EMSL No. 2705 = NRRL 66886
<i>A. longivesica</i>	<i>Clavati</i>	CBS 530.71 = NRRL 5215 = ATCC 22434 = IMI 156966
<i>A. loretoensis</i>	<i>Polypaecilum</i>	BCMEX-UABC 6006.
<i>A. luchuensis</i>	<i>Nigri</i>	CBS 205.80 = NBRC 4281 = KACC 46772
<i>A. lucknowensis</i>	<i>Usti</i>	CBS 449.75 = NRRL 3491 = ATCC 18607
<i>A. luppiae</i>	<i>Flavipedes</i>	NRRL 6326 = CBS 653.74 = CCF 4545
<i>A. magaliesburgensis</i>	<i>Flavi</i>	PPRI 6165 = CMV 007A3
<i>A. magnivesiculatus</i>	<i>Restricti</i>	NRRL 25866 = CCF 5488 = IBT 34816
<i>A. mallochii</i>	<i>Aspergillus</i>	DAOMC 146054 = CBS 141928 = DTO 357-A5 = KAS 7618
<i>A. maritimus</i>	<i>unknown</i>	CBS 186.77
<i>A. marvanovae</i>	<i>Fumigati</i>	NRRL 62486 = IBT 31279 = CCM 8003 = CCF 4037

ตารางที่ 2 ต่อ

species	section	Ex-type culture
<i>A. melleus</i>	<i>Circumdati</i>	CBS 546.65 = NRRL 5103 = IBT 13510 = IBT 13511
<i>A. microcysticus</i>	<i>Terrei</i>	CBS 120.58 = NRRL 4749 = ATCC 16826
<i>A. micronesiensis</i>	<i>Flavipedes</i>	CBS 138183 = DTO 267-D5
<i>A. microperforatus</i>	<i>Aspergillus</i>	UTHSCSA DI16-407 = CBS 142376 = FMR 14071
<i>A. minisclerotigenes</i>	<i>Flavi</i>	CBS 117635 = DTO 009-F7 = DTO 303-C6 = IBT 25032
<i>A. miraensis</i>	<i>Nidulantes</i>	CGMCC 3.14984 = DTO 323-B2
<i>A. monodii</i>	<i>Usti</i>	DTO 69-A3 = CBS 435.93 = DTO 026-14.
<i>A. montevicensis</i>	<i>Aspergillus</i>	CBS 491.65 = NRRL 108 = BPI 884202 = ATCC 10077
<i>A. mottae</i>	<i>Flavi</i>	CBS 130016 = DTO 223-C8
<i>A. movilensis</i>	<i>Flavipedes</i>	PRM 923449 = CCF 4410 = CMF ISB 2614 = NRRL 62819 = CBS 134395
<i>A. multicolor</i>	<i>Nidulantes</i>	CBS 133.54 = NRRL 4775 = ATCC 16804=IFO8133=IMI69857
<i>A. multiplicatus</i>	<i>Fumigati</i>	CBS 646.95 = IBT 17517 = DTO 050-E2.
<i>A. mulundensis</i>	<i>Nidulantes</i>	DTO 316-C9 = DSMZ 5745a = IBT 33104
<i>A. muricatus</i>	<i>Circumdati</i>	CBS 112808 = NRRL 35674 = IBT 19374
<i>A. navahoensis</i>	<i>Nidulantes</i>	CBS 351.81 = NRRL 13002 = ATCC 44663
<i>A. neoafricanus</i>	<i>Terrei</i>	CBS 130.55 = NRRL 2399 = ATCC 16792 = IHEM 4380
<i>A. neoalliaceus</i>	<i>Flavi</i>	CBS 143681 = DTO 326-D3 = S765 = CCF 5433
<i>A. neobridgeri</i>	<i>Circumdati</i>	CBS 559.82 = NRRL 13078 = IBT 14026
<i>A. neocarnoyi</i>	<i>Aspergillus</i>	CBS 471.65 = NRRL 126 = ATCC 16924
<i>A. neoglaber</i>	<i>Fumigati</i>	CBS 111.55 = NRRL 2163 = ATCC 16909 = IFO 8789
<i>A. neoindicus</i>	<i>Terrei</i>	CBS 444.75 = NRRL 6134 = IMI 334935
<i>A. neoniger</i>	<i>Nigri</i>	CBS 115656 = NRRL 62634
<i>A. neoniveus</i>	<i>Flavipedes</i>	CBS 261.73 = NRRL 5299 = ATCC 24482
<i>A. nidulans</i>	<i>Nidulantes</i>	CBS 589.65 = NRRL 187 = ATCC 10074
<i>A. niger</i>	<i>Nigri</i>	CBS 554.65 = NRRL 326 = ATCC 16888 = IFO 33023
<i>A. nishimurae</i>	<i>Fumigati</i>	IFM 54133 = CBM-FA-0910 = CCF 4547
<i>A. niveoglaucus</i>	<i>Aspergillus</i>	CBS 114.27 = CBS 517.65 = NRRL 127 = ATCC 10075
<i>A. niveus</i>	<i>Terrei</i>	CBS 115.27 = NRRL 5505
<i>A. nomiae</i>	<i>Flavi</i>	CBS 260.88 = NRRL 13137 = ATCC 15546

ตารางที่ 2 ต่อ

species	section	Ex-type culture
<i>A. novofumigatus</i>	<i>Fumigati</i>	CBS 117520 = IBT 16806 = KACC 41934 = IFM 55215 = CCF 4695
<i>A. novoguineensis</i>	<i>Cervini</i>	CBS 906.96 = DTO 021-G5 = IBT 29312
<i>A. novoparasiticus</i>	<i>Flavi</i>	CBS 126849 = DTO 223-C3 = LEMI 250 = FMR 10121
<i>A. nutans</i>	<i>Cervini</i>	CBS 121.56 = NRRL 575 = NRRL 4364 = NRRL A-6280 = ATCC 16914
<i>A. occultus</i>	<i>Circumdati</i>	CBS 137330 = IBT 32285 = DTO 231-A7
<i>A. ochraceopetaliformis</i>	<i>Circumdati</i>	CBS 123.55 = NRRL 4752 = IBT 14347 = ATCC 12066
<i>A. ochraceoroseus</i>	<i>Ochraceorosei</i>	CBS 550.77 = NRRL 28622 = ATCC 38873 = SRRC1432
<i>A. ochraceus</i>	<i>Circumdati</i>	CBS 108.08 = NRRL 398 = IBT 11952 = ATCC 1008
<i>A. oerlinghausenensis</i>	<i>Fumigati</i>	CBS 139183 = IBT 33878 = DTO 316-A3
<i>A. olivicola</i>	<i>Nidulantes</i>	CBS 119.37 = IBT 21903 = DTO 002-I2
<i>A. olivimuriae</i>	<i>Flavipedes</i>	NRRL 66783 = DIBAF 6C2
<i>A. omanensis</i>	<i>Nidulantes</i>	CBM FA- 700 = IFM 54275
<i>A. oryzae</i>	<i>Flavi</i>	CBS 100925 = CBS 102.07 = NRRL 447 = ATCC 1011
<i>A. ostianus</i>	<i>Circumdati</i>	CBS 103.07 = CBS 548.65 = IBT 13386 = NRRL 420
<i>A. pachycaulis</i>	<i>Restricti</i>	NRRL 25824 = CCF 5492 = DTO 356-D2 = IBT 34521
<i>A. pachycristatus</i>	<i>Nidulantes</i>	IFM 55265 = NBRC 104790.
<i>A. pallidofulvus</i>	<i>Circumdati</i>	CBS 640.78 = NRRL 4789 = IBT 13871 = IFO 4095
<i>A. panamensis</i>	<i>Sparsi</i>	CBS 120.45 = NRRL 1785 = ATCC 16797
<i>A. papuensis</i>	<i>Fumigati</i>	CBS 841.96 = IBT 27801 = DTO 050-D1
<i>A. parasiticus</i>	<i>Flavi</i>	CBS 100926 = CBS 103.13 = NRRL 502 = ATCC 1018 = ATCC 6474
<i>A. parvulus</i>	<i>Cervini</i>	CBS 136.61 = NRRL 4753 = ATCC 16911 = IMI 86558
<i>A. penicillioides</i>	<i>Restricti</i>	CBS 540.65 = NRRL 4548 = ATCC 16910
<i>A. pepii</i>	<i>Nidulantes</i>	MFBF AV11051B IX = SZMC 22333 = CBS 142028
<i>A. pernambucoensis</i>	<i>Fumigati</i>	IFM 61342 = JCM 19244 = CBS 137449 = DTO 316-G1
<i>A. persii</i>	<i>Circumdati</i>	CBS 112795 = NRRL 35669 = IBT 22660 = MUCL 41970
<i>A. petersonii</i>	<i>Petersoniorum</i>	CCF 4999 = NRRL 66216
<i>A. peyronelii</i>	<i>Petersoniorum</i>	IMI 139271 = CCF 4942 = NRRL 4754 = ATCC 16840
<i>A. pipericola</i>	<i>Flavi</i>	CBS 143680 = DTO 228- H4 = IBT 24628.

ตารางที่ 2 ต่อ

species	section	Ex-type culture
<i>A. pisce</i>	<i>Polypaecilum</i>	FRR 2732 = ATCC 56982 = IMI 288726
<i>A. pluriseminatus</i>	<i>Nidulantes</i>	CBS 100523 = FMR 5588 = IMI 370867 = DTO 011-H1
<i>A. polyporicola</i>	<i>Flavipedes</i>	NRRL 32683 = CCF 4553
<i>A. porosus</i>	<i>Aspergillus</i>	CBS 141770 = DTO 262-D7 = IBT 34443
<i>A. porphyreostipitatus</i>	<i>Usti</i>	CBS 138203 = DTO 266-D9
<i>A. posadasensis</i>	<i>Clavati</i>	FMR 12168 = CBS 134259 = NBRC 109845
<i>A. pragensis</i>	<i>Candidi</i>	CCF 3962 = CBS 135591 = NRRL 62491 = IBT 32274
<i>A. proliferans</i>	<i>Aspergillus</i>	CBS 121.45 = NRRL 1908 = IMI 016105ii
<i>A. pseudocaelatus</i>	<i>Flavi</i>	CBS 117616 = DTO 010-H4
<i>A. pseudodeflectus</i>	<i>Usti</i>	CBS 756.74 = NRRL 6135
<i>A. pseudoelegans</i>	<i>Circumdati</i>	CBS 112796 = DTO 077-F5 = NRRL 35670
<i>A. pseudoglaucus</i>	<i>Aspergillus</i>	CBS 123.28 = NRRL 40 = ATCC 10066 = IMI 16122
<i>A. pseudogracilis</i>	<i>Restricti</i>	CCF 5505 = EMSL No. 2765 = DTO 356-F3
<i>A. pseudonomiae</i>	<i>Flavi</i>	CBS 119388 = DTO 009-F1 = NRRL 3353 = IBT 27864
<i>A. pseudosclerotiorum</i>	<i>Circumdati</i>	UTHSCSA DI15-13 = FMR 14449 = CBS 141845
<i>A. pseudotamarii</i>	<i>Flavi</i>	CBS 766.97 = DTO 046- C1 = NRRL 25517
<i>A. pseudoterreus</i>	<i>Terrei</i>	CBS 123890 = NRRL 4017
<i>A. pseudoustus</i>	<i>Usti</i>	CBS 123904 = NRRL 5856 = IBT 28161 = DTO 083-G3
<i>A. pseudoviridinutans</i>	<i>Fumigati</i>	NRRL 62904 = NIH AV1 = CCF 5631 = DTO 304-I5
<i>A. pulvericola</i>	<i>Circumdati</i>	CBS 137327 = DTO 267-C6
<i>A. pulvinus</i>	<i>Cremeri</i>	CBS 578.65 = NRRL 5078 = ATCC 16842
<i>A. puniceus</i>	<i>Usti</i>	CBS 495.65 = NRRL 5077 = ATCC 16800
<i>A. purpureocrustaceus</i>	<i>Nidulantes</i>	PPRI 3840 = CMV 008B3
<i>A. purpureus</i>	<i>Nidulantes</i>	CBS 754.74 = NRRL 6133 = IMI 334937
<i>A. puulaauensis</i>	<i>Nidulantes</i>	CBS 145750 = NRRL 35641 = DTO 225-G5
<i>A. qinqixianii</i>	<i>Nidulantes</i>	IFM 55020 = CBM- FA-0866 = DTO 098-H6
<i>A. qizutongii</i>	<i>unknown</i>	CBM FD-284
<i>A. quadricinctus</i>	<i>Fumigati</i>	CBS 135.52 = NRRL 2154 = ATCC 16897
<i>A. quadrilineatus</i>	<i>Nidulantes</i>	CBS 591.65 = NRRL 201 = ATCC 16816 = IMI 089351ii
<i>A. raianus</i>	<i>unknown</i>	n.a.
<i>A. rambellii</i>	<i>Ochraceorosei</i>	CBS 101887 = ATCC 42001 = IBT 14580

ตารางที่ 2 ต่อ

species	section	Ex-type culture
<i>A. recurvatus</i>	<i>Nidulantes</i>	CBS 496.65 = NRRL 4902 = ATCC 16809 = IMI 136528
<i>A. restrictus</i>	<i>Restricti</i>	CBS 117.33 = CBS 541.65 = NRRL 154 = ATCC 16912
<i>A. reticulatus</i>	<i>Restricti</i>	NRRL 25852 = CCF 5516 = DTO 356-D4 = IBT 34540
<i>A. robustus</i>	<i>Robusti</i>	CBS 428.77 = NRRL 6362 = ATCC 36106 = IMI 216610
<i>A. roseoglobulosus</i>	<i>Circumdati</i>	CBS 112800 = NRRL 4565 = IBT 14720
<i>A. ruber</i>	<i>Aspergillus</i>	CBS 530.65 = NRRL 52 = ATCC 16441
<i>A. rugulosus</i>	<i>Nidulantes</i>	CBS 133.60 = NRRL 206 = ATCC 16820 = IMI 136775
<i>A. saccharolyticus</i>	<i>Nigri</i>	CBS 127449 = IBT 28509
<i>A. salinarum</i>	<i>Polypaecilum</i>	CBS142047 = EXF-10247
<i>A. salinicola</i>	<i>Restricti</i>	EXF-10401 = IBT 34266 = CCF 5526 = NRRL 66621
<i>A. salisburgensis</i>	<i>Polypaecilum</i>	EXF-10247 = CBS 142047 = DTO 410-E7
<i>A. salwaensis</i>	<i>Circumdati</i>	CBS 138172 = DTO 297-B3
<i>A. savannensis</i>	<i>Nidulantes</i>	CBS 140607 = IBT 23422 = DTO 059-H6
<i>A. sclerotialis</i>	<i>Polypaecilum</i>	CBS 366.77 = IAM 14794 = DTO 107-E2 = DTO 137-F4
<i>A. sclerotiiicarbonarius</i>	<i>Nigri</i>	CBS 121057 = IBT 121057
<i>A. sclerotioniger</i>	<i>Nigri</i>	CBS 115572 = IBT 22905
<i>A. sclerotiorum</i>	<i>Circumdati</i>	CBS 549.65 = NRRL 415=IBT11931=ATCC16892
<i>A. seifertii</i>	<i>Clavati</i>	PPRI 3211 = CMV 006F5
<i>A. sergii</i>	<i>Flavi</i>	CBS 130017 = DTO 223-C9 = DTO 223-D1
<i>A. serratalhadensis</i>	<i>Nigri</i>	URM 7866.
<i>A. sesamicola</i>	<i>Circumdati</i>	CBS 137324 = IBT 29314 = DTO 148-B4
<i>A. shendawei</i>	<i>Fumigati</i>	IFM 57611 = CBS 128793 = DTO 148-G9
<i>A. siamensis</i>	<i>Fumigati</i>	IFM 59793 = KUFC 6349T = CCF 4685 = CBS 137452
<i>A. sigurros</i>	<i>Usti</i>	PPRI 15889 = CMV 005I4
<i>A. silvaticus</i>	<i>Silvatici</i>	CBS 128.55 = NRRL 2398 = ATCC 16843 = ATCC 46904 = IFO 8173
<i>A. similanensis</i>	<i>Fumigati</i>	KUFA 0012 = KUFA 0013
<i>A. sloanii</i>	<i>Aspergillus</i>	CBS 138177 = DTO 245A1
<i>A. sojae</i>	<i>Flavi</i>	CBS 100928 = DTO 046-C3 = IMI 191300
<i>A. solicola</i>	<i>Fumigati</i>	NRRL 35723 = DTO 047-E8
<i>A. sparsus</i>	<i>Sparsi</i>	CBS 139.61 = NRRL 1933 = ATCC 16851 = IHEM 4377

ตารางที่ 2 ต่อ

species	section	Ex-type culture
<i>A. spelaeus</i>	<i>Flavipedes</i>	CCF 4425 = CMF ISB 2615 = CBS 134371
<i>A. spelunceus</i>	<i>Nidulantes</i>	CBS 497.65 = NRRL 4989 = ATCC 16838
<i>A. spinosus</i>	<i>Fumigati</i>	CBS 483.65 = NRRL 5034 = ATCC 16898 = IFO 8782 = IMI 211390
<i>A. spinulosporus</i>	<i>Nidulantes</i>	CBS 120.55 = NRRL 2395 = ATCC 16825
<i>A. stella-maris</i>	<i>Nidulantes</i>	CBS 113638 = IBT 23439 = DTO 011-A2
<i>A. stellatus</i>	<i>Nidulantes</i>	CBS 598.65 = NRRL 1858 = ATCC 16819 = IMI 136778
<i>A. stelliformis</i>	<i>Nidulantes</i>	CCF 5375 = EMSL No. 2293 = NRRL 66885
<i>A. stercorarius</i>	<i>Nidulantes</i>	CBS 428.93 = IBT 28024 = DTO 320-B3
<i>A. steynii</i>	<i>Circumdati</i>	CBS 112812 = NRRL 35675 = IBT 23096
<i>A. stramenius</i>	<i>Fumigati</i>	CBS 498.65 = NRRL 4652 = ATCC 16895
<i>A. striatus</i>	<i>Nidulantes</i>	CBS 283.67 = CBS 592.65 = NRRL 4699 = ATCC 16815
<i>A. stromatoides</i>	<i>Cremeri</i>	CBS 500.65 = DTO 059-B3 = DTO 080-G9
<i>A. subalbidus</i>	<i>Candidi</i>	CBS 567.65 = ATCC 16871 = IMI 230752 = NRRL 312
<i>A. subflavus</i>	<i>Flavi</i>	CBS 143683 = DTO 326-E8 = S778 = CCF 4957
<i>A. sublatus</i>	<i>Nidulantes</i>	CBS 140630 = DTO 338- F7 = IFO 30906 = IMI 334870
<i>A. sublevisporus</i>	<i>Fumigati</i>	CBS 128796 = IFM 53598 = DTO 148-H3
<i>A. subnutans</i>	<i>Cervini</i>	CBS 129386 = DTO 202 – C2 = WSF 445 = IBT 34352
<i>A. subramanianii</i>	<i>Circumdati</i>	CBS 138230 = NRRL 6161 = ATCC 18413
<i>A. subsessilis</i>	<i>Cavernicolarum</i>	CBS 502.65 = NRRL 4905 = ATCC 16808 = IMI 135820
<i>A. subunguis</i>	<i>unknown</i>	IMI 254637
<i>A. subversicolor</i>	<i>Nidulantes</i>	CBS 145751 = NRRL 58999 = DTO 225-G9
<i>A. sulphureoviridis</i>	<i>Nidulantes</i>	CBS 140626 = IBT 21868 = DTO 325-D1)
<i>A. suttoniae</i>	<i>Flavipedes</i>	UTHSCSA DI14- 215 = FMR 13523
<i>A. sydowii</i>	<i>Nidulantes</i>	CBS 593.65 = NRRL 250 = IMI 211384 = NRRL 254
<i>A. tabacinus</i>	<i>Nidulantes</i>	CBS 122718 = CBS H-24287 = NRRL 4791
<i>A. taichungensis</i>	<i>Candidi</i>	IBT 19404 = DTO 031-C6
<i>A. takadae</i>	<i>Fumigati</i>	IFM 62979 = CBM-FA-929-1
<i>A. tamarii</i>	<i>Flavi</i>	CBS 104.13 = NRRL 20818 = QM 9374
<i>A. tamarinosoli</i>	<i>Aspergillus</i>	CBS 141775 = DTO 054-A8 = IBT 34432
<i>A. tanneri</i>	<i>Tannerorum</i>	NRRL 62426 = NIH 1005

ตารางที่ 2 ต่อ

species	section	Ex-type culture
<i>A. tardicrescens</i>	<i>Restricti</i>	DTO 316- B5 = CCF 5529 = IBT 34558 = NRRL 66623)
<i>A. tardus</i>	<i>Cremeri</i>	CBS 433.93 = DAOM 175187
<i>A. tasmanicus</i>	<i>Fumigati</i>	CBS 283.66 = KACC 41141 = IBT 3211 = NBRC 8008
<i>A. tatenoi</i>	<i>Fumigati</i>	CBM-FA 0022 = CBS 407.93 = NRRL 4584
<i>A. templicola</i>	<i>Flavipedes</i>	CBS 138181 = DTO 270-C6
<i>A. tennesseensis</i>	<i>Nidulantes</i>	CBS 145752 = NRRL 13150 = DTO 225-F5
<i>A. teporis</i>	<i>Aspergillus</i>	CBS 141768 = DTO 058-E5 = IBT 34513
<i>A. terreus</i>	<i>Terrei</i>	CBS 601.65 = NRRL 255 = ATCC 10071 = ATCC 1012
<i>A. thailandensis</i>	<i>Polypaecilum</i>	DAOMC 251755 = UAMH 11840 = CBS 143383
<i>A. thermomutatus</i>	<i>Fumigati</i>	CBS 208.92 = NRRL 20748 = DTO 051-D7
<i>A. thesauroicus</i>	<i>Usti</i>	NRRL 62487 = CCF 4166 = CMFISB 2155
<i>A. togoensis</i>	<i>Flavi</i>	CBS 205.75 = NRRL 13551 = LCP 67.3456
<i>A. tonophilus</i>	<i>Aspergillus</i>	CBS 405.65 = NRRL 5124 = ATCC 16440 = ATCC 36504
<i>A. transcarpathicus</i>	<i>Cervini</i>	CBS 423.68 = DTO 022-C7 = IBT 22080 = IMI 134108
<i>A. transmontanensis</i>	<i>Flavi</i>	DTO 223-C7 = CBS 130015
<i>A. trinidadensis</i>	<i>Nigri</i>	DTO 198-D1 = NRRL 62479 = ITEM 14821
<i>A. trisporus</i>	<i>Janorum</i>	CML 3603
<i>A. tritici</i>	<i>Candidi</i>	CBS 266.81 = DTO 031-F4
<i>A. tsumodae</i>	<i>Fumigati</i>	IFM 57609 = NBRC 106416 = CBS 128794
<i>A. tsurutae</i>	<i>Fumigati</i>	CBM FA-933 = CBS 137455 = IFM 56811 = DTO 279-D5
<i>A. tubingensis</i>	<i>Nigri</i>	NRRL 4875 = QM 8904 = WB 4875 = CBS 133056
<i>A. tumidus</i>	<i>Nidulantes</i>	FMR 15743 = CBS 143587
<i>A. turcosus</i>	<i>Fumigati</i>	KACC 42091 = DTO 035-E7
<i>A. turkensis</i>	<i>Usti</i>	CBS 504.65 = NRRL A-3261 = NRRL 4993 = ATCC 16799
<i>A. undulatus</i>	<i>Nidulantes</i>	CBS 261.88 = DTO 011-A1
<i>A. unguis</i>	<i>Nidulantes</i>	CBS 132.55 = NRRL 2393 = ATCC 16812 = IMI 136526
<i>A. unilateralis</i>	<i>Fumigati</i>	CBS 126.56 = NRRL 577=ATCC16902=IFO8136=IMI62876
<i>A. urmiensis</i>	<i>Flavipedes</i>	CCTU 742 = C B S 139558 = IBT 32593
<i>A. ustus</i>	<i>Usti</i>	CBS 261.67 = NRRL 275 = ATCC 1041
<i>A. uvarum</i>	<i>Nigri</i>	CBS 121591 = IBT 26606 = IMI 388523
<i>A. vadensis</i>	<i>Nigri</i>	CBS 113365 = CECT20584 = IMI 313493

ตารางที่ 2 ต่อ

species	section	Ex-type culture
<i>A. varians</i>	<i>Nidulantes</i>	CBS 505.65 = NRRL 4793 = ATCC 16836 = IFO 4114
<i>A. venenatus</i>	<i>Nidulantes</i>	CBS 145753 = NRRL 13147 = DTO 225-F4
<i>A. venezuelensis</i>	<i>Nidulantes</i>	CBS 868.97 = IBT 20956 = DTO 011-A4
<i>A. versicolor</i>	<i>Nidulantes</i>	CBS 583.65 = NRRL 238 = ATCC 9577 = IFO 33027
<i>A. villosus</i>	<i>Restricti</i>	NRRL 25813 = CCF 5531 = DTO 356-C9 = IBT 34822
<i>A. vinosobubalinus</i>	<i>unknown</i>	CBM BF-33501
<i>A. violaceus</i>	<i>Nidulantes</i>	CBS 138.55 = NRRL 2240 = ATCC 16813 = CECT2587
<i>A. viridicatenatus</i>	<i>Nidulantes</i>	CBS 140629 = IBT 31492 = DTO 325-F4
<i>A. viridimutans</i>	<i>Fumigati</i>	CBS 127.56 = NRRL 4365 = NRRL 4782
<i>A. vitricola</i>	<i>Restricti</i>	DTO 356-F7 = CBS H-24290 = CBS 146239
<i>A. waksmanii</i>	<i>Fumigati</i>	NRRL 179 = CCF 4266 = Thom 4138.H52
<i>A. wangduanlii</i>	<i>unknown</i>	CBM FD-283 = CMMB 2309
<i>A. waynelawii</i>	<i>Polypaecilum</i>	DAOMC 251751 = UAMH 11926 = CBS 143384
<i>A. welwitschiae</i>	<i>Nigri</i>	CBS 139.54
<i>A. wentii</i>	<i>Cremeri</i>	CBS 104.07 = NRRL 375 = ATCC 1023 = IMI 17295
<i>A. westerdijkiae</i>	<i>Circumdati</i>	CBS 112803 = NRRL 3174 = IBT 10738
<i>A. westlandensis</i>	<i>Circumdati</i>	CBS 137321 = IBT 32139 = DTO 231-A9
<i>A. whitfieldii</i>	<i>Polypaecilum</i>	DAOMC 251760 = UAMH 11842 = CBS 143385
<i>A. wisconsinensis</i>	<i>Cervini</i>	CBS 413.64 = DTO 022-B1 = NRRL 5027
<i>A. xerophilus</i>	<i>Aspergillus</i>	CBS 938.73 = NRRL 6131
<i>A. yunnanensis</i>	<i>Janorum</i>	CGMCC 3.19711
<i>A. zutongqii</i>	<i>Aspergillus</i>	CBS 141773 = CGMCC 3.13917 = DTO 349-E1

n.a. = ไม่มีข้อมูล ที่มา : ดัดแปลงมาจาก Houbraken *et al.* (2020)

ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของรา *Aspergillus* species ที่สำคัญในแต่ละ section ซึ่งสามารถพบได้ทั่วไปมีดังต่อไปนี้

A. aerius จัดอยู่ใน Section *Aspergillus* มีโคโลนีสีเหลืองก้ำมะถัน ตรงกลางมีสีเขียวมะกอกเข้มและค่อย ๆ จางไปจนถึงขอบของโคโลนี เนื่องจากบริเวณตรงกลางโคโลนีมี conidial head ที่มีอายุมากกว่า เวชียเกิดมีรูปร่างทรงกลมไปจนถึงค่อนข้างกลม (globose to subglobose) มีไฟอะไลต์ชั้นเดียว สร้างคลุ่มทั้งเวชียเกิด โคนีเดี่ยวรูปร่างกลมผิวเรียบ ขนาด 6.5–8 x 4.5–6 ไมโครเมตร มีสีเหลืองอ่อน (Chen *et al.*, 2017)

A. auratus จัดอยู่ใน Section *Fumigati* เส้นใยไม่มีสีเจริญอยู่ที่อาหาร โคลโคนีค่อนข้างเรียบ ผิวหน้าละเอียดคล้ายกำมะหยี่ เนื่องจากมี conidial head ลักษณะเป็นแท่งสร้างขึ้นอย่างหนาแน่น โคลโคนีมีสีเขียวอมเทา ใต้โคลโคนีมีสีเหลืองอมน้ำตาล โคนิดิโอฟอร์ผนังเรียบ เวชิติล มีรูปร่างแบบคนโท (fask shaped) โฟอะไลด์แบบชั้นเดียวเกิดเพียงครึ่งเวชิติล และโคนิดิอัสมีรูปร่างกลมผนังขรุขระเห็นได้ชัดเจน ascospore ตามยาวมีลักษณะคล้ายขอบหมวกยื่นออกมา ตรงกลางผนังด้านในเว้าออกจากกัน ผนังหนาและขรุขระ (Houbraken *et al.*, 2020)

A. carbonarius จัดอยู่ใน Section *Nigri* มีโคลโคนีสีดำแบบผงคาร์บอน ระยะแรกมีสีเหลืองและเมื่ออายุมากขึ้นเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้มจนถึงดำและค่อย ๆ จางไปจนถึงขอบของโคลโคนี เนื่องจากตรงกลางโคลโคนีมี conidial head ที่มีอายุมากกว่าและเจริญอยู่อย่างหนาแน่น ส่วนบริเวณขอบเห็น conidial head ชัดเจนกว่า และก้านชูสปอร์ไม่มีสี แต่มีสีน้ำตาลอ่อนบริเวณรอยคอดใต้เวชิติล โดยเวชิติลมีรูปร่างกลมกว้างมีสีน้ำตาล มีโฟอะไลด์สีน้ำตาล 2 ชั้น คลุมทั้งเวชิติล โคนิดิอัสรูปร่างกลมใสหรือมีสีน้ำตาลผนังเรียบ (Houbraken *et al.*, 2020)

A. chevalieri จัดอยู่ใน Section *Aspergillus* โคลโคนีสีน้ำเงินแกมเขียว เรียบ บาง แต่ฟูเล็กน้อย บริเวณขอบ โคลโคนีมีสีเหลืองสด ซึ่งเป็นเส้นใยของ cleistothecium เจริญปะปนกันอย่างหนาแน่น มี conidial head ปะปนอยู่บ้างเล็กน้อย conidial head เมื่อยังอ่อนอยู่ไม่มีรูปร่างกลมหรือคล้ายแท่งกลม ๆ เมื่ออายุมากขึ้นเปลี่ยนเป็นสีเขียวอมเทา โคนิดิโอฟอร์ไม่มีสีผนังเรียบ เวชิติลรูปร่างค่อนข้างกลม มีโฟอะไลด์ชั้นเดียวเกิดติดกันค่อนข้างแน่น โคนิดิอัสรูปไข่ (ovate) ผนังขรุขระ cleistothecium รูปร่างกลมหรือค่อนข้างกลม มีสีเหลืองภายในมี asci ใน 1 ascus มี 8 ascospores รูปร่างแบบจานบิน (lenticular) ผนังเรียบหรือค่อนข้างขรุขระเล็กน้อย (Houbraken *et al.*, 2020)

A. flavus จัดอยู่ใน Section *Flavi* โคลโคนีสีเขียวแกมเหลือง ตรงกลางมีสีเข้มสุดและค่อย ๆ จางไปจนถึงขอบของโคลโคนี เนื่องจากตรงกลางโคลโคนีมี conidial head ที่มีอายุมากกว่าและสร้างอยู่อย่างหนาแน่น และพบเส้นใยเจริญใต้ผิวอาหารเล็กน้อย ส่วนบริเวณขอบของโคลโคนีเห็น conidial head ชัดเจนกว่าและก้าน โคนิดิโอฟอร์ไม่มีสี ใต้โคลโคนีไม่มีสีแต่มีรอยบุ๋มลงในอาหารเป็นทางยาวจากจุดศูนย์กลางประมาณ 3-4 แฉก เวชิติลมีรูปร่างค่อนข้างกลม โฟอะไลด์ชั้นคลุมทั้งเวชิติล มีทั้งแบบชั้นเดียวและแบบ 2 ชั้น โคนิดิอัสกลมมีสีเขียวอ่อน (Houbraken *et al.*, 2020)

A. niger จัดอยู่ใน Section *Nigri* โคลโคนีสีดำ ตรงกลางมีสีดำเข้มและค่อย ๆ จางไปจนถึงขอบของโคลโคนี เนื่องจากบริเวณตรงกลางโคลโคนีมี conidial head ที่มีอายุมากกว่าและสร้างอยู่อย่างหนาแน่น ส่วนบริเวณขอบเห็น conidial head ชัดเจนกว่าและเห็นก้านชูสปอร์สีน้ำตาลอ่อน ใต้โคลโคนีไม่มีสีแต่มีรอยบุ๋มลงในอาหารเป็นทางจากจุดศูนย์กลางประมาณ 3-4 แฉก เวชิติลรูปร่าง

ค่อนข้างกลม มีไฟอะไลด์ 2 ชั้น สร้างคลุ่มทั้งเวซิคิล โคนิเดียมีรูปร่างกลมสีน้ำตาลอ่อนผนังขรุขระ (Houbraken *et al.*, 2020)

A. oryzae จัดอยู่ใน Section *Flavi* โคนิเดียระยะแรกสีขาวเมื่อมีอายุมากขึ้นเส้นใยเจริญอยู่ใต้อาหารลึกลับ เปลี่ยนเป็นเหลืองอมเขียวสีเหลืองคล้ายมะกอกหรือสีเนื้อถึงสีน้ำตาล บริเวณขอบโคนิเดียมีเส้นใยสีขาว conidial head ระยะแรกไม่มีสี รูปร่างกลม จากนั้นเปลี่ยนเป็นสีเหลืองมะกอกหรือสีน้ำตาลเหลือง เมื่อเจริญเต็มที่รูปร่างกลมหรือเป็นแท่งหลวม ๆ แผลออกเป็นรัศมี หรือแตกเป็นแฉกหลายแฉก โคนิเดียอโอฟอร์สีน้ำตาลอ่อน เวซิคิลรูปร่างกลมหรือค่อนข้างกลม ไฟอะไลด์ มีทั้งแบบชั้นเดียวและสองชั้น (Houbraken *et al.*, 2020)

A. parasiticus จัดอยู่ใน Section *Flavi* โคนิเดียมีสีเหลืองอมเขียวเมื่อมีอายุมากขึ้น เปลี่ยนเป็นสีเขียวเข้มถึงน้ำตาลตรงกลางมีสีเข้มที่สุดและจางลงเรื่อย ๆ เมื่อห่างจากจุดศูนย์กลางเนื่องจากบริเวณกลางโคนิเดียมี conidial head ที่มีอายุมากกว่า บริเวณขอบของโคนิเดียมีเส้นใยสีขาวเจริญอยู่หนาแน่น conidial head เมื่ออ่อนอยู่ไม่มีสี รูปร่างกลม เมื่ออายุมากขึ้นเปลี่ยนเป็นสีเหลืองแกมเขียวและเปลี่ยนเป็นสีเขียวเข้มถึงน้ำตาล แต่เมื่อเจริญเต็มที่รูปร่างกลมแผ่เป็นรัศมีหรือแตกออกเป็นแฉกหลาย ๆ แฉก โคนิเดียอโอฟอร์ขรุขระ เวซิคิลรูปร่างกลมหรือค่อนข้างกลม ไฟอะไลด์มีชั้นเดียว โคนิเดียรูปร่างกลม (Houbraken *et al.*, 2020)

A. pulverulentus จัดอยู่ใน Section *Nigri* เส้นใยมีสีขาวฟูรอบโคนิเดีย บริเวณตรงกลางโคนิเดียมี conidial head ขนาดเล็กสีอิฐ เมื่อยังอ่อนอยู่ไม่มีสี รูปร่างกลมแผ่เป็นรัศมีหรือแตกออกเป็นแฉก ๆ หลายแฉก โคนิเดียอโอฟอร์ไม่มีสี ผนังเรียบ เวซิคิลรูปร่างกลม มีไฟอะไลด์สองชั้น โคนิเดียรูปร่างกลมผนังเรียบบาง (Houbraken *et al.*, 2020)

A. terreus จัดอยู่ใน Section *Terrei* โคนิเดียเรียบและบางมีสีเหลืองแกมน้ำตาล ตรงกลางโคนิเดียมี conidial head เจริญอย่างหนาแน่น และมี exudate สีน้ำตาลแกมเหลืองอยู่บริเวณกลางโคนิเดียมี conidial head เมื่อยังอ่อนอยู่ไม่มีสี เมื่ออายุมากขึ้นเปลี่ยนเป็นสีเหลืองแกมน้ำตาล รูปร่างเป็นแท่งยาวอัดกันแน่น โคนิเดียอโอฟอร์ไม่มีสี ผนังเรียบ ส่วนที่ติดกับเวซิคิลขยายกว้างออกเล็กน้อย เวซิคิลรูปร่างคล้ายคนโทหรือครึ่งวงกลม มีไฟอะไลด์ 2 ชั้น ชั้นที่หนึ่งติดกับเวซิคิล เกิดหนาแน่นเต็มเวซิคิล ชั้นที่สองเกิดอย่างหนาแน่นเช่นกัน โคนิเดียรูปร่างกลมผนังเรียบและมีสีครีมอ่อน (Houbraken *et al.*, 2020)

ความสำคัญของรา *Aspergillus species* ในการควบคุมโรคพืช

การควบคุมโรคพืชโดยใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์เป็นวิธีหนึ่งในการควบคุมทางชีววิธีที่ประสบความสำเร็จซึ่งมีกลไก ได้แก่ การเป็นปรสิต (parasitism) การทำลายชีวิต (antibiosis) การ

แก่งแย่งแข่งขัน (competition) และการชักนำให้พืชสร้างความต้านทาน (induced resistance) นอกจากนี้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์บางชนิดยังสามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช จากการศึกษาของ Petrovic และคณะ (2016) ได้แยกแกร *Aspergillus* จากปุ๋ยหมัก แล้วนำมาคัดเลือกสายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้ง *Pythium aphanidermatum* พบว่ารา *A. piperis* A/5 หลังสารประกอบที่ซับซ้อน โมเลกุลเล็ก รวมทั้งกรดกลูโคนิก (gluconic acid) กรดซิตริก (citric acid) และกรดอิทาโคนิก (itaconic acid) ซึ่งมีฤทธิ์ยับยั้ง *P. aphanidermatum*

Kaewchai และ Soyong (2010) ได้ทดลองควบคุมรา *Rigidoporus microporus* สาเหตุโรครากขาวของยางพารา โดยใช้รา 5 ไอโซเลต ได้แก่ *A. niger* SN72, *Chaetomium bostrychodes* BN08, *Ch. cupreum* RY202, *T. hamatum* STN07 และ *T. hardanum* STNO1 มายับยั้งการเจริญของเส้นใยรา *R. microporus* พบว่า *A. niger* SN72, *Ch. bostrychodes* BNO8 และ *Ch. cupreum* RY202 มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญของเส้นใยที่เวลา 10 วันได้ 75.8, 58.1 และ 57.5% ตามลำดับ โดยเส้นใยของเชื้อสาเหตุโรครากขาวไม่สามารถเจริญได้เมื่อสัมผัสกับเชื้อรา *A. niger* SN72 ส่วนรา *Ch. bostrychodes* BN08 และ *Ch. cupreum* RY202 สามารถเจริญปกคลุมโคโลนิของรา *R. microporus* หลังจากบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง (28-30 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 30 วัน

Dolar (2001) ทดสอบการเป็นปฏิปักษ์ของรา *A. melleus* ต่อจุลินทรีย์ในดินปลูกที่ก่อโรคกับถั่วลูกไก่ (chickpea) พบว่า *A. melleus* สามารถยับยั้งการเจริญของรา *Fusarium sambucinum*, *F. equiseti*, *Rhizoctonia solani*, *Macrophomina phaseolina*, *F. oxysporum* และ *F. moniliformevuoma* สาเหตุโรครากเน่าและโรคเหี่ยวได้ 52.2, 51.1, 46.6, 46.6, 46.3 และ 42.19% ตามลำดับ ทำให้การเกิดโรคลดลงอย่างมีนัยสำคัญ

Adebola และคณะ (2010) ได้แยกแกร *A. fumigatus*, *A. repens* และ *A. niger* จากฟาร์มปลูกโกโก้ที่เกิดโรค แล้วนำมาคัดเลือกโดยใช้วิธี dual culture เพื่อประเมินศักยภาพการเป็นราปฏิปักษ์ต่อเชื้อ *P. palmivora* สาเหตุโรคผลเน่า (cocoa black pod) ผลการทดสอบพบว่าราปฏิปักษ์มีอัตราการเจริญเร็วกว่าราสาเหตุโรคและสามารถสร้างเขตยับยั้ง (inhibition zone) โดยปล่อยสารชีวภาพควบคุมรา *P. palmivora* บนอาหารวุ้นได้โดย *A. niger* แสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งสูงสุด (54%) และ *A. repens* น้อยสุด (44.59%)

Bosah (2010) ศึกษา 3 ชนิด ได้แก่ *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp. และ *Trichoderma* sp. ที่เป็นปฏิปักษ์ต่อรากก่อโรค *Sclerotium* sp. บนอาหาร PDA โดยทำการทดสอบเมื่อราปฏิปักษ์เจริญบน PDA ทั้งก่อนและหลังการเลี้ยงรา *Sclerotium* sp. 24 ชั่วโมง พบว่า *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp. และ *Trichoderma* sp. มีค่าการยับยั้ง 81.36-80.29%, 88.35-73.12% และ 56.98-46.24% ของทั้งสองการ

ทดลอง ตามลำดับ ผลที่ได้บ่งบอกว่าราทั้งสามชนิดเป็นราปฏิบัติที่มีศักยภาพในการควบคุมการก่อโรคของ *Sclerotium* sp.

วิธีคัดเลือก *Aspergillus* species ที่สร้างสารอะฟลาทอกซิน (aflatoxin)

ราหลายชนิดสามารถสร้างสารพิษ (mycotoxin) ได้ รา *Aspergillus* บางชนิดสร้างสารพิษอะฟลาทอกซิน ซึ่งตั้งชื่อขึ้นตามชื่อของรา *A. flavus* ถูกค้นพบครั้งแรกเมื่อปี ค.ศ. 1961 (Sargeant et al., 1961) รา *Aspergillus* ชนิดที่มีความสำคัญในการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซิน คือ *A. flavus* และ *A. parasiticus* สารพิษดังกล่าวสามารถปนเปื้อนอยู่ในอาหารและดินได้นานเนื่องจากสลายได้ยาก ทำให้เป็นอันตรายต่อสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมสูง

Bothast และ Fennell (1974) ได้พัฒนาอาหารที่เรียกว่า *Aspergillus* Differential Medium (ADM) เพื่อตรวจหา *A. flavus* และราสายพันธุ์ที่ใกล้เคียงที่สร้างสารอะฟลาทอกซิน เช่น *A. parasiticus* และอธิบายว่าสีส้มเหลืองที่ปรากฏด้านหลังโคโลนีเกิดจากไอออนของเฟอร์ริก ซึ่งเป็นส่วนประกอบในอาหาร ADM ไม่กี่ปีต่อมา Sante และคณะ (1981) ได้อธิบายรายละเอียดเพิ่มเติมว่าสีส้มเหลืองเกิดจากปฏิกิริยาของเฟอร์ริกแอมโมเนียมซเตรตซึ่งเป็นส่วนประกอบในอาหารเลี้ยงเชื้อกับกรดแอสเพอร์จิลลิก (aspergillic acid) ที่ *A. flavus* และ *A. parasiticus* สร้างขึ้น

Jefremova และคณะ (2016) ทดสอบการสร้างอะฟลาทอกซินของรา *A. flavus* CCF 139, *A. carbonarius* ITEM 5010 และ *Penicillium citrinum* CCF 1812 บน coconut milk agar (CMA) บ่มที่อุณหภูมิ 30°C เป็นเวลา 3 วัน และตรวจสอบโดยวางราไว้ใต้แสง UV ($\lambda = 365$ นาโนเมตร) พบว่า *A. flavus* CCF 139 ปรากฏวงแหวนเรืองแสงสีเขียวแกมน้ำเงินรอบ ๆ โคโลนี *A. carbonarius* ITEM 5010 สังเกตเห็นวงแหวนเรืองแสงสีเขียวแกมน้ำเงิน ส่วนรา *P. citrinum* CCF 1812 มีวงแหวนเรืองแสงสีเขียวแกมเหลือง แสดงให้เห็นว่าราทั้ง 3 ชนิดที่สร้างสารพิษสามารถตรวจพบบนอาหารเลี้ยงเชื้อ CMA โดยปรากฏวงแหวนเรืองแสงสีน้ำเงินใต้แสง UV และการทดสอบบนอาหาร *Aspergillus* Differentiation Medium Base (ADMB) พบว่า *A. flavus* CCF 139 สร้างสารพิษอะฟลาทอกซิน ซึ่งสังเกตจากด้านหลังโคโลนีเปลี่ยนเป็นสีส้มเหลืองหลังจากบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน

ความสามารถในการสร้างเอนไซม์ไคตินเอส (chitinase)

ไคตินเอสเป็นเอนไซม์ที่มีคุณสมบัติในการย่อยไคติน ซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักของผนังเซลล์รา ทำให้ผนังเซลล์รามีความแข็งแรง (Muzzarelli, 1997) จึงมีการนำเอนไซม์ชนิดนี้มาใช้ควบคุมโรคพืชที่เกิดจากรา โดยเอนไซม์ดังกล่าวไม่มีผลต่อเนื้อเยื่อของพืชเนื่องจากผนังเซลล์พืชไม่มีไคตินเป็นองค์ประกอบ ทำให้ราที่ผลิตไคตินเอสไม่สามารถย่อยเนื้อเยื่อพืชได้แต่สามารถย่อย

ผนังเซลล์ของราที่เป็นสาเหตุโรคพืชได้ วิธีนี้ถือเป็นวิธีที่ได้ผลดีและปลอดภัยต่อสิ่งมีชีวิต จุลินทรีย์บางชนิดสามารถผลิตไคตินเนสได้ เช่น *Trichoderma harzianum* (Ulhoa and Peberdy, 1991), *Streptomyces* spp. และ *Aspergillus* spp. (Wang et al., 1999) เป็นต้น

เอนไซม์ไคตินเนสที่ผลิตจากรา *Aspergillus* เป็นที่รู้จักในการจัดการของเสียชีวภาพที่มีไคตินเป็นองค์ประกอบ โดย Krishnaveni (2014) สามารถแยกรา *A. terreus* CBNRKR KF529976 จากดินทะเลของป่าชายเลน Pichavaram ทางภาคใต้ของประเทศอินเดีย นำมาใช้ในการย่อยสลายนางชีวภาพของเสียวางทะเลที่แตกต่างกัน 4 ชนิด ได้แก่ เปลือกปู เปลือกหอย เปลือกกุ้ง และเกล็ดปลา เพื่อผลิตเอนไซม์ไคตินเนส พบว่าค่ากิจกรรมสูงสุดที่ อุณหภูมิ 50°C เวลา 10 นาที เท่ากับ 4.7, 4.3, 4.2 และ 3.7 หน่วย/นาที ตามลำดับ

Agrawal และ Kotasthane (2012) ทดสอบการสร้างเอนไซม์ไคตินเนสเบื้องต้นด้วยวิธี gel diffusion method บนอาหาร chitinase detection medium พบราที่สร้างเอนไซม์ไคตินเนสได้เปลี่ยนสีอาหารจากสีเหลืองเป็นสีม่วง เนื่องจากไคตินถูกย่อยเป็น N-acetyl glucosamine ทำให้ค่า pH จากภาวะกรดเปลี่ยนไปสู่ภาวะด่าง ส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของสีย้อม bromocresol purple จากสีเหลืองเป็นสีม่วง

Rawway และคณะ (2018) วัดค่ากิจกรรมเอนไซม์ที่ผลิตโดยรา *A. flavus* MK20 โดยวัดปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วย dinitrosalicylic acid (DNS) method ซึ่งใช้ 1% colloidal chitin ใน 50 mM potassium phosphate buffer (KPB) pH 7.0 เป็นสารตั้งต้น (substrate) นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 575 นาโนเมตร เทียบกับกราฟมาตรฐานของ N-acetyl-D-glucosamine พบว่ารา *A. flavus* MK20 มีค่ากิจกรรมเอนไซม์ไคตินเนสสูงสุด 620.5 หน่วย/ลิตร

Brzezinska และคณะ (2012) ได้นำรา *A. niger* LOCK 62 ที่ผลิตเอนไซม์ไคตินเนสสูงสุดโดยใช้สารตั้งต้น colloidal chitin จากเปลือกกุ้ง มายับยั้งการเจริญของรา *F. culmorum*, *F. solani* และ *Rhizoctonia solani* สาเหตุโรคผลเน่าและโรคใบไหม้ของมะเขือเทศ พบว่ามีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งมากกว่า 50%

Sherief และคณะ (1991) ทำการแยกราจากดินเพื่อคัดกรองราที่สร้างเอนไซม์ไคตินเนส พบว่า *A. carneus* สร้างเอนไซม์ไคตินเนสสูงที่ 7 วัน การใช้ไคตินเป็นแหล่งคาร์บอนให้ค่าการย่อยไคติน (chitinolysis) สูงสุด และมีกิจกรรมของเอนไซม์สูงสุดที่ pH 4.5 อุณหภูมิ 40°C

วัตถุประสงค์

1. เพื่อทราบชนิดและอธิบายลักษณะทางสัณฐานวิทยาของรา *Aspergillus* species ที่แยกได้จากดินในภาคใต้ของประเทศไทย
2. เพื่อให้ได้สายพันธุ์รา *Aspergillus* species ที่มีคุณสมบัติในการสร้างเอนไซม์โคติเนส

บทที่ 2

วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการ

วิธีการทดลอง

การทดลองที่ 1 การเก็บตัวอย่างดิน

สุ่มเก็บตัวอย่างดินในพื้นที่จังหวัดภาคใต้ระหว่างเดือนสิงหาคมปี พ.ศ. 2561 ถึงเดือนมกราคมปี พ.ศ. 2562 บริเวณที่มีต้นไม้อุดมสมบูรณ์ โดยใช้อุปกรณ์ขุดดิน (soil probe) ขุดดินลึก 15 เซนติเมตร จำนวน 5 ตำแหน่งรอบ ๆ ต้นไม้ นำมาผสมรวมกันให้ได้ประมาณ 500–1,000 กรัม ต่อหนึ่งพื้นที่ ใส่ในถุงซิปล็อคเก็บไว้ในที่อุณหภูมิ 10°C

การทดลองที่ 2 การแยกจากดินและคัดเลือก *Aspergillus* ที่ไม่สร้างสารพิษ

นำดิน 10 กรัม ผสมกับน้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อ 90 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นเจือจางลำดับส่วน 10 fold serial dilution คูณดินแขวนลอยปริมาตร 1 มิลลิลิตร ที่ระดับความเข้มข้น 10^{-2} ถึง 10^{-5} ใส่ลงเพลท จากนั้นเทอาหาร potato dextrose agar (PDA; มันฝรั่ง 200 กรัม น้ำตาล 20 กรัม วุ้น 20 กรัม น้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร) ลงไปผสมให้เข้ากันบ่มที่อุณหภูมิห้อง (25–30 °C) เป็นเวลา 3–7 วัน เลือกความเข้มข้นที่เชื้อเจริญเป็นโคโลนีเดี่ยวส่งใต้กล้องเตอริโอ (stereo รุ่น S8APO บริษัท Leica Microsystems) ใช้เข็มเขี่ยรา *Aspergillus* spp. นำมาเลี้ยงบนอาหาร Aspergillus Differentiation Medium Base (ADMB, HiMedia) เพื่อคัดแยก *Aspergillus* spp. ไอโซเลตที่สร้างสารอะฟลาทอกซินออก ส่วนไอโซเลตที่เหลือนำมาเลี้ยงบนอาหาร PDA บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3–7 วัน ก่อนนำไปทำการทดลองถัดไป

การทดลองที่ 3 การแยกทำให้บริสุทธิ์

นำรา *Aspergillus* ที่ไม่สร้างสารอะฟลาทอกซินจากการทดลองที่ 2 มาเจือจางลำดับส่วน 10 fold serial dilution คูณดินแขวนลอยปริมาตร 1 มิลลิลิตร ที่ระดับความเข้มข้น 10^{-5} มาสตรีคบนอาหาร PDA เป็นเวลา 1–2 วัน ตัดเส้นใยที่งอก (germinate) จากโคโลนีเดี่ยวภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (รุ่น DM750 บริษัท Leica Microsystems) มาเลี้ยงบนอาหาร PDA บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง 24–48 ชั่วโมง จากนั้นตัดปลายเส้นใย (hyphal tip) ที่เจริญภายใต้กล้องเตอริโอ มาเลี้ยงบนอาหาร PDA บ่มที่อุณหภูมิห้องเพื่อให้ได้ราที่เจริญมาจากสปอร์เพียงสปอร์เดียว ซึ่งมีพันธุกรรมเดียวกัน

การทดลองที่ 4 การระบุชนิดด้วยวิธีทางสัณฐานวิทยา

เลี้ยงรา *Aspergillus* spp. บนอาหาร PDA 4–7 วัน (ขึ้นอยู่กับชนิดของรา) นำมาจำแนกลักษณะทางสัณฐานวิทยาใต้กล้องจุลทรรศน์ โดยใช้ลักษณะของ โคนิเดียขนาดของโคนิเดีย โฟอะไลด์ ขนาดของเวสซิกเคิล สีของ conidial head รวมทั้งลักษณะของโคโลนี สีของโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ เพื่อบ่งชี้ชนิดโดยเปรียบเทียบกับคู่มือการจำแนกราของ Houbraken และคณะ (2020)

การทดลองที่ 5 การระบุชนิดด้วยวิธีทางชีวโมเลกุล

สกัด DNA จากเส้นใยรา *Aspergillus* อายุ 2–3 วัน ตามวิธีของ Saitoh และคณะ (2006) โดยนำเส้นใยราใส่ในหลอด microtube ขนาด 1.5 มิลลิลิตร เติม lysis buffer (200mM Tris-HCl, 50mM ethylenediaminetetraacetic acid, 200mM NaCl, 1% N-lauroylsarcosine sodium salt, pH 8.0) 500 ไมโครลิตร บ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 15–20 นาที เมื่อครบเวลานำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่อง microcentrifuge (Sigma 3-16KL, Germany) ที่ความเร็ว 12,000 รอบ/นาที อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 5 นาที คูดส่วนใส (supernatant) 300 ไมโครลิตร ใส่ในหลอดใหม่จากนั้นเติม absolute ethanol 750 ไมโครลิตร นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 12,000 รอบ/นาที อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 2 นาที เทส่วนใสทิ้งจากนั้นเติม 70% ethanol 750 ไมโครลิตร อีกครั้ง นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 12,000 รอบ/นาที ที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 5 นาที เทส่วนใสทิ้ง ตากให้แห้งข้ามคืน จากนั้นเติม Dnase-free water 21 ไมโครลิตร ก่อนนำมาตรวจหา DNA โดยวิธีเจลอิเล็กโทรโฟเรซิส (gel electrophoresis) บน 1% อะกาโรสเจล (agarose gel) ที่กระแสไฟฟ้า 100 โวลต์ เป็นเวลา 25 นาที แล้วนำไปตรวจสอบภายใต้แสงยูวีด้วยเครื่อง UV transilluminator (Genedirek, Taiwan)

เพิ่มปริมาณ DNA โดยใช้เทคนิค PCR (polymerase chain reaction) ที่ตำแหน่ง internal transcribed spacer (ITS1-5.8-ITS2) ด้วยคู่ไพรเมอร์ ITS1/ITS4 (White *et al.*, 1990) และยีน calmodulin (*CaM*) ด้วยคู่ไพรเมอร์ Cmd5/Cmd6 (Peterson *et al.*, 2008) โดยปฏิกิริยาทั้งหมด 25 ไมโครลิตร ประกอบด้วย DNA 2 ไมโครลิตร forward primer 1 ไมโครลิตร reverse primer 1 ไมโครลิตร PCR master mix (DreamTag Green, Thermo Scientific) 12.5 ไมโครลิตร Rnase-free water 8.5 ไมโครลิตร นำหลอด PCR ใส่เครื่อง thermal cycler (BIO-RAD T100TM, USA) ตั้งเวลาและอุณหภูมิ ดังนี้ predenaturation ที่อุณหภูมิ 95 °C เป็นเวลา 3 นาที 1 รอบ ตามด้วย denaturation ที่อุณหภูมิ 95 °C เป็นเวลา 30 วินาที annealing ที่อุณหภูมิ 55 °C เป็นเวลา 5 นาที Extension ที่อุณหภูมิ 72 °C เป็นเวลา 1 นาที จำนวน 35 รอบ และ final extension 72 °C เป็นเวลา 5 นาที ตรวจสอบ PCR product โดยวิธีเจลอิเล็กโทรโฟเรซิส ส่ง PCR product ไปยังบริษัท Macrogen

(ประเทศเกาหลีใต้) เพื่อหาลำดับนิวคลีโอไทด์ (nucleotide) นำลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้รับมาเทียบหาชนิดของราใน GenBank โดยใช้โปรแกรม Nucleotide BLAST (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>)

การทดลองที่ 6 การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ

นำลำดับนิวคลีโอไทด์ของตัวแทนราสกุล *Aspergillus* spp. ที่ได้จากการทดลอง และจากฐานข้อมูล GenBank (ตารางที่ 3) มาจัดเรียง (multiple sequence alignment) ด้วยโปรแกรม Clustal W (Thompson *et al.*, 1994) และตรวจสอบผลที่ได้อีกครั้งด้วยโปรแกรม BioEdit (Noth Carolina State University, U.S.A., Hall, 1999) วิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ ด้วยวิธี maximum Likelihood (ML) (Tamura *et al.*, 2011) และ maximum parsimony (Swofford, 2003) โดยใช้โปรแกรม MEGA-X (Kumar *et al.*, 2018) กำหนดค่า bootstrap ให้เท่ากับ 1,000 จากนั้นนำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการร่วมกับลักษณะทางสัณฐานวิทยาเพื่อใช้ในการจัดจำแนกต่อไป

ตารางที่ 3 NCBI GenBank accessions ของรา *Aspergillus* species ที่ใช้สร้างแผนภูมิวิวัฒนาการ

Taxon	Section	สายพันธุ์ (strain)	GenBank accession	
			ITS	CaM
<i>A. aculeatinus</i>	<i>Nigri</i>	CBS 121060	EU159211	EU159241
<i>A. aculeatus</i>	<i>Nigri</i>	CBS 172.66	EF661221	EF661148
<i>A. assiutensis</i>	<i>Nigri</i>	CBS 132773	JN393254	n.a
<i>A. brasiliensis</i>	<i>Nigri</i>	CBS 101740	FJ629321	FN594543
<i>A. brunneoviolaceus</i>	<i>Nigri</i>	CBS 621.78	AJ280003	EF661147
<i>A. carbonarius</i>	<i>Nigri</i>	CBS 111.26	EF661204	EF661167
<i>A. costaricensis</i>	<i>Nigri</i>	CBS 115574	DQ900602	FN594545
<i>A. crassihyphae</i>	<i>Nigri</i>	unknown	n.a.	n.a.
<i>A. ellipsoideus</i>	<i>Nigri</i>	unknown	n.a.	n.a.
<i>A. ellipticus</i>	<i>Nigri</i>	CBS 482.65	EF661194	EF661170
<i>A. eucalypticola</i>	<i>Nigri</i>	CBS 122712	EU482439	EU482433
<i>A. floridensis</i>	<i>Nigri</i>	DTO 198-A8	MN431366	HE984429
<i>A. heteromorphus</i>	<i>Nigri</i>	CBS 117.55	EU821305	EF661169
<i>A. homomorphus</i>	<i>Nigri</i>	CBS 101889	EF166063	FN594549
<i>A. ibericus</i>	<i>Nigri</i>	NRRL 35644	EF661200	EF661163

ตารางที่ 3 (ต่อ)

Taxon	Section	สายพันธุ์ (strain)	GenBank accession	
			ITS	CaM
<i>A. indologenus</i>	<i>Nigri</i>	CBS 114.80	AJ280005	AM419750
<i>A. japonicus</i>	<i>Nigri</i>	CBS 114.51	AJ279985	FN594551
<i>A. labruscus</i>	<i>Nigri</i>	DTO 357-D4	KU708544	KT986008
<i>A. luchuensis</i>	<i>Nigri</i>	CBS 205.80	JX500081	JX500071
<i>A. neoniger</i>	<i>Nigri</i>	CBS 115656	FJ491682	FJ491700
<i>A. niger</i>	<i>Nigri</i>	CBS 554.65	EF661186	EF661154
<i>A. piperis</i>	<i>Nigri</i>	CBS 112811	EU821316	EU163267
<i>A. saccharolyticus</i>	<i>Nigri</i>	CBS 127449	HM853552	HM853554
<i>A. sclerotiiicarbonarius</i>	<i>Nigri</i>	CBS 121057	EU159216	EU159235
<i>A. sclerotioniger</i>	<i>Nigri</i>	CBS 115572	DQ900606	FN594557
<i>A. serratalhadensis</i>	<i>Nigri</i>	URM 7866	MH169127	LT993223
<i>A. trinidadensis</i>	<i>Nigri</i>	DTO 198-D1	MN431380	HE984434
<i>A. turingensis</i>	<i>Nigri</i>	NRRL 4875	EF661193	EF661151
<i>A. uvarum</i>	<i>Nigri</i>	CBS 121591	AM745757	AM745755
<i>A. vadensis</i>	<i>Nigri</i>	CBS 113365	AY585549	FN594560
<i>A. welwitschiae</i>	<i>Nigri</i>	CBS 139.54.	FJ629340	KC480196
<i>A. alabamensis</i>	<i>Terrei</i>	CBS 125693	KP987071	EU147583
<i>A. allahabadii</i>	<i>Terrei</i>	CBS 164.63	EF669601	EF669559
<i>A. ambiguus</i>	<i>Terrei</i>	CBS 117.58	EF669606	EF669564
<i>A. aureoterreus</i>	<i>Terrei</i>	CBS 503.65	EF669580	EF669538
<i>A. bicephalus</i>	<i>Terrei</i>	CBS 142900	LT601380	LT601382
<i>A. carneus</i>	<i>Terrei</i>	CBS 494.65	EF669611	EF669569
<i>A. citrinoterreus</i>	<i>Terrei</i>	CBS 138921	KP175260	LN680685
<i>A. floccosus</i>	<i>Terrei</i>	CBS 116.37	KP987086	KP987066
<i>A. heldtia</i>	<i>Terrei</i>	PPRI 4229	MK450656	MK451518
<i>A. hortae</i>	<i>Terrei</i>	CBS 124230	KP987087	KP987054
<i>A. iranicus</i>	<i>Terrei</i>	CCTU 756	KP987077	KP987060
<i>A. microcysticus</i>	<i>Terrei</i>	CBS 120.58	EF669607	EF669565
<i>A. neoafricanus</i>	<i>Terrei</i>	CBS 130.55	EF669585	EF669543

ตารางที่ 3 (ต่อ)

Taxon	Section	สายพันธุ์ (strain)	GenBank accession	
			ITS	CaM
<i>A. neoindicus</i>	<i>Terrei</i>	CBS 444.75	EF669616	EF669574
<i>A. niveus</i>	<i>Terrei</i>	CBS 115.27	EF669615	EF669573
<i>A. pseudoterreus</i>	<i>Terrei</i>	CBS 123890	EF669598	EF669556
<i>A. terreus</i>	<i>Terrei</i>	CBS 601.65	EF669586	EF669544
<i>A. aflatoxiformans</i>	<i>Flavi</i>	CBS 143679	MG662388	MG518076
<i>A. alliaceus</i>	<i>Flavi</i>	CBS 536.65	EF661551	EF661534
<i>A. arachidicola</i>	<i>Flavi</i>	CBS 117610	MF668184	EF202049
<i>A. ardalensis</i>	<i>Flavi</i>	CCF 4031	FR733808	HG916725
<i>A. aspearensis</i>	<i>Flavi</i>	CBS 143672	MG662398	MG518040
<i>A. austwickii</i>	<i>Flavi</i>	CBS 143677	MG662391	MG518072
<i>A. avenaceus</i>	<i>Flavi</i>	CBS 109.46	AF104446	FJ491496
<i>A. bertholletiae</i>	<i>Flavi</i>	DTO 223-D3	JX198673	MN969224
<i>A. caelatus</i>	<i>Flavi</i>	DTO 046-A8	AF004930	EF661522
<i>A. capensis</i>	<i>Flavi</i>	CBS 138188	KJ775550	KJ775279
<i>A. cerealis</i>	<i>Flavi</i>	CBS 143674	MG662394	MG518063
<i>A. coremiiformis</i>	<i>Flavi</i>	CBS 553.77	EF661544	EU014112
<i>A. flavipes</i>	<i>Flavi</i>	NRRL 302	EF669591	EF669549
<i>A. flavus</i>	<i>Flavi</i>	CBS 569.65	AF027863	EF661508
<i>A. hancockii</i>	<i>Flavi</i>	CBS 142004	KX858342	MBFL01000377
<i>A. iizukae</i>	<i>Flavi</i>	CBS 541.69	EF669597	EF669555
<i>A. krugeri</i>	<i>Flavi</i>	PPRI 8986	MK450655	MK451517
<i>A. lanosus</i>	<i>Flavi</i>	CBS 650.74	EF661553	MG518017
<i>A. leporis</i>	<i>Flavi</i>	CBS 151.66	AF104443	EF661541
<i>A. luteovirescens</i>	<i>Flavi</i>	CBS 620.95	MG662406	MG517998
<i>A. magaliesburgensis</i>	<i>Flavi</i>	PPRI 6165	MK450649	MK451511
<i>A. minisclerotigenes</i>	<i>Flavi</i>	CBS 117635	EF409239	MG518009
<i>A. mottae</i>	<i>Flavi</i>	CBS 130016	JF412767	MG518058
<i>A. movilensis</i>	<i>Flavi</i>	CBS 134395	KP987089	HG916740
<i>A. neoalliaceus</i>	<i>Flavi</i>	CBS 143681	MH279420	MG518133

ตารางที่ 3 (ต่อ)

Taxon	Section	สายพันธุ์ (strain)	GenBank accession	
			ITS	CaM
<i>A. nomiae</i>	<i>Flavi</i>	CBS 260.88	AF027860	AY017588
<i>A. novoparasiticus</i>	<i>Flavi</i>	CBS 126849	MG662397	MG518055
<i>A. oryzae</i>	<i>Flavi</i>	CBS 100925	EF661560	EF661506
<i>A. parasiticus</i>	<i>Flavi</i>	CBS 100926	AY373859	AY017584
<i>A. pipericola</i>	<i>Flavi</i>	CBS 143680	MG662385	MG518087
<i>A. pseudocaelatus</i>	<i>Flavi</i>	CBS 117616	EF409242	MG517995
<i>A. pseudonomiae</i>	<i>Flavi</i>	CBS 119388	AF338643	EF661529
<i>A. pseudotamarii</i>	<i>Flavi</i>	CBS 766.97	AF272574	EF202030
<i>A. sergii</i>	<i>Flavi</i>	CBS 130017	JF412769	MG518059
<i>A. sojae</i>	<i>Flavi</i>	CBS 100928	KJ175434	KJ175550
<i>A. subflavus</i>	<i>Flavi</i>	CBS 143683	MH279429	MG518143
<i>A. tamarii</i>	<i>Flavi</i>	CBS 104.13	AF004929	EF661526
<i>A. togoensis</i>	<i>Flavi</i>	CBS 205.75	MN431379	FJ491489
<i>A. transmontanensis</i>	<i>Flavi</i>	CBS 130015	JF412774	HM803020
<i>A. vandermerwei</i>	<i>Flavi</i>	CBS 612.78	EF661567	EF661540
<i>A. ardalensis</i>	<i>Flavipedes</i>	CCF 4031	FR733808	HG916725
<i>A. capensis</i>	<i>Flavipedes</i>	CBS 138188	KJ775550	KJ775279
<i>A. flavipes</i>	<i>Flavipedes</i>	NRRL 302	EF669591	EF669549
<i>A. iizukae</i>	<i>Flavipedes</i>	CBS 541.69	EF669597	EF669555
<i>A. luppiae</i>	<i>Flavipedes</i>	CBS 653.74	EF669617	EF669575
<i>A. micronesiensis</i>	<i>Flavipedes</i>	CBS 138183	KJ775548	KP987067
<i>A. movilensis</i>	<i>Flavipedes</i>	CBS 134395	KP987089	HG916740
<i>A. neoflavipes</i>	<i>Flavipedes</i>	CBS 260.73	EF669614	EF669572
<i>A. neoniveus</i>	<i>Flavipedes</i>	CBS 261.73	EF669612	EF669570
<i>A. olivimuriae</i>	<i>Flavipedes</i>	NRRL 66783	MH298877	MH492011
<i>A. polyporicola</i>	<i>Flavipedes</i>	NRRL 32683	EF669595	EF669553
<i>A. spelaeus</i>	<i>Flavipedes</i>	CBS 134371	HG915905	HG916741
<i>A. suttoniae</i>	<i>Flavipedes</i>	FMR 13523.	LT899487	LT899589
<i>A. templicola</i>	<i>Flavipedes</i>	CBS 138181	KJ775545	KJ775394

ตารางที่ 3 (ต่อ)

Taxon	Section	สายพันธุ์ (strain)	GenBank accession	
			ITS	CaM
<i>A. urmiensis</i>	<i>Flavipedes</i>	CBS139558	KP987073	KP987056
<i>A. amethystinus</i>	<i>Nidulantes</i>	NRRL 4178	EF652462	EF652374
<i>A. amoenus</i>	<i>Nidulantes</i>	CBS 111.32	EF652480	JN854035
<i>A. angustatus</i>	<i>Nidulantes</i>	CBS 273.65	EU448283	EU443984
<i>A. askiburgiensis</i>	<i>Nidulantes</i>	CBS 134374	LN873939	LN873965
<i>A. asperescens</i>	<i>Nidulantes</i>	CBS 110.51	EF652475	EF652387
<i>A. astellatus</i>	<i>Nidulantes</i>	CBS 134.55	EF652446	EF652358
<i>A. aurantiobrunneus</i>	<i>Nidulantes</i>	CBS 465.65	EF652465	EF652377
<i>A. aurantiopurpureus</i>	<i>Nidulantes</i>	CBS 140608	KU866588	KU866711
<i>A. aureolatus</i>	<i>Nidulantes</i>	CBS 190.65	EF652501	EF652413
<i>A. austroafricanus</i>	<i>Nidulantes</i>	CBS 145748	JQ301891	JN854025
<i>A. botswanensis</i>	<i>Nidulantes</i>	CBS 314.89	KU866572	KU866695
<i>A. caespitosus</i>	<i>Nidulantes</i>	CBS 103.45	EF652428	EF652340
<i>A. corrugatus</i>	<i>Nidulantes</i>	CBS 191.77	KU866574	MN969228
<i>A. creber</i>	<i>Nidulantes</i>	CBS 145749	JQ301889	JN854043
<i>A. croceiaffinis</i>	<i>Nidulantes</i>	CCF 6035	MK713538	MK695656
<i>A. croceus</i>	<i>Nidulantes</i>	CBS 134396	LN873931	LN873957
<i>A. cvjetkovicii</i>	<i>Nidulantes</i>	CBS 599.65.	EF652440	EF652352
<i>A. desertorum</i>	<i>Nidulantes</i>	CBS 653.73	EF652505	EF652417
<i>A. dipodomyus</i>	<i>Nidulantes</i>	CCF 5265	MK713535	MK695653
<i>A. dromiae</i>	<i>Nidulantes</i>	CBS 140633	KU866580	KU866703
<i>A. falconensis</i>	<i>Nidulantes</i>	CBS 271.91	KU866575	KU866697
<i>A. filifer</i>	<i>Nidulantes</i>	CBS 113636	EU448277	EU443973
<i>A. foveolatus</i>	<i>Nidulantes</i>	CBS 279.81	KX423658	MN969229
<i>A. fructus</i>	<i>Nidulantes</i>	NRRL 239	EF652449	EF652361
<i>A. fruticosus</i>	<i>Nidulantes</i>	CBS 486.65	EF652483	EF652395
<i>A. griseoaurantiacus</i>	<i>Nidulantes</i>	CBS 138191	KJ775553	KJ775357
<i>A. hongkongensis</i>	<i>Nidulantes</i>	CBS 145671	AB987907	MN969320
<i>A. israelensis</i>	<i>Nidulantes</i>	CBS 140627	KU866677	KU866797

ตารางที่ 3 (ต่อ)

Taxon	Section	สายพันธุ์ (strain)	GenBank accession	
			ITS	CaM
<i>A. jaipurensis</i>	<i>Nidulantes</i>	CBS 952.97	MN431371	KU866761
<i>A. jensenii</i>	<i>Nidulantes</i>	NRRL 58600	JQ301892	JN854046
<i>A. latilabiatus</i>	<i>Nidulantes</i>	CBS 426.93	KU866624	KU866762
<i>A. longistipitatus</i>	<i>Nidulantes</i>	CCF 5788	MK713534	MK695652
<i>A. miraensis</i>	<i>Nidulantes</i>	CGMCC 3.14984	KU866642	KU866780
<i>A. multicolor</i>	<i>Nidulantes</i>	CBS 133.54	EF652477	EF652389
<i>A. mulundensis</i>	<i>Nidulantes</i>	DTO 316-C9	KP985732	KP985734
<i>A. navahoensis</i>	<i>Nidulantes</i>	CBS 351.81	EF652424	EF652336
<i>A. nidulans</i>	<i>Nidulantes</i>	CBS 589.65	EF652427	EF652339
<i>A. olivicola</i>	<i>Nidulantes</i>	CBS 119.37	EU448268	EU443986
<i>A. omanensis</i>	<i>Nidulantes</i>	IFM 54275	n.a.	AB524047
<i>A. pachycristatus</i>	<i>Nidulantes</i>	IFM 55265	n.a.	AB524062
<i>A. pepii</i>	<i>Nidulantes</i>	CBS 142028	KU613368	KU613365
<i>A. pluriseminatus</i>	<i>Nidulantes</i>	CBS 100523	KU866566	EU443988
<i>A. protuberus</i>	<i>Nidulantes</i>	CBS 602.74	EF652460	EF652372
<i>A. purpureocrustaceus</i>	<i>Nidulantes</i>	PPRI 3840	MK450653	MK451515
<i>A. purpureus</i>	<i>Nidulantes</i>	CBS 754.74	EF652506	EF652418
<i>A. qinqixianii</i>	<i>Nidulantes</i>	IFM 55020	KU866980	AB524051
<i>A. rugulosus</i>	<i>Nidulantes</i>	CBS 133.60	EF652434	EF652346
<i>A. savannensis</i>	<i>Nidulantes</i>	CBS 140607	KU866581	KU866704
<i>A. spelunceus</i>	<i>Nidulantes</i>	CBS 497.65	EF652490	EF652402
<i>A. spinulosporus</i>	<i>Nidulantes</i>	CBS 120.55	EF652445	EF652357
<i>A. stella-maris</i>	<i>Nidulantes</i>	CBS 113638	EU448269	EU443978
<i>A. stellatus</i>	<i>Nidulantes</i>	CBS 598.65	EF652426	EF652338
<i>A. stelliformis</i>	<i>Nidulantes</i>	CCF 5375	MK713531	MK695649
<i>A. stercorarius</i>	<i>Nidulantes</i>	CBS 428.93	KU866625	KU866763
<i>A. striatus</i>	<i>Nidulantes</i>	CBS 283.67	EF652470	EF652382
<i>A. subblatus</i>	<i>Nidulantes</i>	CBS 140630	KU866683	KU866804
<i>A. subversicolor</i>	<i>Nidulantes</i>	CBS 145751	JQ301894	JN854010

ตารางที่ 3 (ต่อ)

Taxon	Section	สายพันธุ์ (strain)	GenBank accession	
			ITS	CaM
<i>A. sulphureoviridis</i>	<i>Nidulantes</i>	CBS 140626	KU866673	KU866793
<i>A. sydowii</i>	<i>Nidulantes</i>	CBS 593.65	EF652450	EF652362
<i>A. tabacinus</i>	<i>Nidulantes</i>	CBS 122718	EF652478	EF652390
<i>A. tennesseensis</i>	<i>Nidulantes</i>	CBS 145752	JQ301895	JN854017
<i>A. tumidus</i>	<i>Nidulantes</i>	FMR 15743	LT903691	LT903685
<i>A. undulatus</i>	<i>Nidulantes</i>	CBS 261.88	EU448275	EU443989
<i>A. unguis</i>	<i>Nidulantes</i>	CBS 132.55	EF652443	EF652355
<i>A. varians</i>	<i>Nidulantes</i>	CBS 505.65	EF652479	EF652391
<i>A. venenatus</i>	<i>Nidulantes</i>	CBS 145753	JQ301896	JN854014
<i>A. venezuelensis</i>	<i>Nidulantes</i>	CBS 868.97	AJ874119	EU443977
<i>A. versicolor</i>	<i>Nidulantes</i>	CBS 583.65	EF652442	EF652354
<i>A. violaceus</i>	<i>Nidulantes</i>	CBS 138.55	EF652438	EF652350
<i>A. viridicatenatus</i>	<i>Nidulantes</i>	CBS140629	KU866682	KU866802

n.a. = ไม่มีข้อมูล

การทดลองที่ 7 การทดสอบการสร้างเอนไซม์ไคตินเนส

เตรียม colloidal chitin โดยดัดแปลงจากวิธีการของ Roberts and Selitrennikoff (1988) ใช้ผงไคตินสำเร็จรูป (HiMedia, ประเทศอินเดีย 10 กรัม ละลายในกรดไฮโดรคลอริก (HCl) 200 มิลลิลิตร ที่เติม acetone 20 มิลลิลิตร ใส่บีกเกอร์ที่แช่ในอ่างน้ำแข็ง ใช้แท่งแก้วคนจนไคตินละลาย (2 ชั่วโมง) บ่มไว้ข้ามคืน กรองผ่านผ้าขาวบาง 3–4 ชั้น ลงในบีกเกอร์ที่มี 50% ethanol พร้อมทั้งคนให้เข้ากันรอให้ตกตะกอน จากนั้นเทส่วนใสที่เติมน้ำกลั่นล้างจนกว่าสารละลายมีค่า pH ประมาณ 7.0 แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 8,000 รอบ/นาที นาน 10 นาที ได้ colloidal chitin ที่มีสีครีมเนื้อเนียนเหมือนคัสตาร์ด เก็บใส่ขวดแล้วนำไปฆ่าเชื้อด้วย autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที เก็บในตู้เย็น (10–12°C) เพื่อใช้ในการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อต่อไป

ทดสอบการสร้างเอนไซม์ไคตินเนสเบื้องต้น ด้วย gel diffusion method บนอาหาร chitinase detection medium (MgSO₄·7H₂O 0.3 กรัม (NH₄)₂SO₄ 3.0 กรัม KH₂PO₄ 2.0 กรัม citric acid monohydrate 1.0 กรัม ผงวุ้น 15 กรัม tween80 200 ไมโครลิตร colloidal chitin 4.5 กรัม

bromocresol purple 0.15 กรัม และน้ำ 1 ลิตร) ปรับ pH ให้ได้ 4.7 (Agrawal and Kotasthane, 2012) เจาะเส้นใยบริเวณขอบโคโลนีของรา *Aspergillus* sp. อายุ 3 วันด้วย cock borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร ย้ายชิ้นวุ้นวางลงบนจุดกึ่งกลางของจานอาหารสำหรับทดสอบการสร้างเอนไซม์ไคติเนส บ่มที่อุณหภูมิห้อง รา *Aspergillus* spp. ที่สร้างเอนไซม์ไคติเนสสามารถเปลี่ยนสีของอาหารจากสีเหลืองเป็นสีม่วงรอบโคโลนี สังเกตและบันทึกผลหลังจากการบ่มเชื้อที่ 1-14 วัน

การทดลองที่ 8 การคัดกรองรา *Aspergillus* spp. ละลายฟอสเฟต

คัดเลือกรา *Aspergillus* ที่แยกได้จากดินในจังหวัดยะลาชนิดละ 1 ไอโซเลต มาทดสอบการละลายฟอสเฟต โดยใช้ cock borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร เจาะขอบโคโลนีของรา *Aspergillus* sp. ที่มีอายุ 7 วันบนอาหาร PDA มาวางลงบนจุดกึ่งกลางของจานอาหาร Pikovskaya's medium (PVK, HiMedia) บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 5-7 วัน วัดรัศมีของวงใสและรัศมีของโคโลนีเพื่อนำมาคำนวณหาค่า Halo: Colony ratio ดังนี้ $\text{Halo : Colony ratio} = (\text{Colony diameter} + \text{Halo zone diameter}) / \text{Colony diameter}$ (Premono *et al.*, 1996)

บทที่ 3

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การเก็บตัวอย่างดินและการแยกแยะรา *Aspergillus species*

ตัวอย่างดิน 14 จังหวัดภาคใต้ของประเทศไทย จำนวน 14 ตัวอย่าง สามารถแยกแยะรา *Aspergillus species* ได้ทั้งหมด 106 ไอโซเลต (ตารางที่ 4) ตัวอย่างดินของจังหวัดนราธิวาสสามารถแยกแยะรา *Aspergillus species* ได้มากที่สุด (12 ไอโซเลต) การศึกษาในครั้งนี้มีข้อสังเกตว่า จำนวนเชื้อที่ได้จากแต่ละตัวอย่างดินขึ้นอยู่กับลักษณะตัวอย่างดิน โดยดินที่มีลักษณะแห้งปนทรายหรือดินเหนียวสีแดงพบรา *Aspergillus species* ได้น้อยกว่าดินลักษณะร่วนสีดำน้ำตาล ซึ่งอาจเป็นปัจจัยที่มีผลต่อปริมาณเชื้อในดิน เนื่องจาก Drott และคณะ (2017) กล่าวว่าดินเป็นที่อยู่โดยธรรมชาติของรา *Aspergillus species* และการเจริญของราขึ้นอยู่กับองค์ประกอบทางเคมีของดิน ความเป็นกรดด่าง (pH) สารอาหาร และน้ำ อย่างไรก็ตามการทดลองนี้ ไม่ได้วัดชนิดและปริมาณธาตุอาหารในดิน และไม่ได้ศึกษาความหลากหลาย (diversity) ของรา *Aspergillus species* จึงไม่ได้หาความสัมพันธ์ระหว่างราสกุลนี้กับสถานที่เก็บตัวอย่างดิน งานวิจัยนี้ต้องการเก็บรวบรวมรา *Aspergillus species* เพื่อนำมาระบุชนิดและคัดเลือกสายพันธุ์ที่สร้างเอนไซม์ไคตินเอสเปอติงต้นเท่านั้น

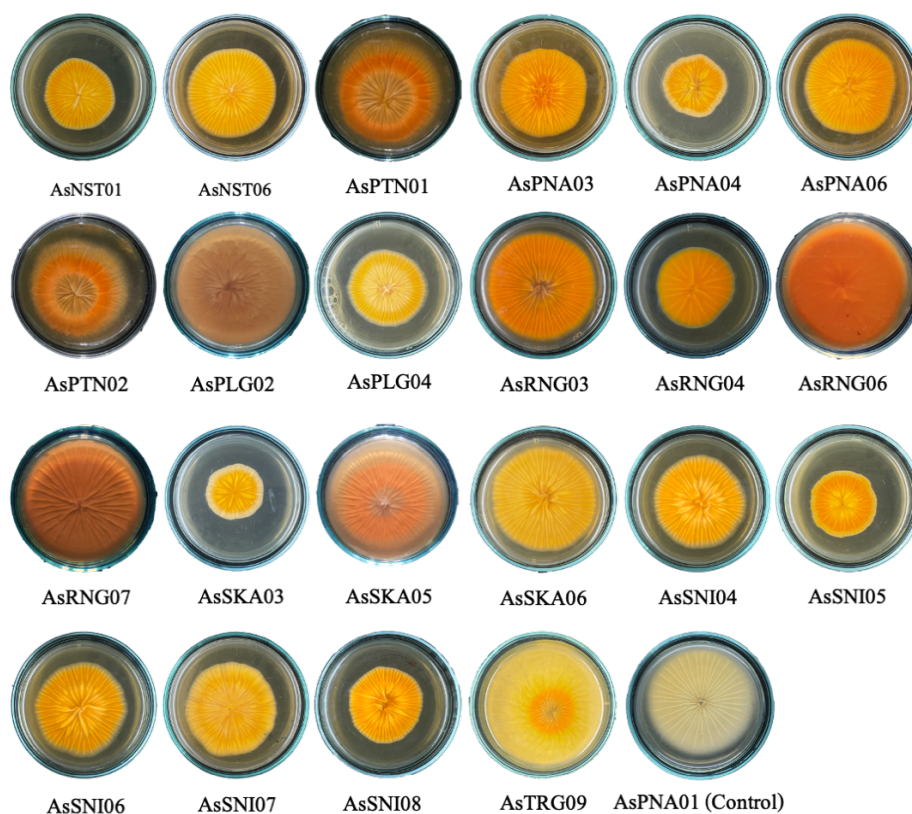
ตารางที่ 4 ตำแหน่งเก็บตัวอย่างดินและจำนวนรา *Aspergillus species* ที่แยกได้จากดิน

จังหวัด	พิกัดภูมิศาสตร์			จำนวน (ไอโซเลต)
	ละติจูด	ลองจิจูด	ชื่อย่อไอโซเลต	
กระบี่	8°01'49.0"N	98°49'42.7"E	AsKBI	7
ชุมพร	10°29'37.9"N	98°56'47.8"E	AsCPN	8
ตรัง	7°24'18.5"N	99°31'12.8"E	AsTRG	11
นครศรีธรรมราช	9°07'28.0"N	99°53'05.6"E	AsNST	7
นราธิวาส	6°27'46.4"N	101°46'58.6"E	AsNWT	12
ปัตตานี	6°45'21.1"N	101°05'23.1"E	AsPTN	5
พังงา	9°18'07.1"N	98°24'51.6"E	AsPNA	5
พัทลุง	7°43'51.6"N	100°08'53.9"E	AsPLG	6
ภูเก็ต	7°56'00.8"N	98°19'22.9"E	AsPKT	6
ยะลา	6°40'34"N	101°17'13"E	AsYLA	5
ระนอง	10°00'57.0"N	98°36'59.3"E	AsRNG	7
สงขลา	7°00'25.6"N	100°30'32.3"E	AsSKA	9
สตูล	6°45'48.1"N	100°03'50.6"E	AsSTN	9
สุราษฎร์ธานี	9°07'11.3"N	99°13'19.1"E	AsSNI	9
รวม				106

การคัดเลือกรา *Aspergillus* ที่ไม่สร้างสารพิษ

จากการทดสอบการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินเบื้องต้นของรา *Aspergillus* species ทั้งหมด 106 ไอโซเลต พบรา *Aspergillus* species จำนวน 22 ไอโซเลต สร้างอะฟลาทอกซิน โดยเกิดการเปลี่ยนสีของอาหาร ADMB จากสีเหลืองเป็นสีส้มบริเวณใต้และรอบโคโลนี (ภาพที่ 6) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Jefremova และคณะ (2016) ได้รายงานว่ารา *A. flavus* และ *A. parasiticus* มีความไวในการเปลี่ยนสีของอาหาร ADMB สามารถเปลี่ยนสีอาหารเป็นสีส้ม ได้ในเวลา 3 วัน เมื่อป้อนที่อุณหภูมิ 30°C สีส้มเหลืองเกิดจากปฏิกิริยาของเฟอร์ริกแอมโมเนียมซัลเฟตกับกรดแอสเพอร์จิลลิกที่ *A. flavus* และ *A. parasiticus* สร้างขึ้น ก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงค่า pH เป็นภาวะกรด ยิ่งมีภาวะกรดมากก็ส่งผลให้เกิดสีส้มได้โคโลนีได้ชัดมาก

คัดรา *Aspergillus* species ที่สร้างอะฟลาทอกซินจำนวน 22 ไอโซเลตนี้ออก เหลือรา *Aspergillus* species 84 ไอโซเลตซึ่งนำไปทำการทดลองต่อไป



ภาพที่ 6 รา *Aspergillus* species ที่สร้างสารอะฟลาทอกซินบนอาหาร *Aspergillus* Differentiation Medium Base (ADMB)

การระบุชนิดของรา *Aspergillus species*

การตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาเบื้องต้นของรา *Aspergillus species* ที่ไม่สร้างสารพิษอะฟลาทอกซินทั้ง 84 ไอโซเลต ตามวิธีของ Houbraken และคณะ (2020) สามารถจัดกลุ่มรา *Aspergillus species* โดยอาศัยสีของโคโลนี สีของโคนินเดียลเฮด ลักษณะเวซิกิล และไฟอะไลด์ เป็น 4 กลุ่ม ได้แก่ section *Terrei*, section *Flavipes*, section *Nidulant*, และ section *Nigri* จำนวน 7, 4, 3, และ 70 ไอโซเลต ตามลำดับ เนื่องจากไอโซเลตที่อยู่ใน section เดียวกันมีลักษณะคล้ายคลึงกัน จึงคัดเลือกตัวแทนจำนวน 21 ไอโซเลต (ตัวหนา) (ตารางที่ 5) ที่มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่แตกต่างในแต่ละ section เป็นตัวแทนสำหรับศึกษาลักษณะทางชีวโมเลกุลโดยใช้ลำดับนิวคลีโอไทด์

ตารางที่ 5 การจำแนกรรา *Aspergillus species* โดยใช้ลักษณะสัณฐานวิทยาตาม section

Section	จำนวน	ไอโซเลต
Section <i>Nidulant</i>	3	AsNSI 02 , AsNSI 04 และ AsNSI 05
Section <i>Nigri</i>	70	AsKBI 03, AsKBI 06 , AsNWT 06 , AsNWT07, AsNWT 09, AsSKL 01, AsSKL02, AsSTN 04 และ AsSTN 08 AsYLA 03 และ AsYLA 04 AsKBI 04 , AsKBI 05, AsKBI 01, AsNWT 02, AsNWT 01, AsNWT 04, AsNWT 10, AsNWT 11, AsNWT 12, AsSTN 02, AsSTN 03, AsSTN 07 และ AsTRG 05 AsPKT 04, AsPKT 06, AsPNA 01, AsPNA 02, AsPTN 03, AsPTN 04, AsPTN 05, AsPKT 01, AsPKT 03, AsPKT 05, AsRNG 04, AsSKL 08 , AsSKL 09, AsSTN 05, AsSTN 09, AsTRG 13, AsTRG 12, AsYLA 05 และ AsNWT 08 AsCPN 01 , AsCPN 02, AsCPN 03, AsCPN 04, AsCPN 05, AsCPN 06, AsCPN 07, AsCPN 08, AsKBI 07 , AsNWT 05, AsRNG 05, AsSNI 03 และ AsYLA 01 AsPKT 02 , AsNWT 03 , AsNRT 07, AsNRT 03, AsPNA 05, AsSNI 01, AsSNI 02, AsTRG 11 , AsTRG 09 , AsSTN 01 และ AsRNG 02 AsPLG 05 และ AsPLG 06 AsKBI 02
Section <i>Flavipes</i>	4	AsTRG 02, AsTRG 03 , AsTRG 04 และ AsTRG 07
Section <i>Terrei</i>	7	AsNRT 01, AsPLG 01, AsPLG 03, AsTRG 01, AsSLK 07 , AsSNI 09 และ AsYLA 02

*หมายเหตุ: ตัวอักษรพิมพ์หนา ไอโซเลตที่มีโคโลนีต่างกัน เลือกแบบสุ่มเพื่อเป็นตัวแทนในการศึกษาลักษณะทางชีวโมเลกุล

จากการศึกษาครั้งนี้พบว่า *Aspergillus* species ใน section *Nigri* มากที่สุด ซึ่งรายงานของ Houbraken และคณะ (2020) กล่าวว่ารา *Aspergillus* species ส่วนใหญ่มีลักษณะเวจิกัล เป็นแบบ globose และ conidial head มีสีดำหรือน้ำตาลดำซึ่งเป็นลักษณะสำคัญของราใน section นี้

รา *Aspergillus* species ที่แยกได้ในงานวิจัยนี้มีลักษณะ โคนิเดิลเฮด เวจิกัล โฟอะไลด์ และสีของ โคลโคนี ตรงตามเอกสารอ้างอิง ซึ่งลักษณะดังกล่าวใช้ในการจัด section เท่านั้น ไม่สามารถระบุชนิดได้ เนื่องจากรา *Aspergillus* บางชนิดมีลักษณะเวจิกัลได้มากกว่า 1 ลักษณะ และปัจจุบันการศึกษาสายวิวัฒนาการเป็นสิ่งสำคัญและเป็นที่ยอมรับอย่างมากในการแสดงถึงความสัมพันธ์ระหว่างสายพันธุ์ของรา *Aspergillus* เนื่องจากราสกุลนี้หลายชนิดที่มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่คล้ายกันทำให้ยากต่อการระบุชนิดด้วยลักษณะทางสัณฐานเพียงอย่างเดียว (Berbee *et al.*, 1995; Geiser *et al.*, 2008; Houbraken *et al.*, 2020; Ogawa *et al.*, 2010; Peterson *et al.*, 2008; Tamura *et al.*, 2011)

ผลการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ตำแหน่ง ITS และ ยีน *CaM* จากการสร้าง phylogenetic tree ของรา *Aspergillus* species ทั้ง 4 section สามารถระบุชนิดของรา 84 ไอโซเลตได้ 11 ชนิด ได้แก่

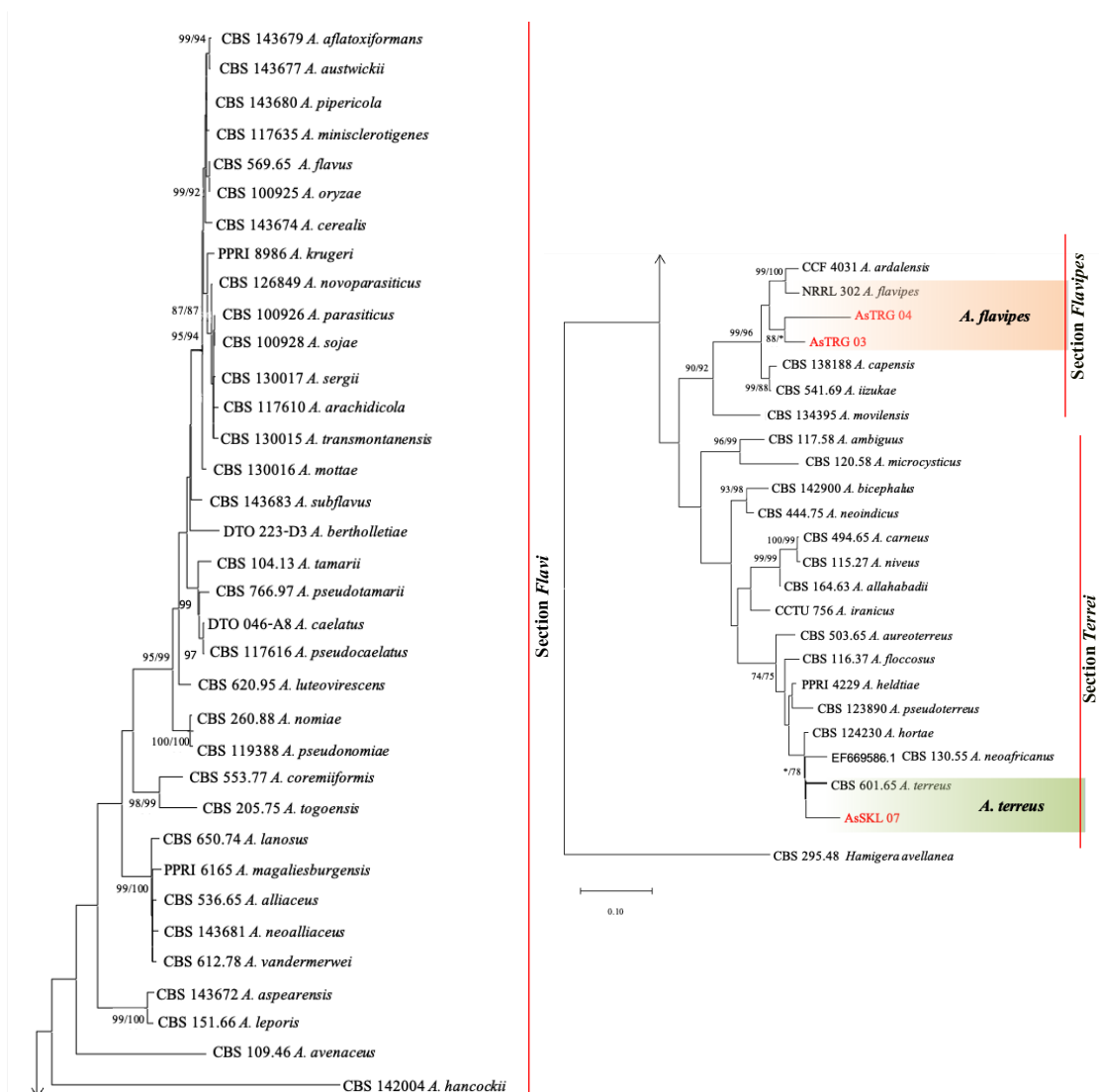
The *Aspergillus* Section *Terrei* จำนวน 1 ชนิด คือ *A. terreus* (AsSLK 07) ภาพที่ 7

The *Aspergillus* Section *Flavipes* จำนวน 1 ชนิด คือ *A. flavipes* (AsTRG 04) ภาพที่ 7

The *Aspergillus* Section *Nidulant* จำนวน 1 ชนิด คือ *A. unguis* (AsNSI 02) ภาพที่ 8

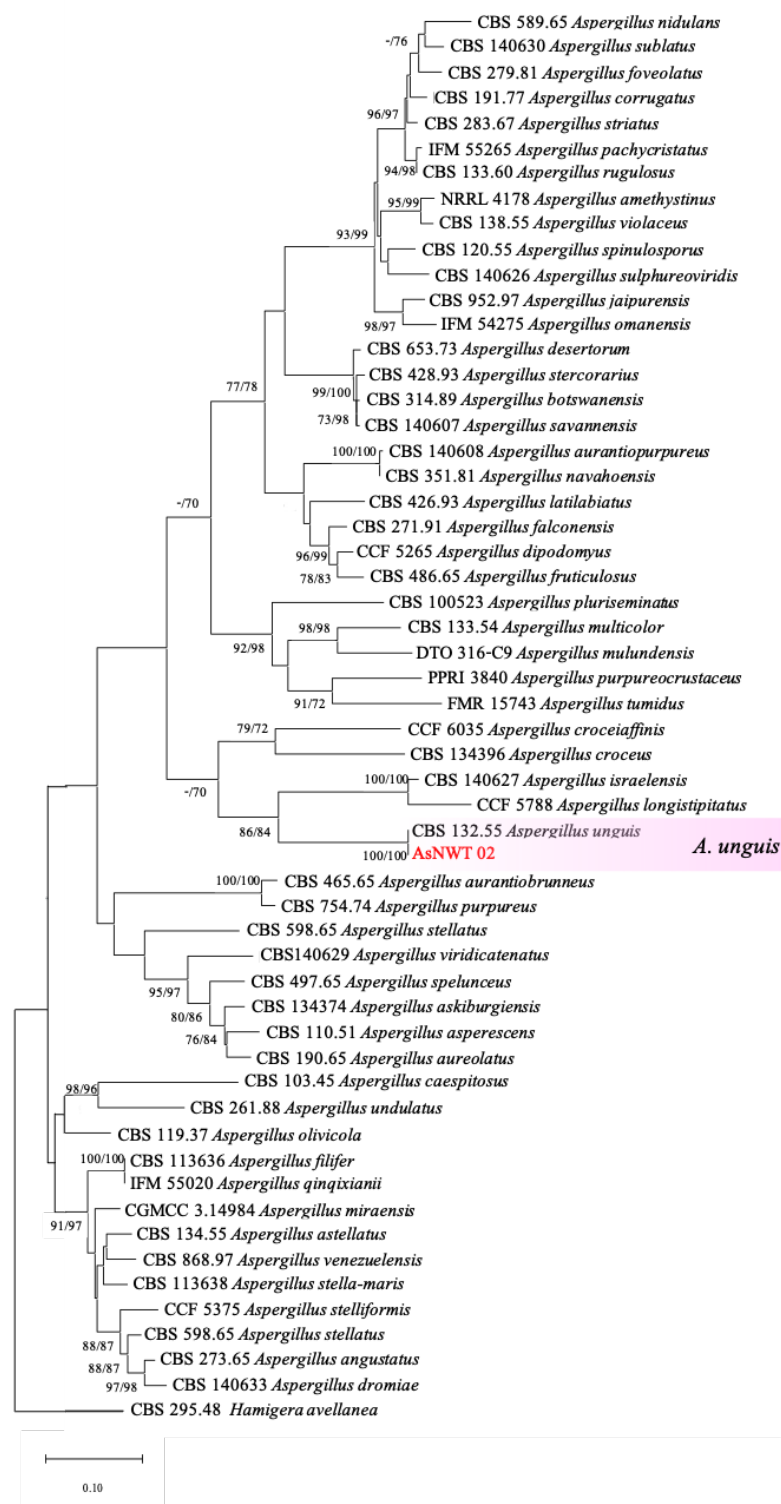
The *Aspergillus* Section *Nigri* จำนวน 8 ชนิด คือ *A. neoniger* (AsKBI 07, AsCPN 01 และ AsSNI 03), *A. vadensis* (AsKBI 02), *A. tubingensis* (AsPKT 02, AsNWT 03, AsTRG 11, AsSTN 01 และ AsRNG 02), *A. niger* (AsSKL 08), *A. floridensis* (AsKBI 04), *A. brunneoviolaceus* (AsYLA 04), *A. trinidadensis* (AsPLG 05) และ *A. aculeatinus* (AsKBI 06, AsNWT 06 และ AsSTN 08) ภาพที่ 9

phylogenetic tree แสดงให้เห็นว่าการใช้ลำดับนิวคลีโอไทด์บนสาย DNA เพียง 2 ตำแหน่งเพียงพอต่อการระบุชนิดของรา *Aspergillus* species ได้อย่างชัดเจน จากรายงาน Samson และคณะ (2011) พบว่าการระบุชนิดรา *Aspergillus* species โดยใช้ลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ตำแหน่งยีน ITS, *CaM* และ *benA* (*beta-Tubulin*) ในการสร้าง phylogenetic tree เพื่อระบุชนิดของรา *Aspergillus* species มีความถูกต้องมากขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับใช้แค่ยีนตำแหน่ง เดียว



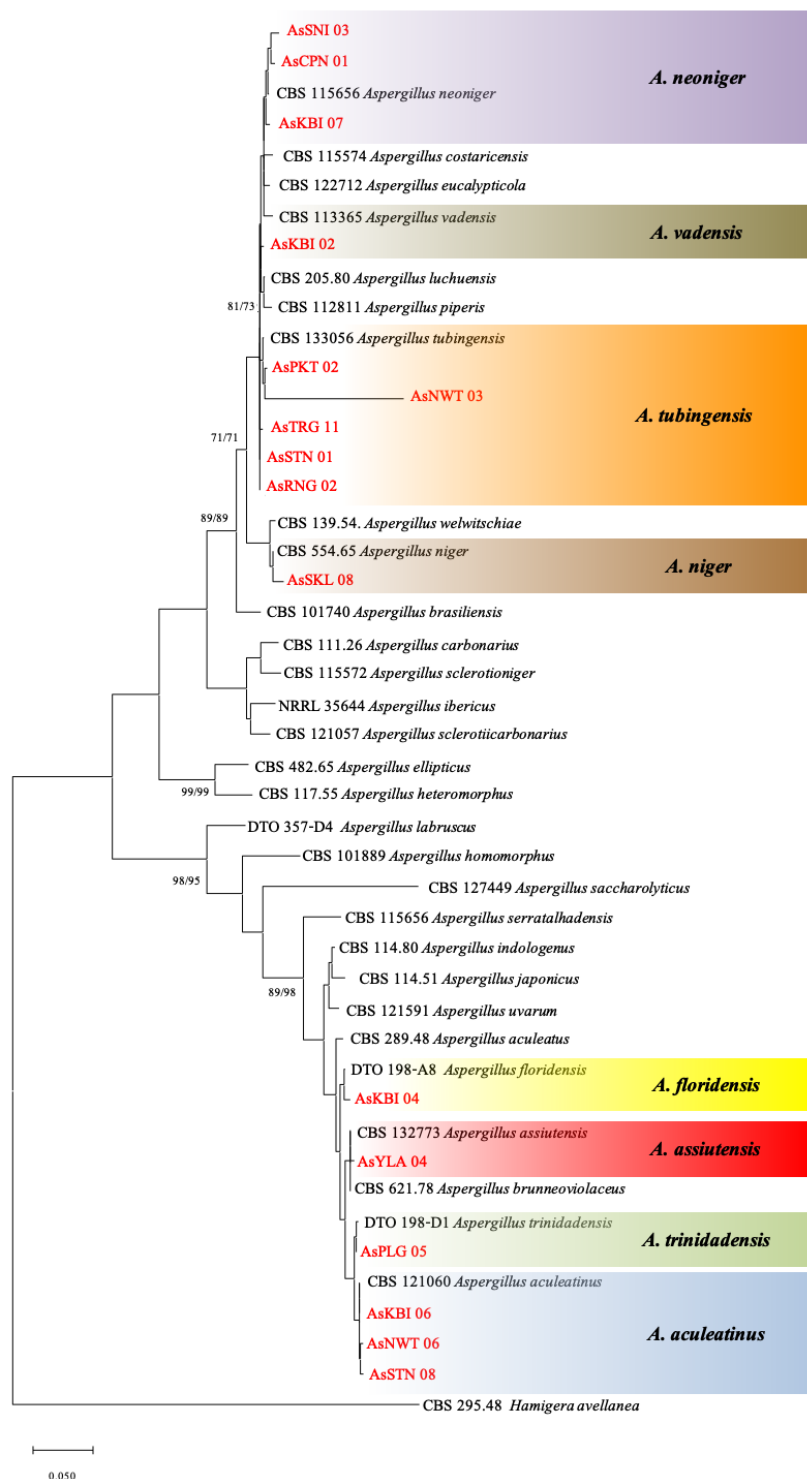
ภาพที่ 7 Maximum likelihood phylogenetic tree ของ Section *Terrei*, *flavipes* และ *flavi* ที่ตำแหน่ง internal transcribed spacer (ITS) และยีน Calmodulin (*CaM*)

หมายเหตุ: ตัวอักษรสีแดงคือ ไอโซเลตของรา *Aspergillus* species จากงานวิจัยนี้



ภาพที่ 8 Maximum likelihood phylogenetic tree ของ Section *Nidulans* ที่ตำแหน่ง internal transcribed spacer (ITS) และยีน Calmodulin (*CaM*)

หมายเหตุ: ตัวอักษรสีแดงคือ ไอโซเลตของรา *Aspergillus* species จากงานวิจัยนี้



ภาพที่ 9 Maximum likelihood phylogenetic tree ของ Section *Nigri* ที่ตำแหน่ง internal transcribed spacer (ITS) และยีน Calmodulin (*CaM*)

หมายเหตุ: ตัวอักษรสีแดงคือ ไอโซเลตของรา *Aspergillus* species จากงานวิจัยนี้

การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมร่วมกับลักษณะทางสัณฐานวิทยาจากเอกสารอ้างอิง สามารถระบุชนิดรา *Aspergillus species* ได้ทั้งหมด 12 ชนิด ได้แก่ *A. aculeatinus* จำนวน 9 ไอโซเลต *A. brunneoviolaceus* จำนวน 2 ไอโซเลต *A. flavipes* จำนวน 4 ไอโซเลต *A. floridensis* จำนวน 13 ไอโซเลต *A. nomiae* จำนวน 1 ไอโซเลต *A. niger* จำนวน 19 ไอโซเลต *A. terreus* จำนวน 7 ไอโซเลต *A. neoniger* จำนวน 13 ไอโซเลต *A. trinidadensis* จำนวน 2 ไอโซเลต *A. unguis* จำนวน 3 ไอโซเลต *A. tubingensis* จำนวน 11 ไอโซเลต และ *A. vadensis* จำนวน 1 ไอโซเลต ซึ่งมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาดังนี้

ลักษณะสัณฐานวิทยาของรา *Aspergillus species*

1. *Aspergillus aculeatinus*

Section *Nigri*

ลักษณะทางสัณฐานวิทยา: โคนิสีน้ำตาล ตรงกลางสีน้ำตาลเข้มและค่อย ๆ จางไปจนถึงขอบของ โคนิสี เนื่องจากบริเวณตรงกลางโคนิสีมี conidial head ที่มีอายุมากกว่าและสร้างอยู่อย่างหนาแน่น ส่วนบริเวณขอบเห็น conidial head ชัดเจนกว่าและเห็นก้านชูสปอร์สีขาวอ่อน เวชชีเคิลมีรูปร่างกลม (globose) ขนาด $23.1-25.0 \times 23.9-25.0$ ไมโครเมตร มีไฟอะไลด์ 1 ชั้น (uniseriate) สร้างคลุมทั้งเวชชีเคิล โคนิสีเดียวมีรูปร่างกลมสีน้ำตาลอ่อนผนังขรุขระ ขนาด $2.0-3.0 \times 2.5-3.1$ ไมโครเมตร

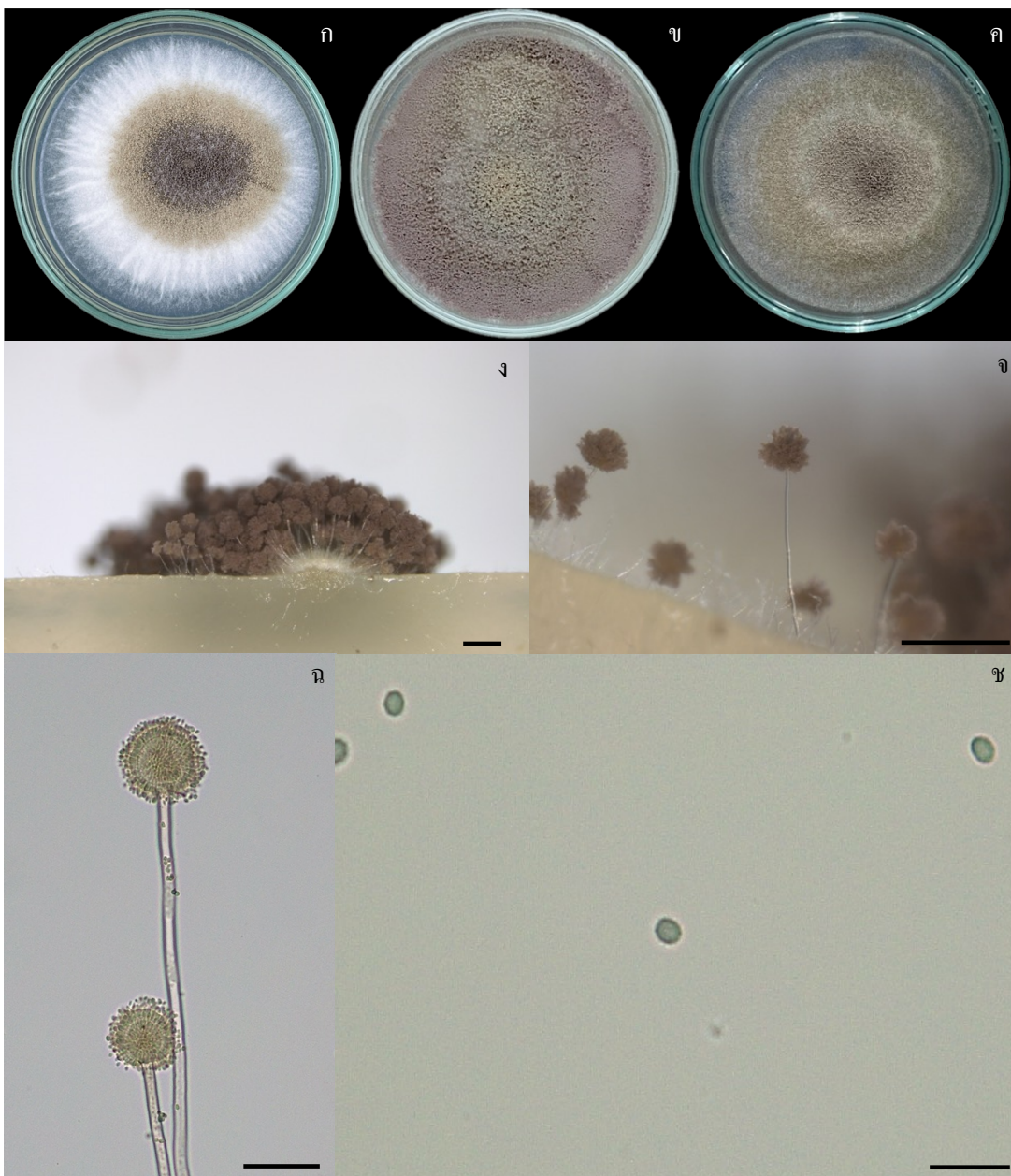
จังหวัดที่เก็บตัวอย่าง: กระบี่ นราธิวาส สงขลา สตูล

ไอโซเลตที่แยกได้: AsKBI 03, AsKBI 06, AsNWT 06, AsNWT07, AsNWT 09, AsSKL 01, AsSKL02, AsSTN 04 และ AsSTN 08

เอกสารอ้างอิง Houbraeken และคณะ (2020)

AsKBI 06: เป็นตัวแทนในการแสดงรายละเอียดของลักษณะทางสัณฐานวิทยา (ภาพที่ 10)

ประโยชน์ของรา *A. aculeatinus*: Hu และคณะ (2013) ได้มีการรายงานว่าร่าเป็นปรสิตต่อสเคลโรเทียของรา *sclerotinia sclerotiorum*



ภาพที่ 10 *Aspergillus aculeatinus* ไอโซเลต AsKBI 06 ลักษณะโคโลนีอายุ 7 วัน ที่อุณหภูมิห้อง ก) อาหาร PDA ข) อาหาร MEA ค) อาหาร CYA ง, จ) ลักษณะ conidial head เป็นกลุ่มและแบบเดี่ยว ๆ ตามลำดับ ฉ) โคนิดีโอพอร์ เวซิกิล ฟิอะไลด์บนอาหาร PDA และ ช) โคนิเดีย (สเกลบาร์ภาพ ง และ จ = 1 มิลลิเมตร ภาพ ฉ = 40 ไมโครเมตร และภาพ ช = 10 ไมโครเมตร)

2. *Aspergillus assiutensis*

Section *Nigri*

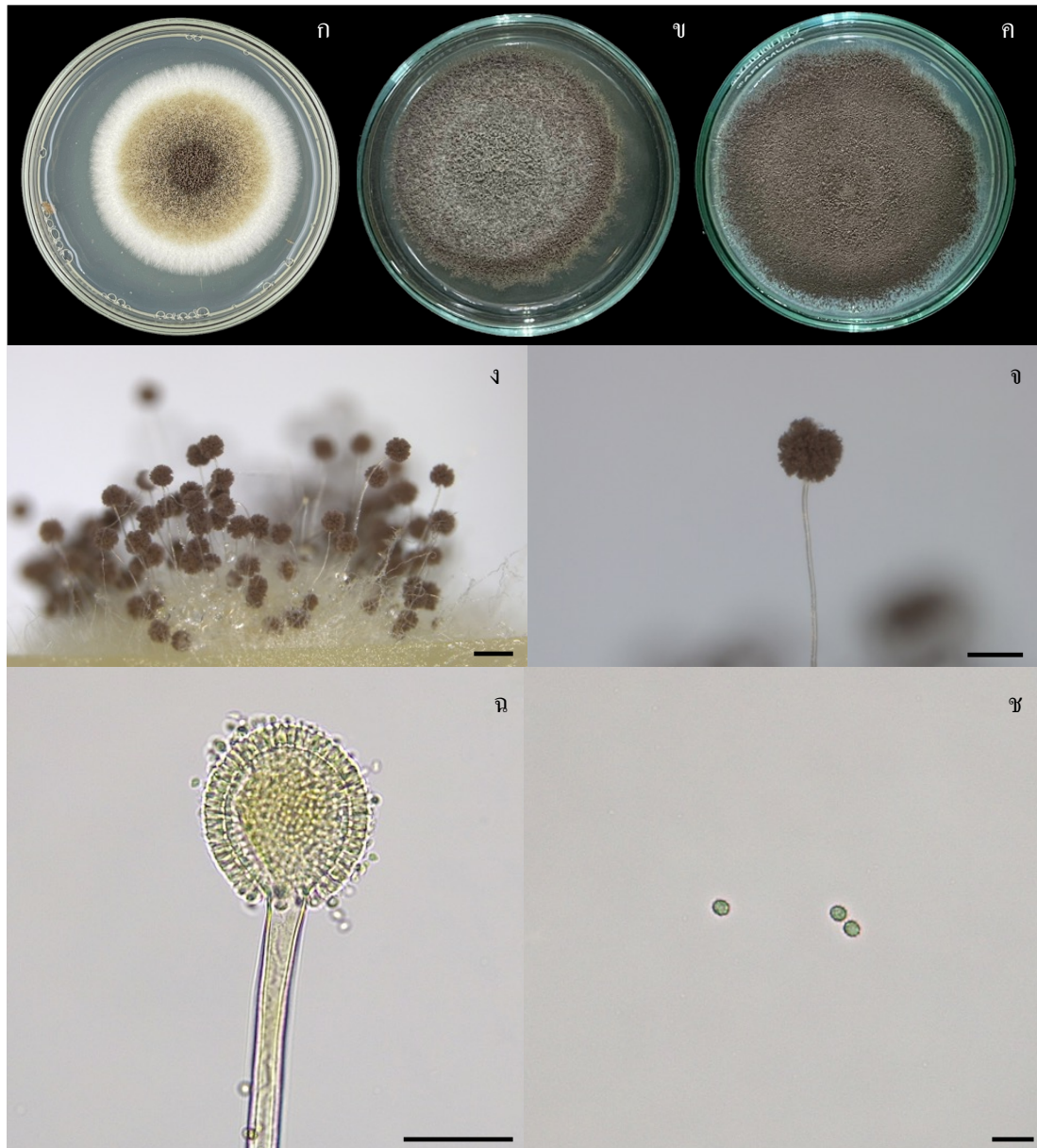
ลักษณะทางสัณฐานวิทยา: โคลนีสีน้ำตาลดำ ตรงกลางสีน้ำตาลดำเข้มและค่อย ๆ จางไปจนถึงขอบของโคโลนีสีเขียวอ่อน เนื่องจากบริเวณตรงกลางโคโลนีสี conidial head ที่มีอายุมากกว่าและสร้างอยู่อย่างหนาแน่น ส่วนบริเวณขอบเห็น conidial head ชัดเจนกว่าและเห็นก้านชูสปอร์สีเขียวอ่อน เวชียเซลล์มีรูปร่างค่อนข้างกลม (subglobose) ขนาด $42.8-46.0 \times 53.9-55.0$ ไมโครเมตร มีโพะไลต์ 1 ชั้น สร้างคลุมทั้งเวชียเซลล์ โคนิเดียมีรูปร่างกลม สีน้ำตาลอ่อนผนังขรุขระ ขนาด $3.7-4.5 \times 2.9-3.6$ ไมโครเมตร

จังหวัดที่เก็บตัวอย่าง: ยะลา

ไอโซเลตที่แยกได้: AsYLA 03 และ AsYLA 04

เอกสารอ้างอิง Houbraken และคณะ (2020)

AsYLA 04: เป็นตัวแทนในการแสดงรายละเอียดของลักษณะทางสัณฐานวิทยา (ภาพที่ 11)



ภาพที่ 11 *Aspergillus assiutensis* ไอโซเลต AsYLA 04 ลักษณะโคโลนีอายุ 7 วัน ที่อุณหภูมิห้อง ก) อาหาร PDA ข) อาหาร MEA ค) อาหาร CYA ง, จ) ลักษณะ conidial head เป็นกลุ่มและแบบเดี่ยว ๆ ฉ) โคนิดีอ็อพอร์ เวชชีเคิล โฟอะไลด์บนอาหาร PDA และ ช) โคนิเดีย (สเกลบาร์ภาพ ง และ จ = 1 มิลลิเมตร ภาพ ฉ = 40 ไมโครเมตร และภาพ ช = 10 ไมโครเมตร)

3. *Aspergillus flavipes*

Section *Flavipes*

ลักษณะทางสัณฐานวิทยา: โคลนีบนอาหาร CYA มีสีขาว เส้นใยสีขาวอ่อน กลางโคลนีมี conidial head ส่วนบริเวณขอบเห็น conidial head ชัดเจน เวชชีเคิลมีรูปร่าง pyriform ขนาด 12.9–13.5× 19.5–21.0 ไมโครเมตร มีฟองไคต์ 2 ชั้น สร้างคลุมทั้งเวชชีเคิล โคนีเดียมีรูปร่างกลม สีขาว ผันเรียบ ขนาด 2.1–2.5 × 2.3–2.6 ไมโครเมตร

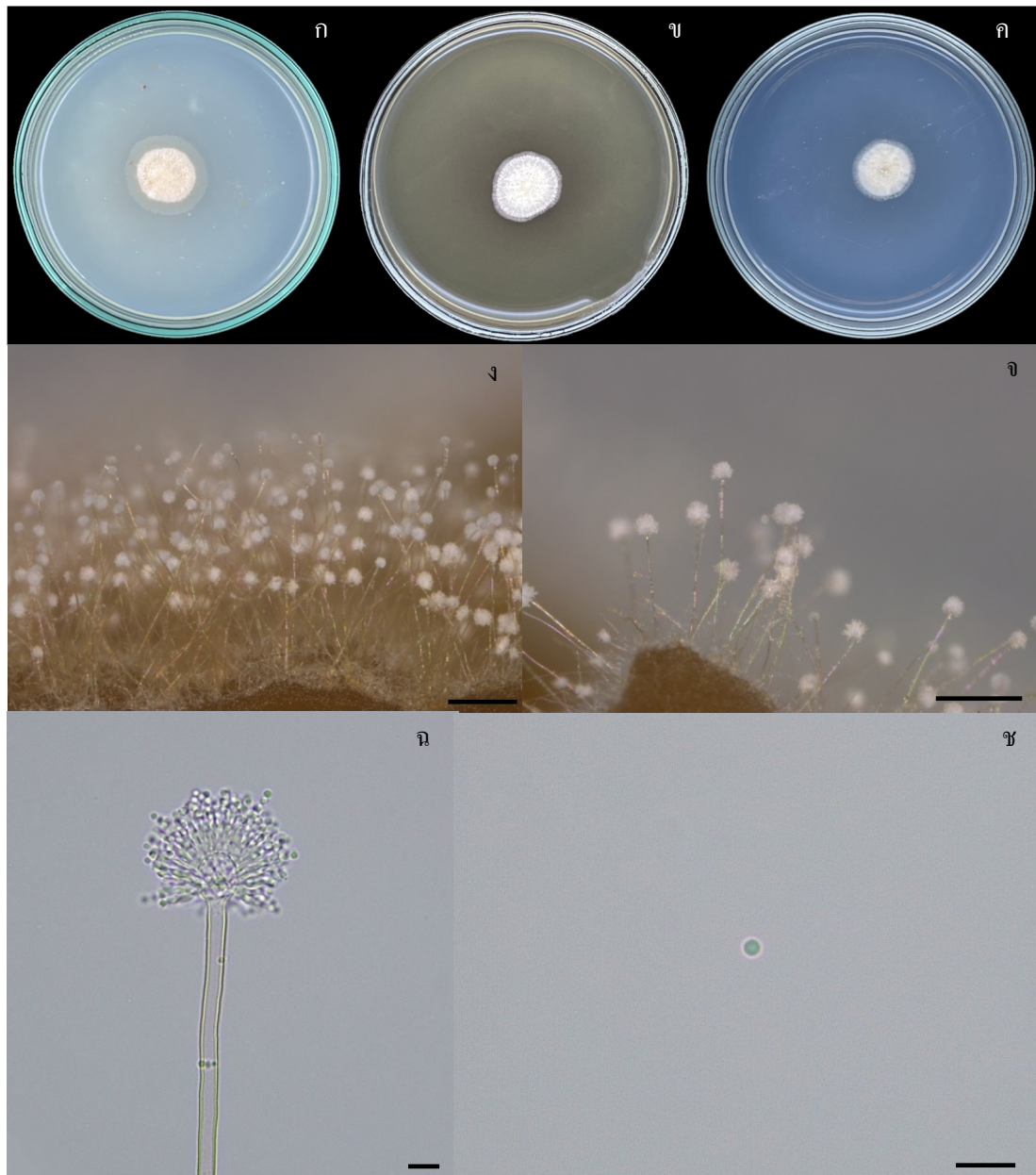
จังหวัดที่เก็บตัวอย่าง: ตรัง

ไอโซเลตที่แยกได้: AsTRG 02, AsTRG 03, AsTRG 04 และ AsTRG 07

เอกสารอ้างอิง Houbraken และคณะ (2020)

AsTRG 04: เป็นตัวแทนในการแสดงรายละเอียดของลักษณะทางสัณฐานวิทยา (ภาพที่ 12)

ประโยชน์ของรา *A. flavipes*: ในปี 2019 Ashraf และ Gul ได้ทดสอบสกัด Crude extract ของราชนิดนี้ พบว่ามีฤทธิ์ในการยับยั้งการงอกของเส้นใยรา *Phytophthora parasitica* ที่ก่อโรคโคนเน่าได้และใบร่วงยางพาราได้



ภาพที่ 12 *Aspergillus flavipes* ไอโซเลต AsTRG 04 ลักษณะโคโลนีอายุ 7 วัน ที่อุณหภูมิห้อง ก) อาหาร PDA ข) อาหาร MEA ค) อาหาร CYA ง, จ) ลักษณะ conidial head เป็นกลุ่มและแบบเดี่ยว ๆ ฉ) โคนิดิโอฟอร์ เวชชีเคิล ฟองส์ไลด์บนอาหาร PDA และช) โคนิดิเคีย (สเกลบาร์ภาพ ง และ จ = 1 มิลลิเมตร ภาพ ฉ = 10 ไมโครเมตร และภาพ ช = 10 ไมโครเมตร)

4. *Aspergillus floridensis*

Section *Nigri*

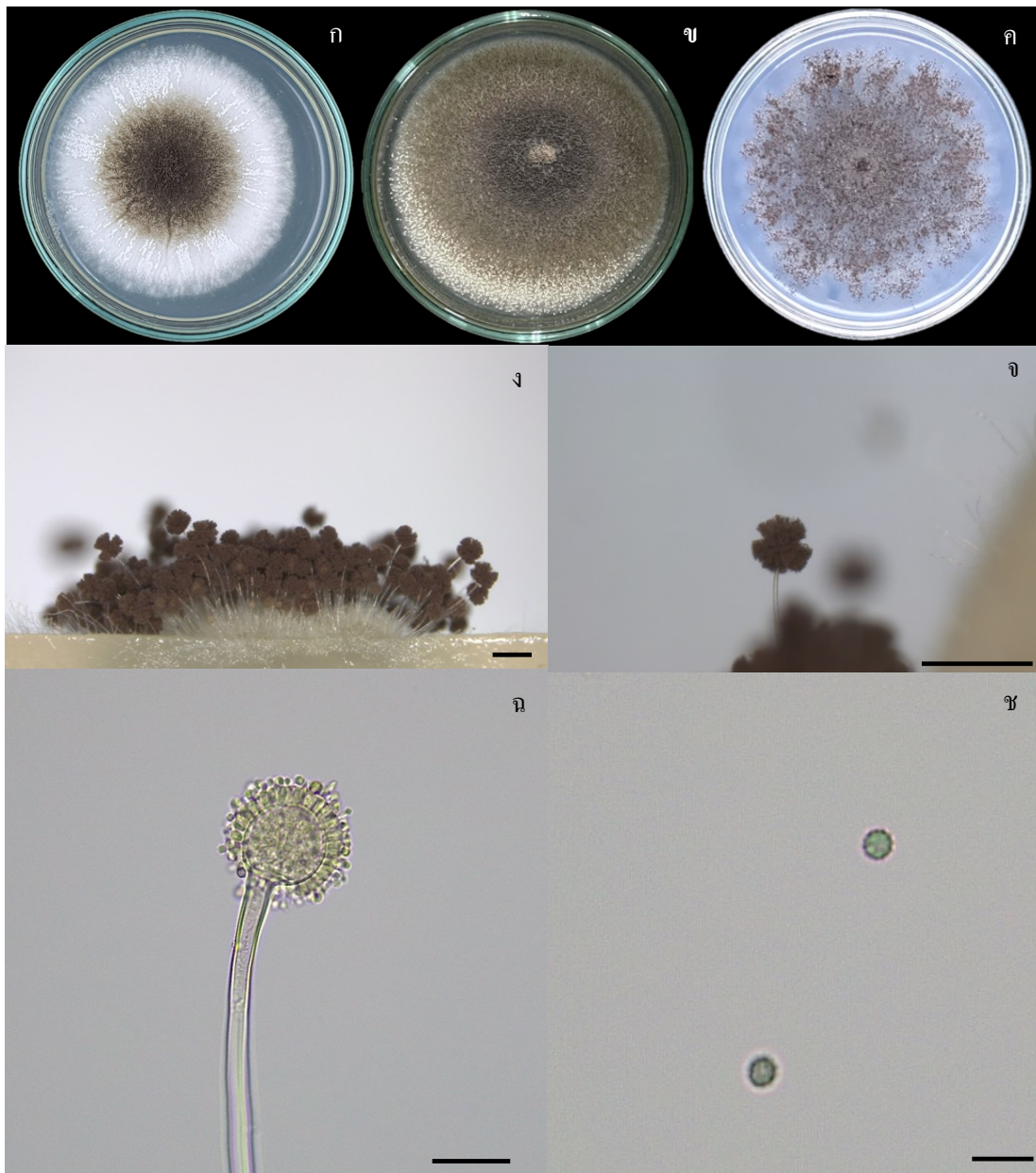
ลักษณะทางสัณฐานวิทยา: โคลนีบนอาหาร CYA มีสีเหลืองเข้มถึงน้ำตาล ตรงกลางสีน้ำตาลเข้ม และค่อย ๆ จางไปจนถึงขอบของโคโลนีมีเส้นใยสีขาวอ่อน เนื่องจากบริเวณตรงกลางโคโลนีมี conidial head ที่มีอายุมากกว่าและสร้างอยู่อย่างหนาแน่น ส่วนบริเวณขอบเห็น conidial head ชัดเจน เวชชีเคิลมีรูปร่างกลมขนาด $46.6\text{--}52.0 \times 45.0\text{--}52.0$ ไมโครเมตร มีฟองไคต์ 1 ชั้น สร้างคลุมทั้งเวชชีเคิล โคนิเดียมีรูปร่างกลมสีน้ำตาลอ่อนผนังขรุขระ ขนาด $3.5\text{--}4.0 \times 4.4\text{--}4.5$ ไมโครเมตร

จังหวัดที่เก็บตัวอย่าง: กระบี่ ตรัง นราธิวาส สตูล

ไอโซเลตที่แยกได้: AsKBI 04, AsKBI 05, AsKBI 01, AsNWT 02, AsNWT 01, AsNWT 04, AsNWT 10, AsNWT 11, AsNWT 12, AsSTN 02, AsSTN 03, AsSTN 07 และ AsTRG 05

เอกสารอ้างอิง Samson และคณะ (2014)

AsKBI 04: เป็นตัวแทนในการแสดงรายละเอียดของลักษณะทางสัณฐานวิทยา (ภาพที่ 13)



ภาพที่ 13 *Aspergillus floridensis* ไอโซเลต AsKBI 04 ลักษณะโคโลนีอายุ 7 วัน ที่อุณหภูมิห้อง ก) อาหาร PDA ข) อาหาร MEA ค) อาหาร CYA ง, จ) ลักษณะ conidial head เป็นกลุ่มและแบบเดี่ยว ๆ ฉ) โคนิดีโอฟอร์เวจิกัล ฟองไสต์บนอาหาร PDA และ ช) โคนิเดีย (สเกลบาร์ภาพ ง และ จ = 1 มิลลิเมตร ภาพ ฉ = 40 ไมโครเมตร และภาพ ช = 10 ไมโครเมตร)

5. *Aspergillus niger*

Section *Nigri*

ลักษณะทางสัณฐานวิทยา: โคลโคเนียมอาหาร CYA มีสีน้ำตาลดำเข้ม ตรงกลางมีสีน้ำตาลดำเข้มและค่อย ๆ จางไปจนถึงขอบของโคโคเนียมเส้นใยสีขาว เนื่องจากบริเวณตรงกลางโคโคเนียมมี conidial head ที่มีอายุมากกว่าและสร้างอยู่อย่างหนาแน่น ขอบด้านข้างเห็นลักษณะของ conidial head ได้ชัดเจน เวชikel มีรูปร่างค่อนข้างกลมขนาด $47.7\text{--}49.0 \times 49.0\text{--}50.0$ ไมโครเมตร มีฟองไคต์ 2 ชั้น สร้างคลุมทั้งเวชikel โคนิเดียมมีรูปร่างกลม สีน้ำตาลเข้ม ขนาด $4.7\text{--}5.0 \times 5.4\text{--}5.8$ ไมโครเมตร

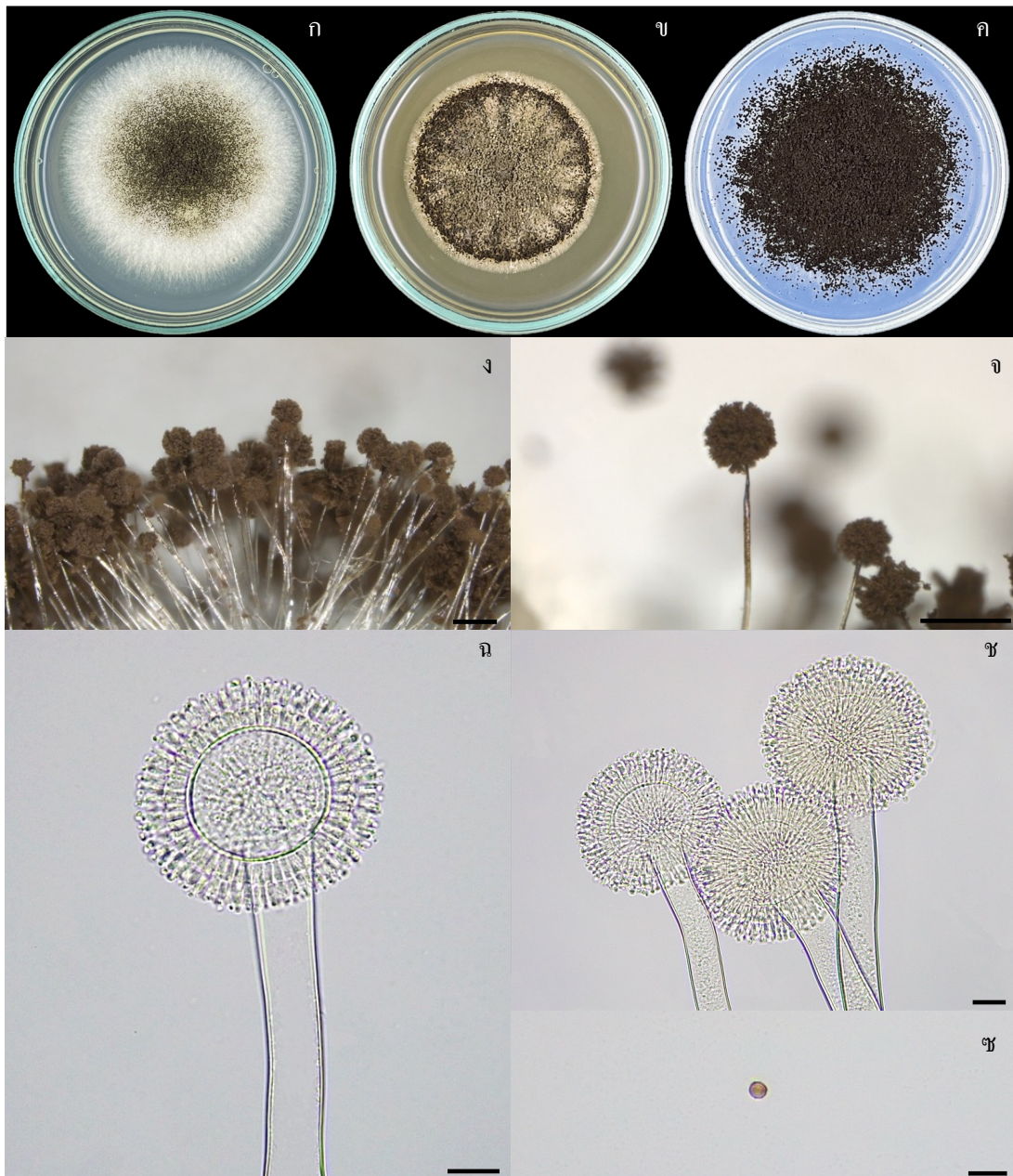
จังหวัดที่เก็บตัวอย่าง: สงขลา ตรัง พังงา ปัตตานี ภูเก็ต สตูล ยะลา นราธิวาส ระนอง

ไอโซเลตที่แยกได้: AsPKT 04, AsPKT 06, AsPNA 01, AsPNA 02, AsPTN 03, AsPTN 04, AsPTN 05, AsPKT 01, AsPKT 03, AsPKT 05, AsRNG 04, AsSKL 08, AsSKL 09, AsSTN 05, AsSTN 09, AsTRG 13, AsTRG 12, AsYLA 05 และ AsNWT 08

เอกสารอ้างอิง Houbraeken และคณะ (2020)

AsPNA 01: เป็นตัวแทนในการแสดงรายละเอียดของลักษณะทางสัณฐานวิทยา (ภาพที่ 14)

ประโยชน์ของรา *A. niger*: Brazezinska และคณะ (2012) รายงานว่ารา *A. niger* สามารถใช้ควบคุมรา *F. cumolum* และ *Rhizoctonia solani* สาเหตุโรคผลเน่าและโรคใบไหม้ได้



ภาพที่ 14 *Aspergillus niger* ไอโซเลต AspNA 01 ลักษณะโคโลนีอายุ 7 วัน ที่อุณหภูมิห้อง ก) อาหาร PDA ข) อาหาร MEA ค) อาหาร CYA ง, จ) ลักษณะ conidial head เป็นกลุ่มและแบบเดี่ยว ๆ ฉ) และ ช) โคนิดิโอฟอร์ เวชิต และไฟอะไลด์บนอาหาร PDA ซ) โคนิดิเดี่ยว (สเกลบาร์ภาพ ง และ จ = 1 มิลลิเมตร ภาพ ฉ = 20 ไมโครเมตร ภาพ ช = 10 ไมโครเมตร และภาพ ซ = 10 ไมโครเมตร)

6. *Aspergillus neoniger*

Section *Nigri*

ลักษณะทางสัณฐานวิทยา: โคลนีบนอาหาร CYA มีสีดำ ตรงกลางสีดำเข้มและค่อย ๆ จางไปจนถึงขอบของโคโลนีมีเส้นใยสีขาวอ่อน เนื่องจากบริเวณตรงกลางโคโลนีมี conidial head ที่มีอายุมากกว่าและสร้างอยู่อย่างหนาแน่น ส่วนบริเวณขอบเห็น conidial head ชัดเจน เวชียเซลล์มีรูปร่างกลม ขนาด $45.6\text{--}50.0 \times 46\text{--}50.0$ ไมโครเมตร มีไฟอะไลต์ 2 ชั้น สร้างคลุมทั้งเวชียเซลล์ โคลนีเดียวมีรูปร่างกลม สีน้ำตาลอ่อนผนังเรียบ ขนาด $3.5\text{--}4.5 \times 4.3\text{--}4.7$ ไมโครเมตร

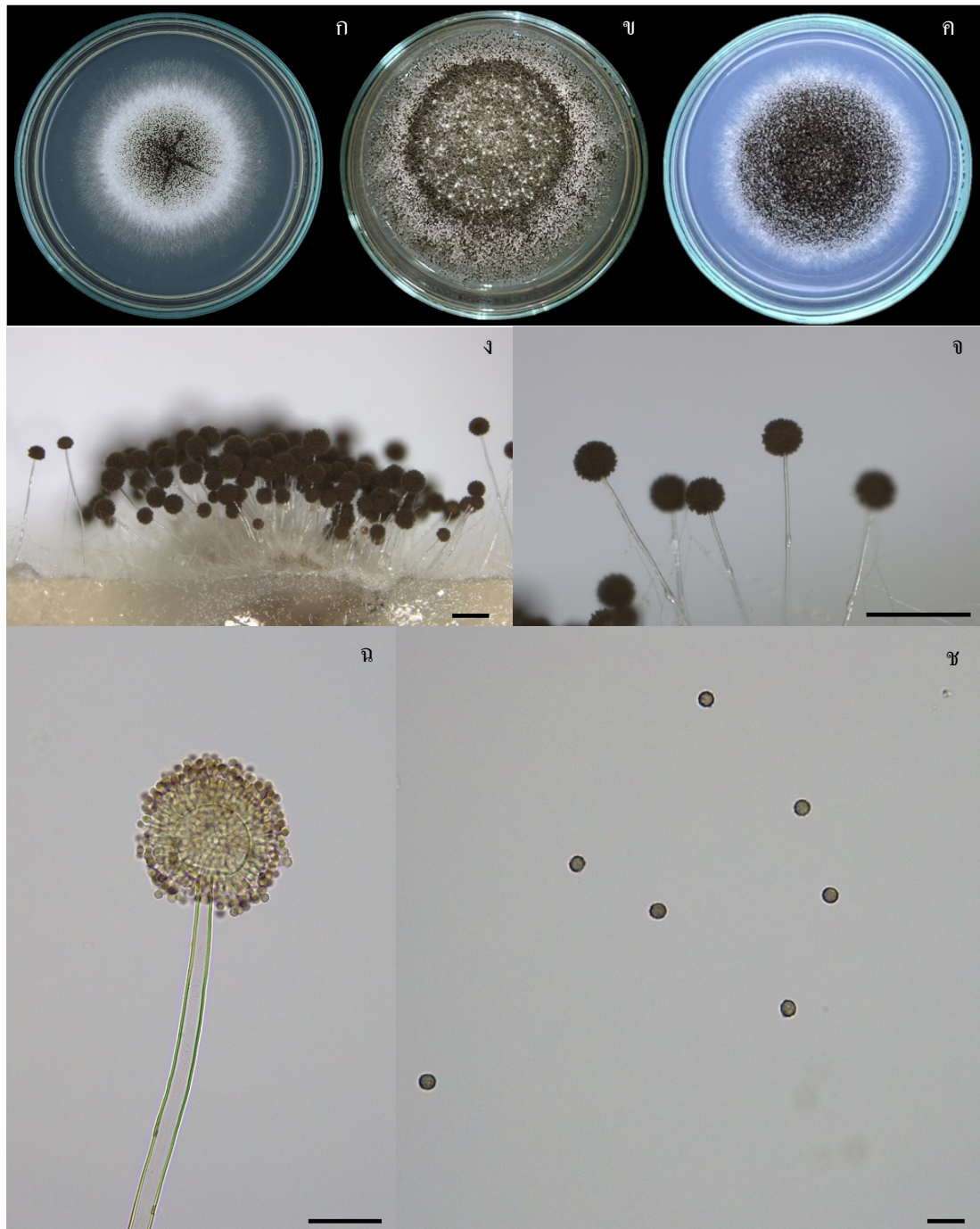
จังหวัดที่เก็บตัวอย่าง: กระบี่ นราธิวาส ระนอง สุราษฎร์ธานี ยะลา ชุมพร

ไอโซเลตที่แยกได้: AsCPN 01, AsCPN 02, AsCPN 03, AsCPN 04, AsCPN 05, AsCPN 06, AsCPN 07, AsCPN 08, AsKBI 07, AsNWT 05, AsRNG 05, AsSNI 03 และ AsYLA 01

เอกสารอ้างอิง Houbraken และคณะ (2020)

AsKBI 07: เป็นตัวแทนในการแสดงรายละเอียดของลักษณะทางสัณฐานวิทยา (ภาพที่ 15)

ประโยชน์ของรา *A. neoniger*: ที่เป็นไมคอโรซา แยกได้จากพืชสมุนไพรร *Ficus carica* มีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ได้แก่ aurasperone D และ asperpyrone D ซึ่งมีฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งอย่างมีนัยสำคัญ (Abdou *et al.*, 2021)



ภาพที่ 15 *Aspergillus neoniger* ไอโซเลต AsKBI 07 ลักษณะโคโลนีอายุ 7 วัน ที่อุณหภูมิห้อง ก) อาหาร PDA ข) อาหาร MEA ค) อาหาร CYA ง, จ) ลักษณะ conidial head เป็นกลุ่มและแบบเดี่ยว ๆ ฉ) โคนิดิโอฟอร์ เวชิตัล ฟูอะไลด์บนอาหาร PDA และ ช) โคนิดิเดี่ยว (สเกลบาร์ภาพ ง และ จ = 1 มิลลิเมตร ภาพ ฉ = 40 ไมโครเมตร และภาพ ช = 10 ไมโครเมตร)

7. *Aspergillus terreus*

Section *Terrei*

ลักษณะทางสัณฐานวิทยา: โคลนินบนอาหาร CYA มีสีน้ำตาลอบเชยหรือน้ำตาลอมเหลือง ตรงกลางมีสีน้ำตาลเข้มและค่อย ๆ จางไปจนถึงขอบของโคลนิน เห็น conidial head ชัดเจน เวชikel เป็นแบบครึ่งวงกลม (hemispherical) ขนาด $15.2-17.0 \times 15.5-18.0$ ไมโครเมตร มีไฟอะไลต์ 2 ชั้น สร้างคลุมครึ่งเวชikel โคลนินเดี่ยวมีรูปร่างกลม สีน้ำตาลอ่อนผนังเรียบ ขนาด $2.3-3.0 \times 2.4-2.6$ ไมโครเมตร

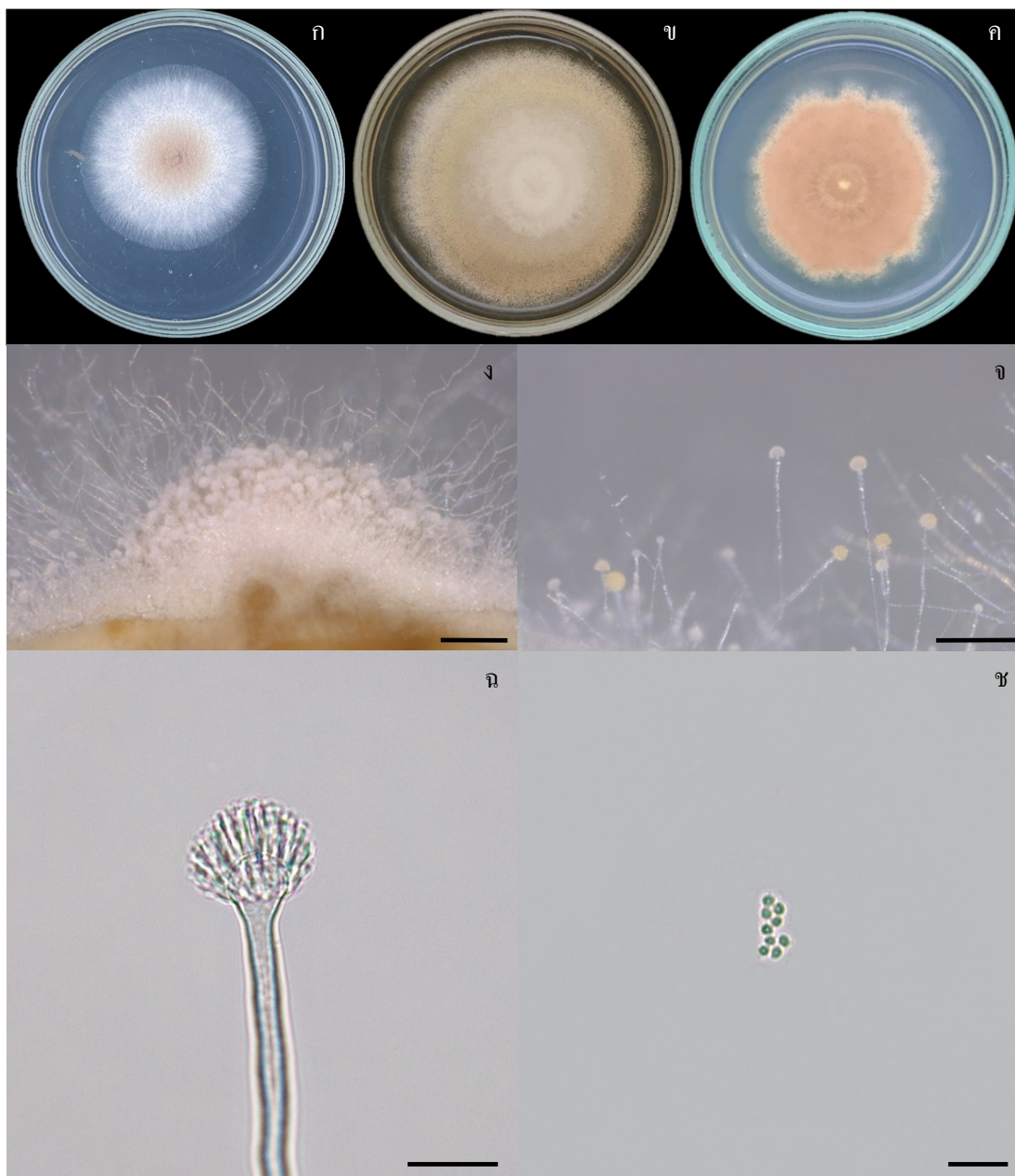
จังหวัดที่เก็บตัวอย่าง: สงขลา สุราษฎร์ธานี ตรัง นราธิวาส

ไอโซเลตที่แยกได้: AsNRT 01, AsPLG 01, AsPLG 03, AsTRG 01, **AsSLK 07**, AsSNI 09 และ AsYLA 02

เอกสารอ้างอิง Houbraken และคณะ (2020)

AsSKL 07: เป็นตัวแทนในการแสดงรายละเอียดของลักษณะทางสัณฐานวิทยา (ภาพที่ 16)

ประโยชน์ของรา *A. terreus*: สามารถผลิตไซลานเนสที่มีศักยภาพในการใช้งานในอุตสาหกรรมเป็นสารฟอกขาวในอุตสาหกรรมเยื่อกระดาษได้ (Lakshmi *et al.*, 2009)



ภาพที่ 16 *Aspergillus terreus* ไอโซเลต AsSKL 07 ลักษณะโคโลนีอายุ 7 วัน ที่อุณหภูมิห้อง ก) อาหาร PDA ข) อาหาร MEA ค) อาหาร CYA ง, จ) ลักษณะ conidial head เป็นกลุ่มและแบบเดี่ยว ๆ ฉ) โคนิดิโอฟอร์ เวซิคเคิล ฟิวส์ไลด์บนอาหาร PDA และ ช) โคนิเดีย (สเกลบาร์ภาพ ง และ จ = 1 มิลลิเมตร ภาพ ฉ = 20 ไมโครเมตร และภาพ ช = 10 ไมโครเมตร)

8. *Aspergillus tubingensis*

Section *Nigri*

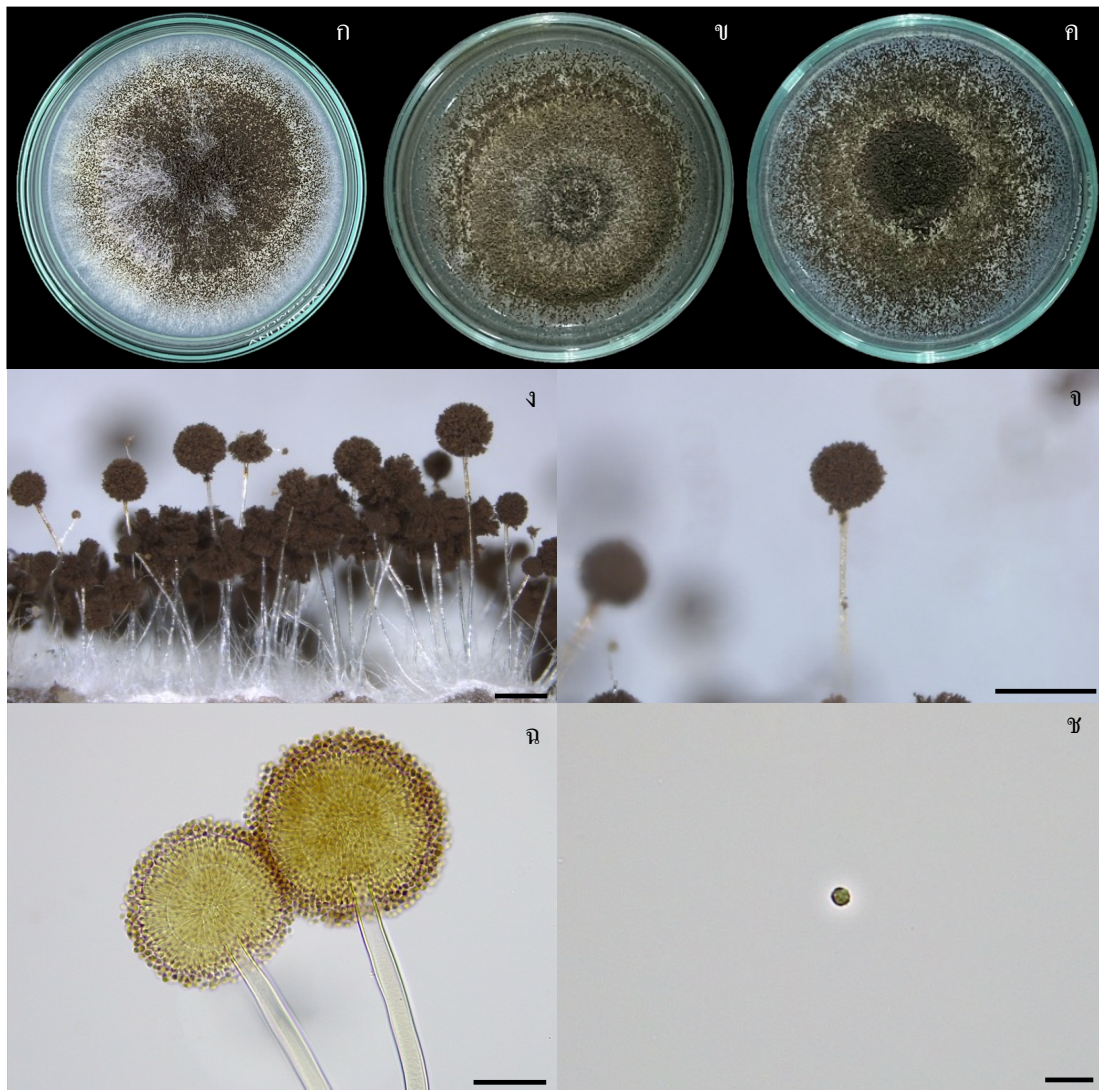
ลักษณะทางสัณฐานวิทยา: โคลนีบนอาหาร CYA มีสีน้ำตาลดำ ตรงกลางมีสีดำเข้มและค่อย ๆ งามไปจนถึงขอบของโคโลนีมีเส้นใยสีขาวอ่อน เนื่องจากบริเวณตรงกลางโคโลนีมี conidial head ที่มีอายุมากกว่าและสร้างอยู่อย่างหนาแน่น ส่วนบริเวณขอบเห็น conidial head ชัดเจนกว่าและเห็นก้านชูสปอร์ เป็นขาวอ่อน เวชียเกิดมีรูปร่างกลม ขนาด $55.0-56.0 \times 55.1-57.0$ ไมโครเมตร มีโพะไลด์ 2 ชั้น สร้างคลุมทั้งเวชียเกิด โคนิเดียมีรูปร่างกลมสีน้ำตาลผนังขรุขระ ขนาด $4.8-6.0 \times 4.9-6.2$ ไมโครเมตร

จังหวัดที่เก็บตัวอย่าง: ภูเก็ต นราธิวาส พังงา สุราษฎร์ธานี ตรัง สตูล ระนอง

ไอโซเลตที่แยกได้: AsPKT 02, AsNWT 03, AsNRT 07, AsNRT 03, AsPNA 05, AsSNI 01, AsSNI 02, AsTRG 11, AsTRG 09, AsSTN 01 และ AsRNG 02

เอกสารอ้างอิง Houbraken และคณะ (2020)

AsRNG 02: เป็นตัวแทนในการแสดงรายละเอียดของลักษณะทางสัณฐานวิทยา (ภาพที่ 17)



ภาพที่ 17 *Aspergillus tubingensis* ไอโซเลต AsRNG 02 ลักษณะโคโลนีอายุ 7 วัน ที่ที่อุณหภูมิห้อง ก) อาหาร PDA ข) อาหาร MEA ค) อาหาร CYA ง, จ) ลักษณะ conidial head เป็นกลุ่มและแบบเดี่ยว ๆ ฉ) โคนิดีโอฟอร์ เวชิติล ฟัอะไลด์บนอาหาร PDA และ ช) โคนิเดีย (สเกลบาร์ภาพ ง และ จ = 1 มิลลิเมตร ภาพ ฉ = 40 ไมโครเมตร และภาพ ช = 10 ไมโครเมตร)

9. *Aspergillus trinidadensis*

Section *Nigri*

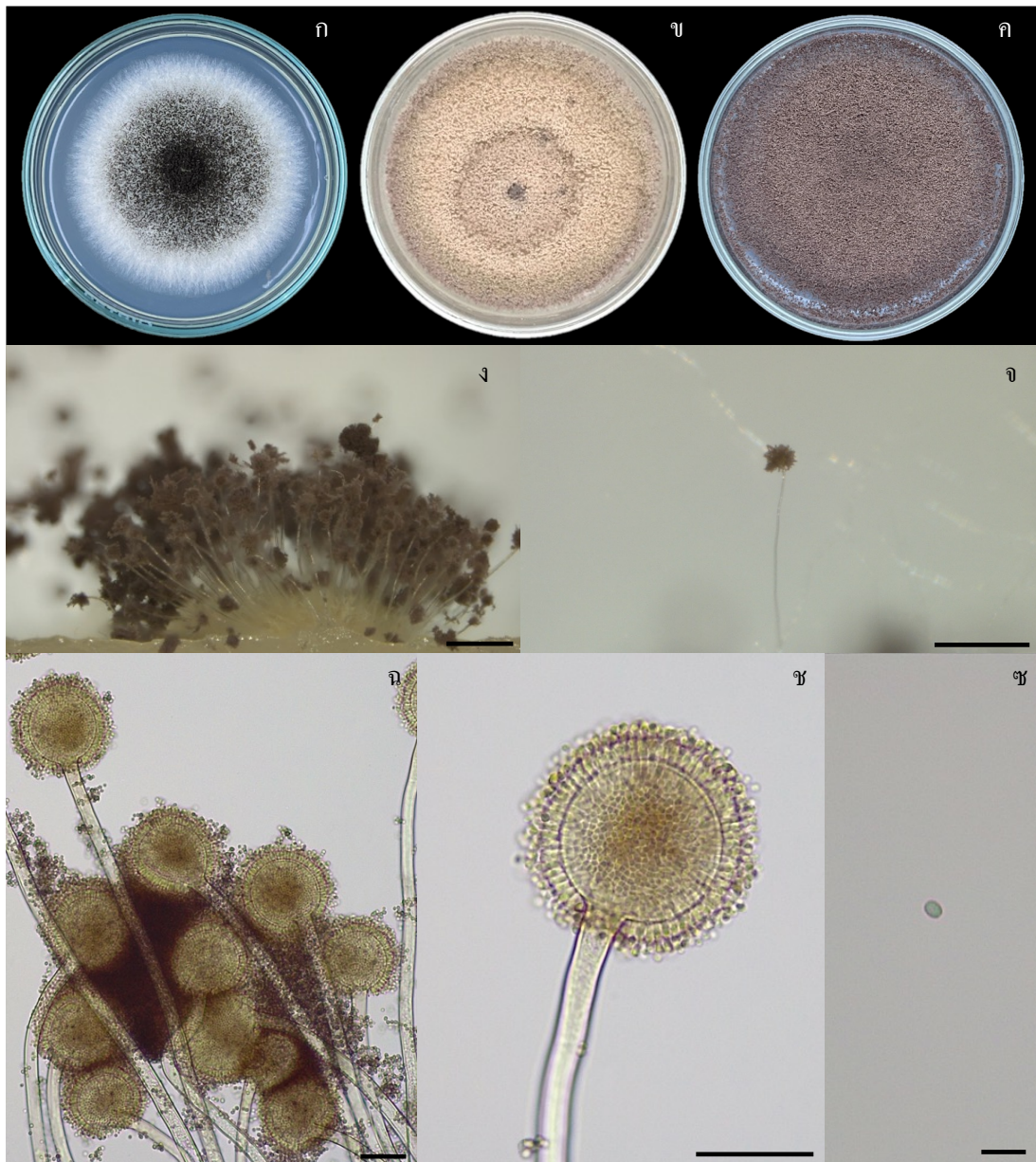
ลักษณะทางสัณฐานวิทยา: โคลนีสบนอาหาร CYA มีสีน้ำตาลอ่อนหรือเทา ตรงกลางสีน้ำตาลและค่อย ๆ จางไปจนถึงขอบของโคลนีสมีเส้นใยสีขาวอ่อน ก้านชูสปอร์สีขาวอ่อน เวชikel มีรูปร่างกลม ขนาด $56.5\text{--}60.0 \times 55.5\text{--}63.0$ ไมโครเมตร มีไฟอะไลต์ 2 ชั้น สร้างคลุมทั้งเวชikel โคนีเดียมีรูปร่างกลม สีน้ำตาลผนังขรุขระ ขนาด $4.2\text{--}5.0 \times 45.0\text{--}5.5$ ไมโครเมตร

จังหวัดที่เก็บตัวอย่าง: พัทลุง

ไอโซเลตที่แยกได้: AsPLG 05 และ AsPLG 06

เอกสารอ้างอิง Houbraken และคณะ (2020)

AsPLG 06: เป็นตัวแทนในการแสดงรายละเอียดของลักษณะทางสัณฐานวิทยา (ภาพที่ 18)



ภาพที่ 18 *Aspergillus trinidadensis* ไอโซเลต AsPLG 06 ลักษณะโคโลนีอายุ 7 วัน ที่อุณหภูมิห้อง ก) อาหาร PDA ข) อาหาร MEA ค) อาหาร CYA ง, จ) ลักษณะ conidial head เป็นกลุ่มและแบบเดี่ยว ๆ ฉ, ช) โคนิดีโอฟอร์ เวซิกเคิล ฟิอะไลด์บนอาหาร PDA และ ซ) โคนิเดีย (สเกลบาร์ภาพ ง และ จ = 1 มิลลิเมตร ภาพ ฉ, ช = 40 ไมโครเมตร และภาพ ซ = 10 ไมโครเมตร)

10. *Aspergillus vadensis*

Section *Nigri*

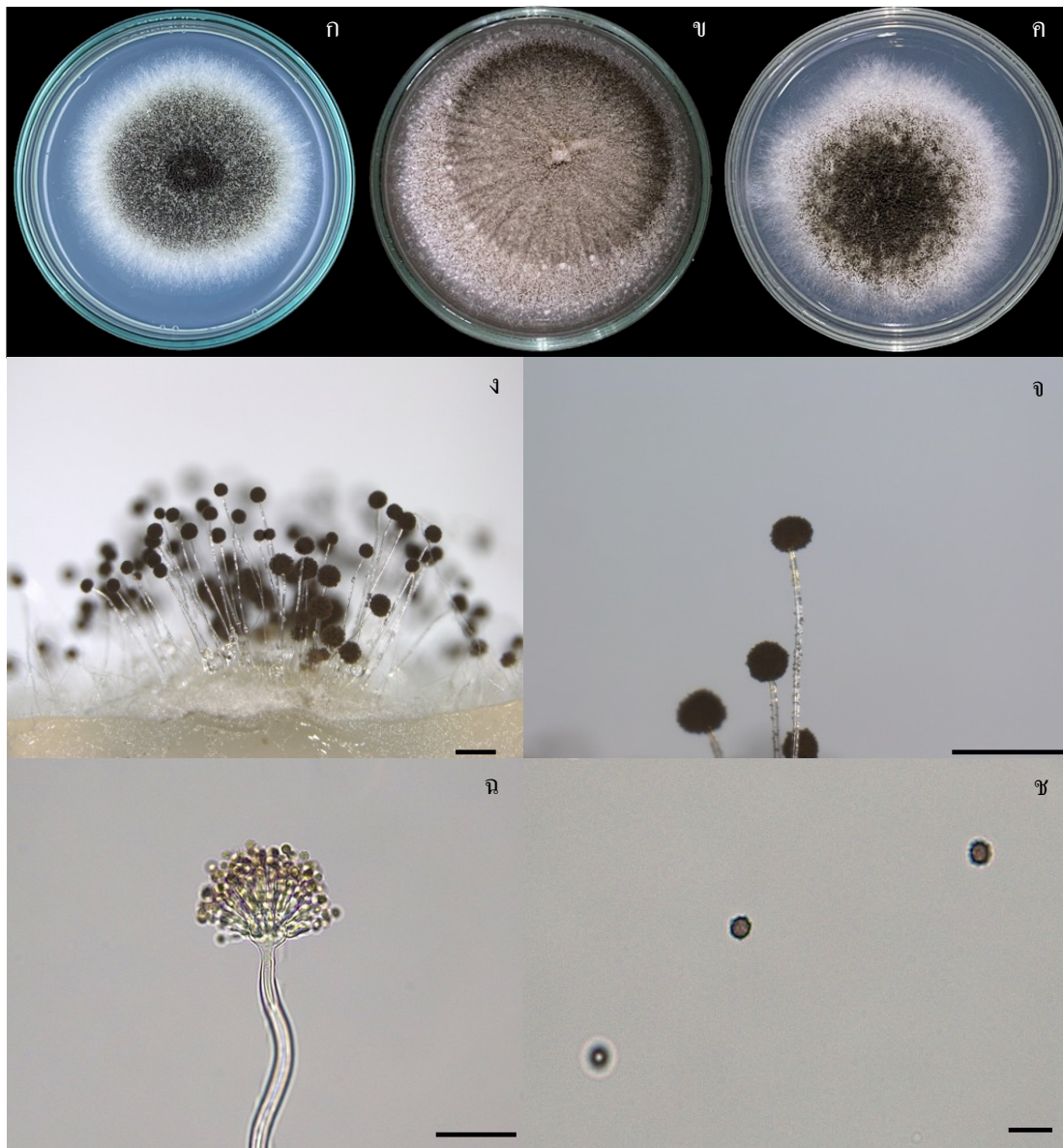
ลักษณะทางสัณฐานวิทยา: โคลนีบนอาหาร CYA มีสีน้ำตาลอ่อนหรือสีน้ำตาลมะกอก ตรงกลางสีน้ำตาลและค่อย ๆ จางไปจนถึงขอบของโคโลนีมีเส้นใยสีขาวอ่อน ก้านชูสปอร์สีขาวอ่อน เวชikel มีรูปร่างกลมขนาด $20.0\text{--}25.0 \times 24.5\text{--}28.0$ ไมโครเมตร มีไฟอะไลด์ 2 ชั้น สร้างคลุมทั้งเวชikel โคนิเดียมีรูปร่างกลม สีน้ำตาลผนังขรุขระ ขนาด $3.5\text{--}4.0 \times 3.6\text{--}4.1$ ไมโครเมตร

จังหวัดที่เก็บตัวอย่าง: กระบี่

ไอโซเลตที่แยกได้: AsKBI 02

เอกสารอ้างอิง Houbraken และคณะ (2020)

AsKBI 02: เป็นตัวแทนในการแสดงรายละเอียดของลักษณะทางสัณฐานวิทยา (ภาพที่ 19)



ภาพที่ 19 *Aspergillus vadensis* ไอโซเลต AsKBI 02 ลักษณะโคโลนีอายุ 7 วัน ที่อุณหภูมิห้อง ก) อาหาร PDA ข) อาหาร MEA ค) อาหาร CYA ง, จ) ลักษณะ conidial head เป็นกลุ่มและแบบเดี่ยว ๆ ฉ) โคนิดีโอฟอร์ เวจเคิล ฟูอะไลด์บนอาหาร PDA และ ช) โคนิเดีย (สเกลบาร์ภาพ ง และ จ = 1 มิลลิเมตร ภาพ ฉ = 40 ไมโครเมตร และภาพ ช = 10 ไมโครเมตร)

11. *Aspergillus unguis*

Section *Nidulant*

ลักษณะทางสัณฐานวิทยา: โคลนินบนอาหาร CYA มีสีเขียวหรือสีเหลืองเขียว ตรงกลางสีน้ำตาล และค่อย ๆ งามไปจนถึงขอบของโคลนินมีเส้นใยสีน้ำตาลอ่อน ก้านชูสปอร์สีขาวอ่อน เวชิตีลมีรูปร่างกลมขนาด 20.0–25.0 × 24.5–28.0 ไมโครเมตร มีฟองไคต์ 2 ชั้น สร้างคลุมทั้งเวชิตีลมีลักษณะแบบ pyriform โคนินเดี่ยวมีรูปร่างกลม สีเขียวเหลืองผนังขรุขระ ขนาด 3.5–4.0 × 3.6–4.1 ไมโครเมตร

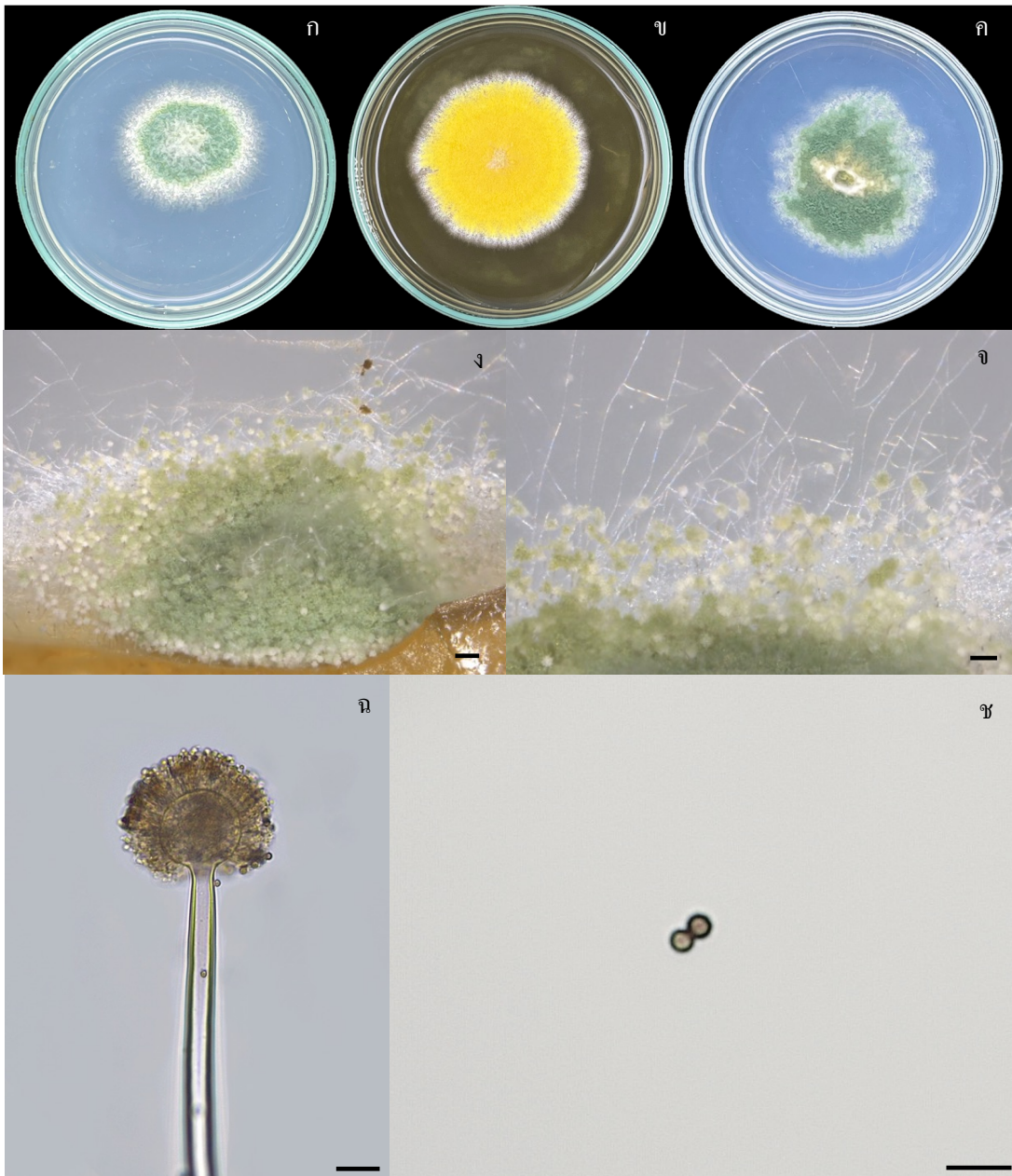
จังหวัดที่เก็บตัวอย่าง: นครศรีธรรมราช

ไอโซเลตที่แยกได้: AsNRT 02, AsNRT 04 และ AsNRT 05

เอกสารอ้างอิง: Houbraken และคณะ (2020)

AsNRT 04: เป็นตัวแทนในการแสดงรายละเอียดของลักษณะทางสัณฐานวิทยา (ภาพที่ 20)

ประโยชน์ของรา *A. unguis*: เคยมีการรายงานผลผลิตสารประกอบพอลิไทด์ที่มีฤทธิ์ในการต้านจุลชีพ *Staphylococcus aureus* ที่ก่อโรคอาหารเป็นพิษในคนได้ (Saetang *et al.*, 2021)



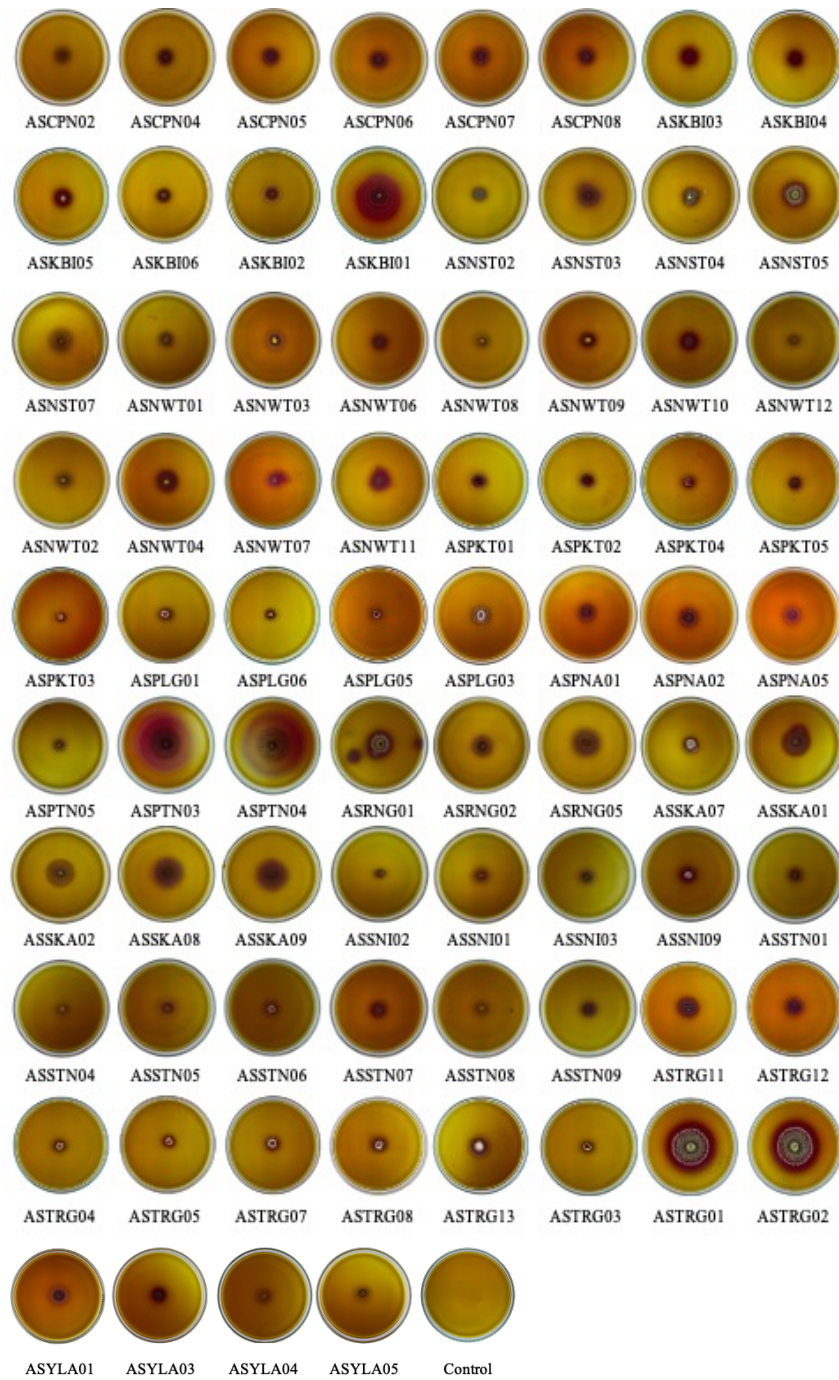
ภาพที่ 20 *Aspergillus unguis* ไอโซเลต AsNRT 04 ลักษณะโคโลนีอายุ 7 วัน ที่อุณหภูมิห้อง ก) อาหาร PDA ข) อาหาร MEA ค) อาหาร CYA ง, จ) ลักษณะ conidial head เป็นกลุ่มและแบบเดี่ยว ๆ ฉ) โคนิดิโอฟอร์ เวชชีเคิล ฟิอะไลด์บนอาหาร PDA และ ช) โคนิเดีย (สเกลบาร์ภาพ ง และ จ = 0.1 มิลลิเมตร ภาพ ฉ = 20 ไมโครเมตร และภาพ ช = 10 ไมโครเมตร)

การทดสอบการสร้างเอนไซม์ไคตินเอสเบื้องต้น

จากการทดสอบการสร้างเอนไซม์ไคตินเอสเบื้องต้นของรา *Aspergillus* species ทั้งหมด 84 ไอโซเลต พบว่า *Aspergillus* species 76 ไอโซเลต ที่สามารถสร้างเอนไซม์ไคตินเอสบนอาหาร chitinase detection medium โดยเกิดการเปลี่ยนสีของอาหารจากสีเหลืองเป็นสีม่วงใต้โคโลนีและรอบ ๆ (ภาพที่ 21) ซึ่งมีช่วงเวลาเริ่มสร้างเอนไซม์ไคตินเอสที่ต่างกัน ได้แก่ เริ่มสร้างวันที่ 1, 2, 3, 4, 6, 7 และ 10 จำนวน 18, 32, 19, 2, 1, 2 และ 2 ไอโซเลต ตามลำดับ (ตารางที่ 6) ผลการทดสอบการสร้างเอนไซม์ไคตินเอสเบื้องต้นของรา *Aspergillus* species ด้วยวิธี gel diffusion method บนอาหาร chitinase detection medium ไม่สามารถวัดการสร้างเอนไซม์ไคตินเอสในเชิงปริมาณได้ แต่แสดงผลในเชิงคุณภาพเมื่อมีการสร้างเอนไซม์ไคตินเอส ส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนสีของอาหารจากสีเหลืองเป็นสีม่วง เนื่องจากไคตินในอาหารถูกย่อยด้วยเอนไซม์ไคตินเอส กลายเป็น N-acetyl glucosamine ก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงค่า pH จากภาวะกรดกลายเป็นภาวะด่าง ส่งผลให้สี bromocresol purple เปลี่ยนจากสีเหลืองเป็นสีม่วงในบริเวณที่มีการย่อยไคตินรอบ ๆ และได้โคโลนี สอดคล้องกับรายงานของ Agrawal และ Kotasthane (2012) ในการใช้อาหาร chitinase detection medium เพื่อทดสอบการสร้างเอนไซม์ไคตินเอสเบื้องต้น และสอดคล้องกับงานวิจัยของ Farag และคณะ (2016) ทดสอบกรองน้ำเลี้ยงเชื้อ *A. terreus* เพื่อให้ได้เอนไซม์ไคตินเอสบริสุทธิ์ พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของ *Penicillium oxysporium*, *Rhizocotonia solani*, *Candida albicans* และ *Fusarium solani* แต่ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของ *Rhizopus oryzae* นอกจากนี้เอนไซม์ยังมีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียก่อโรคบางชนิด เช่น *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi* และ *Pseudomonas aeruginosa* และเคยมีการรายงานการใช้ประโยชน์ของรา Section *Nigri* ในการเป็นเชื้อปฏิปักษ์ได้

การคัดกรองรา *Aspergillus* spp. ละลายฟอสเฟต

รา *Aspergillus* spp. 4 สายพันธุ์ ได้แก่ *A. aculeatus* AsYLA13, *A. alabamensis* AsYLA11, *A. carbonarius* AsYLA4 และ *A. niger* AsYLA1 สามารถละลายฟอสเฟตได้ โดยเกิดวงใส (clear zone) รอบโคโลนีบนอาหาร Pikovskaya's medium (ภาพที่ 22) เนื่องจากในอาหาร Pikovskaya นั้นมีแคลเซียมฟอสเฟต ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$) เป็นส่วนประกอบอยู่และเป็นแหล่งของฟอสเฟตอย่างเดียวนั้นในอาหาร และจากการทดสอบพบว่ารา *A. carbonarius* AsYLA4 และ *A. alabamensis* AsYLA11 สามารถละลายฟอสเฟตในอาหารเลี้ยงเชื้อได้ดีมีค่าเท่ากับ 1.40 และ 1.33 เซนติเมตร ไม่แตกต่างกันทางสถิติเมื่อเทียบกับชุดควบคุมมีค่าเท่ากับ 0 เซนติเมตร (ตารางที่ 7) ซึ่งสอดคล้องกับที่ (Hefnawy *et al.*, 2009) รายงานไว้ว่ารา *Aspergillus* spp. ที่แยกได้จากดิน ได้แก่ *A. niger*, *A. fumigatus*, *A. terreus* และ *A. flavus* สามารถละลายฟอสเฟตได้

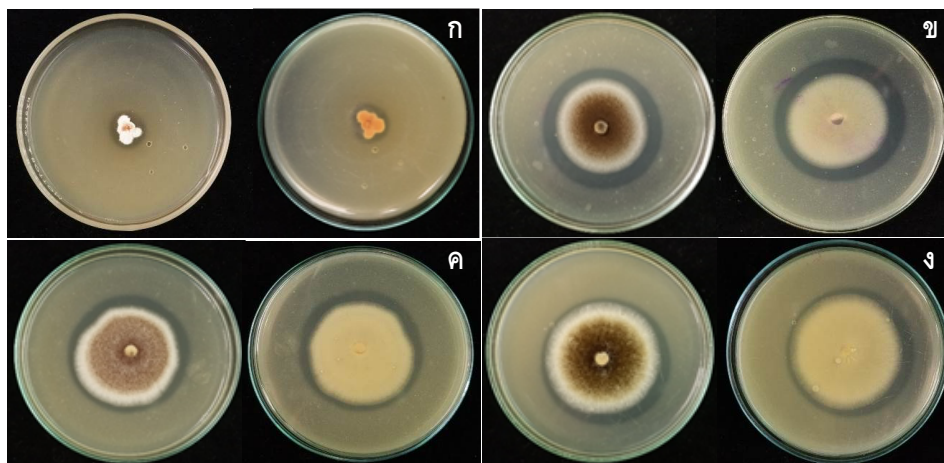


ภาพที่ 21 ภา *Aspergillus* species ไอโซเลตที่สร้างเอนไซม์ไคติเนสบนอาหาร chitinase detection medium

ตารางที่ 6 ราว *Aspergillus* species ที่สร้างเอนไซม์โคติเนสในช่วง 1-14 วัน

วันที่	ไอโซเลต
1	AsCPN 02, AsCPN 04, AsCPN 05, AsCPN 06, AsCPN 07, AsCPN 08, AsKBI 03, AsKBI 04, AsKBI 05, AsPLG 01, AsPNA 01, AsPNA 02, AsPNA 05, AsSNI 02, AsTRG 11, AsTRG 12, AsYLA 01 และ AsYLA 03
2	AsKBI 06, AsKBI 02, AsNWT 03, AsNWT 06, AsNWT 08, AsNWT 09, AsNWT 10, AsNWT 12, AsPKT 01, AsPKT 02, AsPKT 04, AsPKT 05, AsPLG 06, AsPTN 05, AsSKA 07, AsSNI 01, AsSNI 03, AsSNI 09, AsSTN 01, AsSTN 04, AsSTN 05, AsSTN 06, AsSTN 07, AsSTN 08, AsSTN 09, AsTRG 04, AsTRG 05, AsTRG 07, AsTRG 08, AsTRG13, AsYLA 04 และ AsYLA 05
3	AsNST 02, AsNST 03, AsNST 04, AsNST 05, AsNST 07, AsNWT 01, AsNWT 02, AsNWT 04, AsPKT 03, AsPLG 03, AsPLG 05, AsRNG 01, AsRNG 02, AsRNG 05, AsSKA 01, AsSKA 02, AsSKA 08, AsSKA 09 และ AsTRG 03
4	AsPTN 03 และ AsPTN 04
5	-
6	AsKBI 01
7	AsTRG 01 และ AsTRG 02
8	-
9	-
10	AsNWT 07 และ AsNWT 11
11	-
12	-
13	-
14	-

หมายเหตุ: - คือ ไม่มีไอโซเลตที่สร้างเอนไซม์โคติเนส



ภาพที่ 22 ลักษณะด้านบนและล่างของวงไฮรอปโคโลนีรา *Aspergillus* spp. ที่ละลายฟอสเฟตได้บนอาหาร Pikovskaya ก) *A. alabamensis* AsYLA11 ข) *A. aculeatus* AsYLA13 ค) *A. carbonarius* AsYLA4 และ ง) *A. niger* YLA1

ตารางที่ 7 ค่า Halo : Colony ratio ของรา *Aspergillus* spp. ที่ละลายฟอสเฟตได้

Isolate	Halo: Colony ratio (cm) ¹
<i>A. aculeatus</i> AsYLA13	1.15 ± 0.09b
<i>A. alabamensis</i> AsYLA11	1.33 ± 0.08ab
<i>A. carbonarius</i> AsYLA4	1.40 ± 0.10a
<i>A. niger</i> AsYLA1	1.14 ± 0.07b
Agar plug (control)	0 ± 0.00c

¹ Value are the mean ± SD from 3 replications

The value in the column followed by the same letter are not significantly different according to Tukey's HSD test $P > 0.05$

บทที่ 4

สรุปผลและข้อเสนอแนะ

จากตัวอย่างดิน 14 จังหวัดภาคใต้ของประเทศไทย แยกรา *Aspergillus* species ได้จำนวน 106 ไอโซเลต คัดกรองสายพันธุ์ที่ไม่สร้างสารพิษอะฟลาทอกซินได้ 84 ไอโซเลต จากลักษณะทางสัณฐานวิทยาจัดจำแนกได้ 4 section ได้แก่ Section *Terrei*, Section *Flavipes*, Section *Nidulant*, และ Section *Nigri* จำนวน 7, 4, 3, และ 70 ไอโซเลต ตามลำดับ และสามารถระบุชนิดได้ทั้งหมด 11 ชนิด ด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยาร่วมกับการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ ได้แก่ *A. aculeatimus* จำนวน 9 สายพันธุ์ (AsKBI 03, AsKBI 06, AsNWT 06, AsNWT07, AsNWT 09, AsSKL 01, AsSKL02, AsSTN 04 และ AsSTN 08) *A. assiutensis* จำนวน 2 สายพันธุ์ (AsYLA 03 และ AsYLA 04) *A. flavipes* จำนวน 4 สายพันธุ์ (AsTRG 02, AsTRG 03, AsTRG 04 และ AsTRG 07) *A. floridensis* จำนวน 13 สายพันธุ์ (AsKBI 04, AsKBI 05, AsKBI 01, AsNWT 02, AsNWT 01, AsNWT 04, AsNWT 10, AsNWT 11, AsNWT 12, AsSTN 02, AsSTN 03, AsSTN 07 และ AsTRG 05) *A. niger* จำนวน 19 สายพันธุ์ (AsPKT 04, AsPKT 06, AsPNA 01, AsPNA 02, AsPTN 03, AsPTN 04, AsPTN 05, AsPKT 01, AsPKT 03, AsPKT 05, AsRNG 04, AsSKL 08, AsSKL 09, AsSTN 05, AsSTN 09, AsTRG 13, AsTRG 12, AsYLA 05 และ AsNWT 08) *A. terreus* จำนวน 7 สายพันธุ์ (AsNRT 01, AsPLG 01, AsPLG 03, AsTRG 01, AsSLK 07, AsSNI 09 และ AsYLA 02) *A. neoniger* จำนวน 13 สายพันธุ์ (AsCPN 01, AsCPN 02, AsCPN 03, AsCPN 04, AsCPN 05, AsCPN 06, AsCPN 07, AsCPN 08, AsKBI 07, AsNWT 05, AsRNG 05, AsSNI 03 และ AsYLA 01) *A. trinidadensis* จำนวน 2 สายพันธุ์ (AsPLG 05 และ AsPLG 06) *A. unguis* จำนวน 3 สายพันธุ์ (AsNRT 02, AsNRT 04 และ AsNRT 05) *A. tubingensis* จำนวน 11 สายพันธุ์ (AsPKT 02, AsNWT 03, AsNRT 07, AsNRT 03, AsPNA 05, AsSNI 01, AsSNI 02, AsTRG 11, AsTRG 09, AsSTN 01 และ AsRNG 02) และ *A. vadensis* จำนวน 1 สายพันธุ์ (AsKBI 02)

รา *Aspergillus* species 76 สายพันธุ์ สามารถสร้างเอนไซม์ไคตินเนสบนอาหาร chitinase detection medium ได้ และ 8 สายพันธุ์ ไม่สร้างไคตินเนส คือ AsCPN 03, AsKBI 07, AsNWT 05, AsRNG 04, AsSTN 02, AsSTN 03, AsPKT 06 และ AsTRG 09

รา *Aspergillus* species ที่สร้างเอนไซม์ไคตินเนส 76 สายพันธุ์จากงานวิจัยนี้สามารถนำมาศึกษาคุณสมบัติการเป็นจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ต่อไปได้ ส่วนการระบุชนิดควรนำมาศึกษา

ควบคู่กับลักษณะทางชีวโมเลกุลโดยเพิ่มตำแหน่งยีนให้มากกว่า 2 ตำแหน่ง เช่น ตำแหน่งยีน *beta-Tubulin* เพื่อใช้ในการระบุชนิดต่อไป เนื่องจากรา *A. assiutensis* Section *Nigri* ใน Phylogenetic tree ยังไม่สามารถระบุชนิดของราได้ชัดเจน

เอกสารอ้างอิง

- ชลนิชา ทองขลิบ, วิเชียร กิจปรีชาวนิช. 2549. เชื้อรา *Aspergillus* ที่แยกจากประเทศไทยและความสามารถในการผลิตเอนไซม์อาหารสัตว์. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 44 หน้า 823–974.
- นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ, และ ปรีชา สุวรรณพินิจ. 2541. จุลชีววิทยาทั่วไป. พิมพ์ครั้งที่ 4. สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 735 หน้า.
- ประภาส กาวิชา, และ อภิเดช แสงดี. 2012. การควบคุมโรคพืชโดยการใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์. วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีมหาวิทยาลัยมหาสารคาม 2: 220–229.
- ปิยวรรณ กลมเกลี้ยง, ธีระชัย ชนानันต์, และ นิรมล ศากยวงศ์. 2557. การจําแนกราดด้วยวิธีไอทีเอสพีซีอาร์และ ความสามารถในการบำบัดสปีโรแอคทีฟ RR141. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 22: 683–694.
- คุณิณี ชนะบริพัฒน์. 2537. จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม โครงการตำรา คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยี พระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร.
- สุธีรา สุนทรารักษ์, และ เทพอัปสร แสนสุข. 2562. การคัดแยกเชื้อราที่มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์เซลลูลูเลส เพื่อการใช้ประโยชน์เชิงเกษตรชีวภาพ. วารสารวิชาการสิ่งแวดล้อมไทย 2: 1–9.
- อัจฉราพร ศรีจุฑาน, สุพิ วนศิริกุล, และ มัทนา วานิชย์. 2558. เชื้อรา *Aspergillus flavus* สายพันธุ์ใหม่ที่ไม่สร้างสารพิษและศักยภาพการควบคุม การเจริญเติบโตของเชื้อราที่สร้างสารพิษและยับยั้งสารอะฟลาทอกซินบี 1 ในข้าวโพด. วารสารวิชาการเกษตร 33: 118–131.
- Abdou, R., Mojally, M. and Attia, G. 2021. Investigation of bioactivities of endophytes of *Ficus carica* L. Fam Moraceae. Bulletin of the National Research Centre 45:49.
- Adebola, M.O. and Amadi, J.E. 2010 Screening three *Aspergillus* species for antagonistic activities against the cocoa black pod organism (*Phytophthora palmivora*). Agriculture and Biology Journal of North America 1: 362–365.
- Adl, S. M., Simpson A. G. B., M. A. Farmer, R. A. Andersen, et al. 2005. The new higher level classification of eukaryotes with emphasis on the taxonomy of protists. Journal of Eukaryotic Microbiology 5: 399–451.
- Agrawal, T. and Kotasthane, A. S. 2012. Chitinolytic assay of indigenous *Trichoderma* isolates collected from different geographical locations of Chhattisgarh in Central India. SpringerPlus 1: 73.

- Ashraf, S.A. and Ali, G. 2019. *Aspergillus flavipes* is a novel efficient biocontrol agent of *Phytophthora parasitica*. *Biological Control* 140: 104072.
- Assante, G., Camarda, L., Locci, R., Merlini, L., Nasini, G. and Papadopoulos, E. 1981: Isolation and structure of red pigments from *Aspergillus flavus* and related species, grown on a differential medium. *Journal Agriculture Food Chemistry* 29: 785–787.
- Ashtiani, N. M., Kachuei, R. and Yalfani, R. 2017. Identification of *Aspergillus* sections *Flavi*, *Nigri*, and *Fumigati* and their differentiation using specific primers. *Le Infezioni in Medicina* 25: 127–132.
- Atehnkeng, J., Ojiambo, P. S., Dormner, M., Ikotun, T., Sikora, R. A., Cotty, P. J. and Bandyopadhyay, R. 2008. Distribution and toxigenicity of *Aspergillus* species isolated from maize kernels from three agroecological zones in Nigeria. *International Journal of Food Microbiology* 122: 74–84.
- Berbee, M. L., Yoshimura, A. Sugiyama, J. and Taylor, J. W. 1995. Is *Penicillium* monophyletic? An evaluation of phylogeny in the family Trichocomaceae from 18S, 5.8S and ITS ribosomal DNA sequence data *Mycologia* 87: 210–222.
- Bruce, A. 1991. Control of growth of wood decay Basidiomycetes by *Trichoderma* spp. and other potentially antagonistic fungi. *Journal of Forest Products* 41: 63–67.
- Bothast, R.J and Fennell, D.I. 1974. A medium for rapid identification and enumeration of *Aspergillus flavus* and related organisms. *Mycologia* 66: 365–369.
- Bosah, O., Igeleke, C. A. and Omorusi, V. I. 2010. In vitro microbial control of pathogenic *Sclerotium rolfsii*. *International Journal of Agriculture & Biology* 12: 474–476.
- Brazzinska, M. S. and Jankiewicz, U. 2012. Production of antifungal chitinase by *Aspergillus niger* LOCK 62 and its potential role in the biological control 65: 666–672.
- Buaruang, J. Manoch, L. Chamswarnng, C. Piasai, O. Yaguchi, T. and Kijjoa, A. 2015. Species of *Aspergillus* Section *Fumigati* from the coral reefs in the gulf of thailand and andaman sea and their antagonistic effects against plant pathogenic fungi. *Thai Journal Of Agricultural Science* 48: 87–107.
- Chen, A. J., Hubka, V., Frisvad, J.C., et al. 2017. Polyphasic taxonomy of *Aspergillus* section *Aspergillus* (formerly *Eurotium*), and its occurrence in indoor environments and food. *Studies in Mycology* 88: 37–135.
- Devi, P., Kumar, A. and Sayal, P. 2014. An aspergilloma caused by *Aspergillus flavus*. *International Journal of Basic and Applied Medical Sciences* 4: 132–136.

- Drott, M. T., Lazzaro, B. P., Brown, D. L., Carbone, I. and Milgroom, M. G. 2017. Balancing selection for aflatoxin in *Aspergillus flavus* is maintained through interference competition with, and fungivory by insects. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 284: 20172408.
- Dolar, F.S. 2001. Antagonistic effect of *Aspergillus melleus* Yukawa on soilborne pathogens of chickpea. *Tarim bilimleri dergisi* 8: 167–170.
- Estrella, S.F., Garcia, V.C., Lopez, M.J., Capel, C. and Moreno, J. 2007. Antagonistic activity of bacteria and fungi from horticultural compost against *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*. *Crop Protection* 26: 46–53.
- Farag, A.M., Abd-Elnabey, H.M., Ibrahim, A.H. and El-Shenawy, M. 2016. Purification, characterization and antimicrobial activity of chitinase from marine-derived *Aspergillus terreus*. *The Egyptian Journal of Aquatic Research* 42: 185–192.
- Geiser, D.M., Samson, R.A., Varga, J., Rokas, A. and Witiak, S.M. 2008. A review of molecular phylogenetics in *Aspergillus*, and prospects for a robust genus-wide phylogeny. *Aspergillus in the genomic era*. 17–32.
- Glass, N.L. and Donalson, G.C. 1995. Development of primer sets designed for use with the PCR to amplify conserved genes from filamentous Ascomycetes. *Applied and Environmental Microbiology*. 61: 1323–1330.
- Hall, T.A. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series* 41: 95–98.
- Houbraken, J., Kocsube, S., Visagie, C.M., Yilmaz, N., Wang, X.-C., Meijer, M., Kraak, B., Hubka, V., Bensch, K., Samson, R. A. and Frisvad, J.C. 2020. Classification of *Aspergillus*, *Penicillium*, *Talaromyces* and related genera (Eurotiales): An overview of families, genera, subgenera, sections, series and species. *Studies in Mycology* 95: 5–169.
- Hu, X., Webster, G., Xie, L., Yu, C., Li, Y. and Liao, X. 2013. A new mycoparasite, *Aspergillus* sp. ASP-4, parasitizes the sclerotia of *Sclerotinia sclerotiorum*. *Crop Protection* 54: 15–22.
- Hefnawy, A.M., Gharieb, M.M., Eissa, A.O. and Ammar, M.A. 2009. Evolution and optimization of rock phosphate and tricalcium phosphate solubilization by some soil fungi. *The Egyptian society of experimental biology* 5: 75 – 84.

- Index fungorum partnership. 2022. Index Fungorum. August 2022 Retrieved from <http://www.indexfungorum.org/names/names.asp>
- International Agency for Research on Cancer. 1993. Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans; some naturally occurring substances: Food Items and constituents. Heterocyclic aromatic amines and mycotoxine 56: 245–395.
- Jefremova, M. Ostrý, V. Malír, F. and Ruprich, J. 2016. Rapid diagnostic testing of toxigenic microfungi isolated from foodstuffs. National Institute of Public Health in Prague 85: 151–156.
- Jovičić, J., Jeremić, S., Vučković, I., Vojnović, S., Bulajić, A., Raičević, V. and Nikodinović, J. 2016. *Aspergillus piperis* A/5 from plum-distilling waste compost produces a complex of antifungal metabolites active against the phytopathogen *Pythium aphanidermatum*. Archives of Biological Sciences 68: 279–289.
- Kaewchai, S. and Soyong, K. 2010. Application of biofungicides against *Rigidoporus microporus* causing white root disease of rubber trees. Journal of Agricultural Technology 6: 349–363.
- Karen, O. 1993. *Aspergillus* enzymes and industrial uses. In Powel, K. A., A. Renwick and J. F. Peberdy. The genus *Aspergillus* from taxonomy and genetics to industrial application. Plenum press, New York and London.
- Klich, M. A. 2002. Identification of common *Aspergillus* species. CBS.
- Krishnaveni, B. and Ragunathan, R. 2014. Chitinase production from marine wastes by *Aspergillus terreus* and its application in degradation studies. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences 3: 76–82.
- Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C. and Tamura, K. 2018. MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. Molecula Biology and Evolution 35: 1547–1549
- Kuntawee, S. and Akarapisan, A. 2015. Isolation and identification of *Aspergillus* species producing Ochratoxin A in Arabica coffee beans. Journal of Agricultural Technology 11: 1235–1242.
- Lakshmi, G. S., Rao, C. S., Rao, R.S., Hobbs, P. J. and Prakasham, R. S. 2009. Enhanced production of xylanase by a newly isolated *Aspergillus terreus* under solid state fermentation using palm industrial waste: A statistical optimization. Biochemical Engineering Journal 48: 51–57.

- Margo, A., SomerenRobert, K., Samson, A.R. and Visser, J. 1991. The use of RFLP analysis in classification of the black Aspergilli: reinterpretation of the *Aspergillus niger* aggregate. *Current Genetics* 19: 21–26.
- Meijer, M., Houbraken, J.A.M.P., Dalhuijsen, S., Samson, R.A. and de Vries, R.P. 2011. Growth and hydrolase profiles can be used as characteristics to distinguish *Aspergillus niger* and other black aspergilli. *Studies in Mycology* 69: 19–30.
- Muzzarelli, R. A. A. 1997. Human enzymatic activities related to the therapeutic administration of chitin derivatives. *Cellular and Molecular Life Sciences* 53: 131–140.
- Ngo, M. T., Van Nguyen, M., Han, J. W., Kim, B., Kim, Y. K., Park, M. S., Kim, H. and Choi, G. J. 2021. Biocontrol potential of *Aspergillus* species producing antimicrobial metabolites. *Frontiers in Microbiology* 12: 804333.
- Noonim, P., Mahakarnchanakul, W., Varga, J., Frisvad, C.J. and Samson, A.R. 2008. Two novel species of *Aspergillus* Section *Nigri* from Thai coffee beans. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 58: 1727–1734.
- Ogawa, M., Tokuoka, M. Jie, F. Takahashi, T. and Koyama, Y. 2010. Genetic analysis of conidiation regulatory pathways in koji-mold *Aspergillus oryzae*. *Fungal Genetics and Biology* 47: 10–18.
- Peterson, S. W., Varga, J., Frisvad, J. C., Samson, R. A., Varga, J., and Samson, R. 2008. Phylogeny and subgeneric taxonomy of *Aspergillus*. *Aspergillus* 334.
- Petrovic, J. J., Jeremic, S., Vuckovic, I., Vojnovic, S., Bulajic, A. and Raicevic, V. 2016. *Aspergillus piperis* A/5 from plum-distilling waste compost produces a complex of antifungal metabolites active against the phytopathogen. *Pythium aphanidermatum* *Archives of Biological Sciences* 68: 279–289.
- Pitt, J. I. and Hocking, A. D. 2009. Methods for isolation, enumeration and identification. *Fungi and food spoilage*. 19–52.
- Piepenbring, M. 2015. *Introduction to Mycology in the Tropics*. APS Press, American Phytopathological Society. 137–258.
- Premono, M.E., Moawad, A.M. and Vlek, P.L.G. 1996. Effect of phosphate-solubilizing *Pseudomonas putida* on the growth of maize and its survival in the rhizosphere. *Indonesian Journal of Crop Science* 11: 13–23.

- Raper, K. B., and Fennell, D. I. 1965. The Genus *Aspergillus*. the Williams and Wilkins company. Baltimore, USA, 612.
- Rawway, M., Beltagy, E. A., Abdul-Raouf, U. M., Elshenawy, M. A. and Kelany, M. S. 2018. Optimization of process parameters for chitinase production by a marine *Aspergillus flavus* MK20. *Journal of ecology of Health & Environment* 1: 1–8.
- Roberts, W. K., and Selitrennikoff, C. P. 1988. Plant and bacterial chitinases differ in antifungal activity. *Microbiology* 1: 169–176.
- Saetang, P., Rukachaisirikul, V., Phongpaichit, S., Preedanon, S., Sakayaroj, J., Hadsadee, S. and Jungstittiwong, S. 2021. Antibacterial and Antifungal Polyketides from the Fungus *Aspergillus unguis* PSU-MF16. *Journal of Natural Products*. 84: 1498–1506.
- Samson, R. A., Visagie, C. M., Houbraken, J., Hong, S. B., Hubka, V., Klaassen, C. H. and Frisvad, J. 2014. Phylogeny, identification and nomenclature of the genus *Aspergillus*. *Studies in mycology* 78: 141–173.
- Saitoh, K.I., Togashi, K. and Arie, T. 2006. A simple method for a mini-preparation of fungal DNA. *Journal of General Plant Pathology* 72: 348–350.
- Sargeant, K., Sheridan, A., O'Kelly, J. and Carnaghan, R. B. A. 1961. Toxicity associated with certain samples of groundnuts. *Nature* 192: 1096–1097.
- Seye, F., Bawin, T., Boukraa, S., Zimmer, J. Y., Ndiaye, M., Delvigne, F. and Francis, F. 2014. Effect of entomopathogenic *Aspergillus* strains against the pea aphid, *Acyrtosiphon pisum* (Hemiptera: Aphididae). *Applied entomology and zoology* 49: 453–458.
- Silva, D. M., Batista, L. R. and Rezende, E. F. 2011. Identification of fungi of the genus *Aspergillus* section *Nigri* using polyphasic taxonomy. *Brazilian Journal of Microbiology* 42: 761–773.
- Silva-Junior, E. A., Paludo, C. R., Valadares, L., Lopes, N. P., Nascimento, F. S. and Pupoa, M. T. 2017. Aflatoxins produced by *Aspergillus nomius* ASR3, a pathogen isolated from the leaf-cutter ant *Atta sexdens rubropilosa*. *Revista Brasileira de Farmacognosia* 27: 529–532.
- Suarez, E. F., Vargas, G. C., Lopez M. J., Capel, C. and Moreno, J. 2007. Antagonistic activity of bacteria and fungi from horticultural compost against *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*. *Crop Protection* 26: 46–53.

- Sherief, A. A., El-Sawah, M. M. A., Mohamed, A. and El-Naby, A. 1991. Some properties of chitinase produced by a potent *Aspergillus carneus* strain. *Applied Microbiology and Biotechnology* 35: 228–230.
- Sklenár, F., Jurjevic, Z., Peterson, S, *et.al.* 2021. Re-examination of species limits in *Aspergillus* section *Flavipedes* using advanced species delimitation methods and description of four new species. *Studies in Mycology* 99: 100–120.
- Swofford, D.L., 2003. PAUP 4.0: phylogenetic analysis using parsimony. Sinauer Associates, Sunderland, MA.
- Tanney, J. B., Visagie, C. M., Yilmaz, N. and Seifert, K. A. 2017. *Aspergillus* subgenus *Polypaecilum* from the built environment. *Studies In Mycology* 88: 237–267.
- Thompson, J. D., Higgins, D. G. and Gibson, T. J. 1994. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Research*. 22: 4673–4680.
- Tamura, K., Peterson, D., Peterson, N., Stecher, G., Nei, M. and Kumar, S. 2011. MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Molecular biology and evolution* 28: 2731–2739.
- Ulhoa, C.J. and Peberdy, J.F. 1991. Purification and characterization of an extracellular chitobiase from *Trichoderma harzianum*. *Current Microbiology* 23: 285–289.
- Varga, J., Samson, R. A. and Frisvad, J. 2011 Taxonomic studies on the genus *Aspergillus*. *Mycology* 69: 1–19.
- Wang, S.L., Yieh, T.C. and Shih, I.L. 1999. Production of antifungal compounds by *Pseudomonas aeruginosa* K187 using shrimp and crab shell powder as a carbon source. *Enzyme and Microbial Technology* 25:142–148.
- Wang, X. C. and Zhuang, W.Y. 2022. New Species of *Aspergillus* (Aspergillaceae) from Tropical Islands of China. *Journal of Fungi* 8: 225.
- Webster, J. and Weber R.W.S. 2007. Introduction to fungi. Cambridge University Press.
- White, J.T., Bruns, D.T., Lee, B.S. and Taylor, J.W. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA Genes for phylogenetics. *Journal of PCR Protocols A Guide to Methods and Applications* 18: 315–322.

Yang, Y., Zhang, Y., Wang, M., Shan, L. S., Ma, X. and Xu, Z. 2015. Bioefficacy of entomopathogenic *Aspergillus* strains against the melon fly, *Bactrocera cucurbitae* (Diptera: Tephritidae). *Applied entomology and zoology* 50: 443–449.

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ สกุล นายอิทธิพล จิตพิทักษ์

รหัสประจำตัวนักศึกษา 6110620027

วุฒิการศึกษา

วุฒิ	ชื่อสถาบัน	ปีที่สำเร็จการศึกษา
วิทยาศาสตรบัณฑิต (เกษตรศาสตร์)	มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์	2565

ทุนการศึกษา (ที่ได้รับในระหว่างการศึกษา)

สถานวิจัยความเป็นเลิศเทคโนโลยีชีวภาพเกษตรและทรัพยากรธรรมชาติ ระยะที่ 2 คณะ
ทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

การตีพิมพ์เผยแพร่ผลงาน

อิทธิพล จิตพิทักษ์, ชนินันท์ พรสุริยา และ สายทอง แก้วฉาย. 2563. การระบุชนิดและคัดกรองรา
Aspergillus species ละลายฟอสเฟต ที่แยกได้จากดินสามจังหวัดชายแดนใต้ของประเทศไทย. วารสารมหาวิทยาลัยนราธิวาสราชนครินทร์ ปีที่ 12 ฉบับที่ 1. 163–172.