

ประสิทธิภาพของราเอนโดไฟท์จากโสน (*Sesbania javanica*) ในการยับยั้งราสาเหตุโรคพืช

Efficacy of endophytic fungi isolated from *Sesbania javanica* against plant pathogenic fungi

ชุตินา แก้วกระเจา^{1*}, ชิดา เดชอวบ² และ เลิศชาย สติชัยพนาวงศ์¹

Chutima Kaewkraja^{1*}, Tida Dethoup² and Lerdchai Sathitpanawong¹

บทคัดย่อ: การแยกราเอนโดไฟท์จากกิ่งและใบโสนบริเวณอำเภอดงหลวง จังหวัดแพร่ พบราเอนโดไฟท์จำนวน 143 สายพันธุ์ จัดจำแนกชนิดได้ 7 สกุล 5 ชนิด ดังนี้ *Chaetomium globosum*, *Curvularia lunata*, *Curvularia* spp., *Nigrosporium sphaerica*, *Pestalotiopsis* spp., *Phomopsis* spp., *Talaromyces trachyspermus*, *Zygosporium masonii* และ unidentified spp. เมื่อนำราเอนโดไฟท์ที่แยกได้ 21 สายพันธุ์ มาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของราสาเหตุโรคพืช 10 ชนิดบนอาหาร PDA พบว่า *T. trachyspermus* สายพันธุ์ 1-41-4 มีประสิทธิภาพสูงสุดในการยับยั้งการเจริญของราสาเหตุโรคพืช โดยพบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของรา *Bipolaris maydis* สาเหตุโรคใบไหม้ข้าวโพดและ *Alternaria alternata* สาเหตุโรคผลเน่าของสาลี่ได้ถึง 64.8% และ 76.7% ตามลำดับ และราเอนโดไฟท์ *Phomopsis* sp. สายพันธุ์ 3-212-2 สามารถยับยั้งการเจริญของรา *Colletotrichum* spp. สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของผักและผลไม้ได้มากกว่า 70% สามารถยับยั้งการเจริญของรา *Fusarium oxysporum* สาเหตุโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ และ *Phytophthora palmivora* สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียนได้มากกว่า 60% ขณะที่ราเอนโดไฟท์ *C. globosum* สายพันธุ์ 46-101-2 และ 53-84-5 สามารถยับยั้งการเจริญของรา *Rhizoctonia solani* สาเหตุโรคโคนเน่าของถั่วเขียวและ *Sclerotium rolfsii* สาเหตุโรคกาบใบแห้งของข้าวโพดได้สูงสุด 65% และ 58% ตามลำดับ ส่วนราเอนโดไฟท์ที่เหลือสามารถควบคุมราสาเหตุโรคพืชได้ปานกลาง

คำสำคัญ: ราเอนโดไฟท์, โสน, การควบคุมศัตรูพืชโดยชีววิธี

ABSTRACT: One hundred and forty three isolates of endophytic fungi were obtained from leaves and twigs of *Sesbania javanica* in Ayutthaya. They were identified into 7 genera and 5 species based on morphological characteristics, including *Chaetomium globosum*, *Curvularia lunata*, *Curvularia* spp., *Nigrosporium sphaerica*, *Pestalotiopsis* spp., *Phomopsis* spp., *Talaromyces trachyspermus*, *Zygosporium masonii*, and unidentified fungi which produced only sterile mycelium. The twenty-one isolates of endophytic fungi were selected for antagonistic activity testing with 10 species of plant pathogenic fungi *in vitro*. *T. trachyspermus* isolate 1-41-4 showed highly inhibited mycelial growth of *Bipolaris maydis* (causing leaf blight of corn) and *Alternaria alternata* (causing fruit rot of Chinese pear) at 64.8% and 76.7%, respectively. In addition, endophytic fungi *Phomopsis* sp. isolate 3-212-2 could inhibit more than 70% mycelial growth of *Colletotrichum* spp. (causing anthracnose disease of fruit and vegetable), and also inhibited more than 60% mycelial growth of *Fusarium oxysporum* (causing wilt disease of tomato) and *Phytophthora palmivora* (causing root and stem rot of durian). Endophytic fungi *C. globosum* isolates 46-101-2 and 53-84-5 inhibited *Rhizoctonia solani* (causing sheath leaf rot of corn) and *Sclerotium rolfsii* (causing root and stem rot of mung bean) at 65% and 58%, respectively. The rest of endophytic fungi produced only moderate inhibition of the radial growth of plant pathogens.

Keywords: endophytic fungi, *Sesbania javanica*, biological control

¹ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนครศรีอยุธยา พระนครศรีอยุธยา 13000

Faculty of Science and Technology, Phranakhon Si Ayutthaya Rajabhat University, Ayutthaya, 13000

² คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน กรุงเทพฯ 10900

Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Bangkok, Bangkok, 10900

* Corresponding author: kchutima@aru.ac.th, pretty_yeast@yahoo.com

บทนำ

ราเอนโดไฟท์ (Endophytic fungi) คือ ราที่อาศัยอยู่ในเนื้อเยื่อพืชโดยไม่ทำให้พืชแสดงอาการของโรค บางชนิดยังมีคุณสมบัติช่วยป้องกันการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุโรคพืชและทำให้พืชอาศัยทนต่อสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม ราบางกลุ่มอาศัยอยู่ร่วมกับพืชแบบพึ่งพาอาศัย (symbiosis)

การศึกษาราเอนโดไฟท์และการนำไปใช้ประโยชน์ในปัจจุบัน มีผู้ให้ความสนใจมากเนื่องจากราเอนโดไฟท์มีศักยภาพในการใช้ควบคุมโรคและแมลงศัตรูพืชทางการเกษตร (Kumar et al., 2008; Anita et al., 2009; Mei et al., 2010) เช่น การค้นพบราเอนโดไฟท์ *Coniochaeta ligniaria* จากเปลือกต้นสนทราย (*Baeckea frutescens*) มีฤทธิ์สามารถยับยั้งการเจริญของราสาเหตุโรคพืช *Pythium aphanidermatum*, *Phytophthora palmivora*, *Sclerotium rolfsii* และ *Rhizoctonia oryzae* ได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Kokeaw et al., 2011) นอกจากนี้ราเอนโดไฟท์หลายชนิดสามารถสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่นำมาใช้ในการรักษาโรคมะเร็ง (Hazalin et al., 2009; Ramos et al., 2010) ในปี ค.ศ. 1998 Schutz et al. ได้รายงานสรุปว่า 51% ของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ แยกได้จากราเอนโดไฟท์ และสามารถพบได้ทั่วไปในพืชทุกชนิด (Strobel, 2006) ปัจจุบันยังมีการค้นพบราเอนโดไฟท์หลายชนิดที่สร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพชนิดใหม่ที่สามารถนำมาใช้ประโยชน์ทางการแพทย์และการเกษตรอย่างต่อเนื่อง

สำหรับประเทศไทยเกษตรกรต้องประสบปัญหามากมายในการผลิตพืช ไม่ว่าจะเป็นปัญหาการเข้าทำลายพืชจากศัตรูพืช ปัญหาค่าใช้จ่ายในการซื้อสารกำจัดศัตรูพืช และปัญหาสารพิษตกค้างจากสารกำจัดศัตรูพืชต่างๆ ซึ่งเป็นปัญหาใหญ่ต่อระบบการผลิตพืชเศรษฐกิจของประเทศ ปัจจุบันจึงได้มีการศึกษาวิจัยค้นหายาลิขสิทธิ์ยักยักที่มีคุณสมบัติยับยั้งการเจริญของราสาเหตุโรคพืช และสามารถนำมาพัฒนาเป็นชีวภัณฑ์จำหน่ายในท้องตลาดแทนที่ใช้สารเคมี

(อิริตถิ, 2546; Soyong et al., 2001; Chamsawang et al., 2010)

สำหรับการศึกษาราเอนโดไฟท์ในโสน (*Sesbania javanica* Miq.) ซึ่งเป็นพืชที่ขึ้นเป็นจำนวนมากในจังหวัดพระนครศรีอยุธยาและยังไม่มีการศึกษามาก่อน นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าเส้นใยของต้นโสนมีสารต้านเชื้อแบคทีเรีย (ไทยโพสต์, 2553) จึงนับว่าเป็นเรื่องที่น่าสนใจ การแยกและการเก็บรวบรวมสายพันธุ์ราดังกล่าวอาจนำไปสู่การค้นพบราเอนโดไฟท์สายพันธุ์ใหม่ ที่สามารถนำมาใช้เป็นชีวภัณฑ์ควบคุมศัตรูพืชได้ รวมทั้งยังสามารถสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีประสิทธิภาพในการนำไปใช้ประโยชน์ทางการแพทย์หรือการแพทย์ได้ในอนาคต

วิธีการศึกษา

1. การเก็บตัวอย่าง

เก็บตัวอย่างใบและกิ่งโสน (*S. javanica*) บริเวณจังหวัดพระนครศรีอยุธยา รวม 11 อำเภอ ทั้งหมด 90 ตัวอย่าง จากอำเภอลาดบัวหลวง พระนครศรีอยุธยา บางไทร บางบาล ผักไห่ บางปะอิน บางปะหัน วังน้อย เสนา บางซ้าย และอุทัย โดยเก็บใบและกิ่งใส่ถุงพลาสติก บันทึกข้อมูล สถานที่ที่เก็บ วันที่เก็บ และอื่นๆ

2. การแยกเชื้อราเอนโดไฟท์ (Strobel, 2006)

ใช้คีมตัดกิ่งโสนยาว 1 นิ้ว จำนวน 3-5 ชิ้น ใส่ในจานเพาะเลี้ยงเชื้อที่อบฆ่าเชื้อ จากนั้นใช้ปากคีบจุ่มกิ่งโสนที่ตัดไว้ในแอลกอฮอล์ 75% นำผ่านเปลวไฟ 2 วินาที เมื่อกิ่งโสนเย็น จึงใช้มีดผ่าตัดที่ปราศจากเชื้อเฉือนผิวเปลือก ส่วนกลางและส่วนใน (บริเวณ cambium) วางชิ้นส่วนของพืชบนอาหารวุ้น water agar (WA) โดยแยกแต่ละส่วนออกจากกัน กรณีผิวเปลือกของกิ่งให้วาง 4 ชิ้น บนอาหารวุ้น บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 28°C เก็บในกล่องพลาสติกที่ใส่ลูกเหม็นกันแมลง เนื่องจากราเอนโดไฟท์เป็นราที่เจริญช้ากว่าราชนิดอื่น จึงต้องตรวจดูทุก 2-3 วัน เพื่อกำจัดราที่ปนเปื้อน เมื่อราเจริญ

ใช้เข็มตัดชิ้นส่วนของราย้ายไปเลี้ยงบนอาหารแข็งเอียง potato dextrose agar (PDA)

ส่วนการแยกราเอนโดไฟท์จากใบ ทำโดยนำใบ โสนที่สมบูรณ์ไม่เป็นโรคมาล้างน้ำให้สะอาด ทำให้แห้ง บนกระดาษกรอง จากนั้นตัดให้มีขนาด 0.5x0.5 ซม. แล้วนำมาฆ่าเชื้อที่ผิวใบโดยแช่ในสารละลาย 10% Clorox นาน 5 นาที ล้างให้สะอาดด้วยน้ำที่ฆ่าเชื้อแล้ว นำมาซับให้แห้งบนกระดาษกรอง จากนั้นนำมาวางในจานเพาะเลี้ยงเชื้อที่มีอาหารเลี้ยงรา half PDA บรรจุอยู่ โดยวางจานละ 4 ชิ้น ตัวอย่างละ 3 ซ้ำ บ่มที่ อุณหภูมิห้อง เมื่อราเจริญใช้เข็มตัดชิ้นส่วนของรายไป เลี้ยงในอาหารแข็งเอียง PDA

3. การจำแนกชนิดราโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา (เลขา และคณะ, 2547)

เพาะเลี้ยงราบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสม ได้แก่ commeal agar (CMA), PDA บันทึกลักษณะการเจริญเติบโต การสร้างสปอร์ ศึกษารูปร่างลักษณะทางสัณฐานวิทยา เปรียบเทียบกับงานวิจัยที่เคยมีรายงานไว้ เตรียม สไลด์ถาวรเพื่อถ่ายภาพปรากฏภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ compound และวาดภาพจาก camera lucida นำไป เทียบกับเอกสารอ้างอิง จากการศึกษารายละเอียดจาก โครงสร้างต่างๆ ของราดังกล่าวจะทำให้สามารถ จำแนก species ได้

4. การทดสอบประสิทธิภาพของราเอนโดไฟท์จากโสนในการยับยั้งการเจริญของราสาเหตุโรคพืช

นำราเอนโดไฟท์จากโสนที่แยกได้และราสาเหตุโรคพืช ได้แก่ *Phytophthora palmivora* สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียน *Pythium aphanidermatum* สาเหตุโรครากเน่าคอดินของผักกาด *Colletotrichum capsici* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของพริก *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของมะม่วง *Lasiodiplodia theobromae* สาเหตุโรคผลเน่าของมังคุด *Fusarium oxysporum* สาเหตุโรคเหี่ยวของ

พริก *Bipolaris maydis* สาเหตุโรคใบไหม้ของข้าวโพด *B. oryzae* สาเหตุโรคใบไหม้ของข้าว *Rhizoctonia solani* สาเหตุโรคกาบใบแห้งของข้าวโพด *Sclerotium rolfsii* สาเหตุโรคโคนเน่าของถั่วเขียว มาเลี้ยงบนอาหาร PDA บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 28°C เป็นเวลา 7 วัน แล้วทำการทดสอบโดยวิธี dual culture โดยนำ cork borer ขนาด 0.5 ซม. เจาะเส้นใยของราสาเหตุโรคพืช แล้วนำมาวางบนอาหาร PDA ห่างจากขอบประมาณ 1 ซม. และใช้ cork borer ขนาดเดียวกันตัดเส้นใยของราเอนโดไฟท์ที่แยกจากโสนที่ต้องการทดสอบนำมา วางตรงข้ามกับชิ้นส่วนของราสาเหตุโรคพืชซึ่งวางห่างจากขอบ 1 ซม. เช่นกัน ส่วนชุดควบคุมจะตัดเพียงเส้นใยของราสาเหตุโรคพืชเท่านั้นแล้วนำมาวางบนอาหาร PDA ห่างจากขอบประมาณ 1 ซม. บ่มไว้ที่ อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7-14 วัน ทำซ้ำจำนวน 3 ซ้ำ บันทึกผลการทดลองโดยวัดเปอร์เซ็นต์ยับยั้งตามสูตรการคำนวณดังนี้

$$\% \text{ ยับยั้งการเจริญของราสาเหตุโรคพืช} = \frac{(A - B)}{A} \times 100$$

A = เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของราสาเหตุโรคพืช (control)

B = เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของราสาเหตุโรคพืชที่เจริญบน PDA ร่วมกับราเอนโดไฟท์จากโสน

ผลการศึกษาและวิจารณ์

1. ความหลากหลายของราเอนโดไฟท์จากโสน การแยกราเอนโดไฟท์จากกิ่งและใบโสนบริเวณ จังหวัดพระนครศรีอยุธยาจาก 11 อำเภอ พบราเอนโดไฟท์จำนวน 143 สายพันธุ์ (Table 1) จัดจำแนกได้ 7 สกุล 5 ชนิด ดังนี้ *Chaetomium globosum*, *Curvularia lunata*, *Curvularia* spp, *Nigrosporium sphaerica*, *Pestalotiopsis* spp., *Phomopsis* spp., *Talaromyces trachyspermus*, *Zygosporium masonii* และ unidentified spp. ดัง Figure 1, 2

Table 1 Isolation of endophytic fungi from *Sesbania javanica* in Ayutthaya province

District	Isolates	District	Isolates
Ladbualluang	4	Bangpahan	14
Phranakhon Si Ayutthaya	27	Wangnoi	7
Bangsai	23	Sena	14
Bangban	12	Bangsay	8
Pukhai	18	Uthai	10
Bang pa-in	6		

ซึ่งการศึกษาราเอนโดไฟท์ในครั้งนี้พบว่า มีความคล้ายคลึงกับราเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากพืชชนิดต่างๆ ในประเทศไทย โดย กนกวรรณ (2547) ได้แยกราเอนโดไฟท์จากข้าวที่มีกลิ่นหอมจำนวน 57 ตัวอย่าง และข้าวธรรมดาที่ไม่มีกลิ่นหอมจำนวน 25 ตัวอย่าง บริเวณภาคกลางและทุ่งกุลาร้องไห้ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ มาคัดแยกราเอนโดไฟท์ได้ทั้งหมด 264 ไอโซเลท จัดจำแนกได้ 7 สกุล ได้แก่ *Acremonium*, *Alternaria*, *Aspergillus*, *Curvularia*, *Drechslera*, *Nigrospora* และ *Penicillium* โดยรา *Acremonium* spp. เป็นราที่พบมากที่สุดทั้งในข้าวหอมและข้าวธรรมดา สำหรับราเอนโดไฟท์ที่พบจากข้าวที่มีกลิ่นหอม ได้แก่ *Penicillium* sp., *C. pallescens*, *A. fischeri*-like และ unidentified spp. ให้ลักษณะของกลิ่นหอมที่สร้างคล้ายกลิ่นของใบเตย นอกจากนี้ยังมีการรายงานผลการศึกษาความหลากหลายทางชีวภาพของราเอนโดไฟท์ในใบไม้จากพืช 9 ชนิด ได้แก่ เต็ง รัง กระโดน ยอป่า กระทุ่ม ปอลาย สมอไทย แด และทองหลาง ในป่าเต็งรังบริเวณจังหวัดตาก จำนวน 340 ตัวอย่าง ได้ราเอนโดไฟท์ทั้งสิ้น 231 ไอโซเลท โดย

พบรา *Mycelia sterilia* มากที่สุด และยังพบราเอนโดไฟท์ที่พบได้บ่อย เช่น *Phomopsis* sp., *Nigrospora* sp., *Fusarium* sp., *Pestalotiopsis* sp., *Xylaria* sp. (กฤตพงศ์และคณะ, 2552) ต่อมาได้มีการรายงานการแยกราเอนโดไฟท์จากใบพืชในป่าเต็งรังอำเภอเวียงสา จังหวัดน่าน แยกได้ 302 สายพันธุ์ โดยราเอนโดไฟท์ที่พบมากที่สุดสามชนิดแรก ได้แก่ *Phyllosticta* sp. (56 isolates), *Phomopsis* sp. (50 isolates) และ *Xylaria* sp. (46 isolates) เมื่อทำการจัดจำแนกเป็นกลุ่มพบว่าราเอนโดไฟท์ในกลุ่ม Ascomycetes ที่ส่วนใหญ่สร้าง pycnidia และบางส่วนสร้างสปอร์โดยตรงจากเส้นใย Coelomycetes มีมากที่สุด ตามด้วยกลุ่ม Ascomycetes ส่วนกลุ่ม Hyphomycetes พบน้อยที่สุด (ธนวัช, 2553) และการแยกราเอนโดไฟท์จากใบและกิ่งแค (*Sesbania grandiflora*) ที่เก็บจากจังหวัดนครนายก พบราเอนโดไฟท์ทั้งสิ้น 69 สายพันธุ์ จัดจำแนกชนิด ได้แก่ *Acremonium* spp., *Curvularia* spp., *Fusarium* spp., *Phaeoacremonium* spp. และ *Phomopsis* spp. (Powthong et al., 2012)

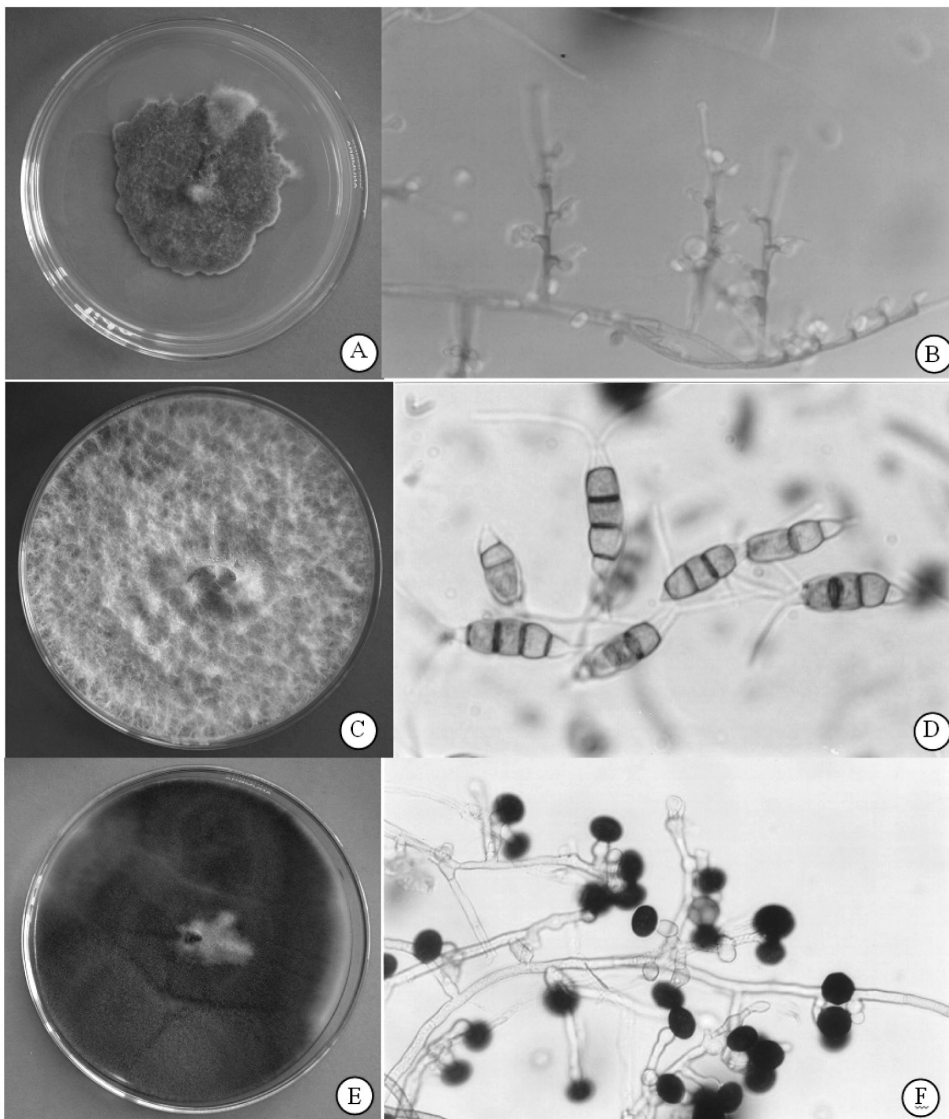


Figure 1 Growth of endophytic fungi on PDA plate after 7 days, conidiophores and spores under microscope, (A-B) *Zygosporium masonii*, (C-D) *Pestalotiopsis* sp. and (E-F) *Nigrosporium sphaerica* (B, D, F = 1,000X)

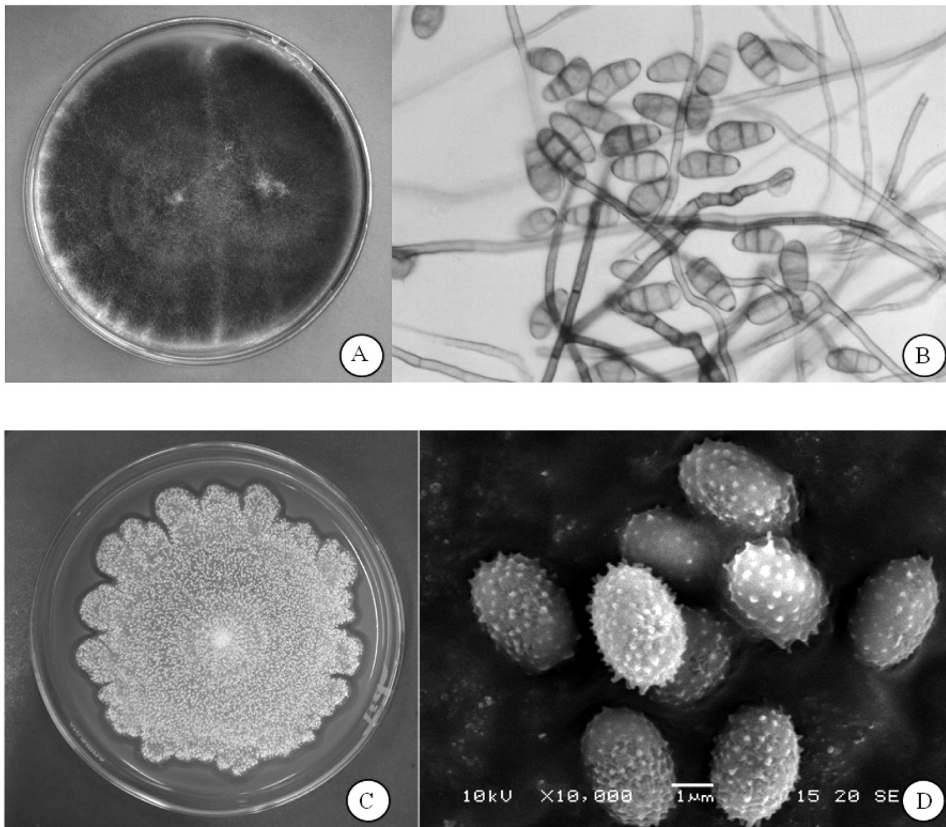


Figure 2 Growth of endophytic fungi on PDA plate after 7 days, conidiophores and ascospores under microscope, (A-B) *Curvularia lunata* and (C-D) *Talaromyces trachyspermus* (B = 1,000X; D = 10,000X)

2. ผลการทดสอบประสิทธิภาพของราเอนโดไฟท์จากโสนในการยับยั้งการเจริญของราสาเหตุโรคพืช

จากการนำราเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากโสนจำนวน 21 สายพันธุ์ (Table 2) มาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยราสาเหตุโรคพืช 10 ชนิด พบว่าราเอนโดไฟท์ *N. sphaerica* สายพันธุ์ 13-232-2 มีประสิทธิภาพสูงสุดในการยับยั้งการเจริญของรา *P. aphanidermatum* สาเหตุโรครากเน่าคอดินของผักกาด โดยสามารถยับยั้งได้มากกว่า 30% ขณะที่ราเอนโดไฟท์ *Phomopsis* sp. สายพันธุ์ 3-212-2 มีประสิทธิภาพสูงสุดในการยับยั้งการเจริญของรา *P. palmivora* สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียนได้มากกว่า 65% นอกจากนี้ยังสามารถควบคุมการเจริญของรา *Colletotrichum* spp. สาเหตุโรคแอนแทรคโนส

ของผักและผลไม้ได้มากกว่า 70% และสามารถยับยั้งการเจริญของรา *F. oxysporum* สาเหตุโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ และ *L. theobromae* สาเหตุโรคผลเน่าของมังคุดได้ 66% และ 56% ตามลำดับ (Figure 3)

ขณะที่ราเอนโดไฟท์ *T. trachyspermus* สายพันธุ์ 1-41-4 มีประสิทธิภาพสูงสุดในการยับยั้งการเจริญของราสาเหตุโรคพืชที่อยู่ใน Class Hyphomycetes โดยสามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยรา *B. maydis* สาเหตุโรคใบไหม้ของข้าวโพดและ *A. alternata* สาเหตุโรคผลเน่าของสาลี่ได้มากกว่า 60% (Table 2, Figure 3)

ส่วนผลการศึกษาประสิทธิภาพของราเอนโดไฟท์ในการยับยั้งการเจริญของราสาเหตุโรคพืชใน Class Agonomycetes ได้แก่ *R. solani* สาเหตุโรคกาบใบแห้งของข้าวโพดและ *S. rolfsii* สาเหตุโรคโคนเน่าของถั่ว

เขียว ซึ่งเป็นราสาเหตุโรคพืชที่เจริญเร็วบนอาหารเลี้ยงเชื้อพบว่า ราเอนโดไฟท์ *C. globosum* สายพันธุ์ 53-84-5 สามารถยับยั้งการเจริญของรา *S. rolfii* ได้สูงสุด 58% ส่วนสายพันธุ์ 46-101-2 สามารถยับยั้งการเจริญของรา *R. solani* ได้สูงสุด 65% (Table 2, Figure 3)

จากผลการศึกษาทำให้ทราบว่า ราเอนโดไฟท์จากโสนมีประสิทธิภาพในการควบคุมราสาเหตุโรคพืชโดยสามารถควบคุมรา *A. alternata* (60.6%) ได้สูงสุด รองลงมาได้แก่ *C. capsici* (58.6%), *C. gloeosporioides*

(48.9%), *Phytophthora* sp. (47.9%), *F. oxysporum* (46.7%), *B. maydis* (45.8%), *L. theobromae* (25.7%), *R. solani* (21.8%), *S. rolfii* (15.2%) และ *P. aphanidermatum* (11.2%) โดยราเอนโดไฟท์จากโสนที่มีประสิทธิภาพสูงสุดในการควบคุมโรคพืชทั้ง 10 ชนิด ได้แก่ *T. trachyspermus* สายพันธุ์ 1-41-4 รองลงมาได้แก่ *Phomopsis* sp. สายพันธุ์ 3-212-2 และ *Curvularia* sp. สายพันธุ์ 6-111-2 (Table 2, Figure 3)

Table 2 Efficiency of endophytic fungi to inhibit 10 species of plant pathogenic mycelial growth

Endophytic fungi	Plant pathogens (%) ^{1/}									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
<i>T. trachyspermus</i> 1-41-4	27.4	66.7	67.8	75.2	54.8	65.9	64.8	76.7	24.8	43.7
<i>Phomopsis</i> sp. 3-212-2	24.4	67.4	75.6	75.6	56.3	66.3	63.0	67.4	7.0	38.1
<i>Curvularia</i> sp. 6-111-2	24.1	57.0	58.1	68.5	31.1	54.8	51.8	66.7	-	27.0
<i>Z. masonii</i> 7-111-1	- ^{2/}	55.6	44.4	63.7	-	43.0	40.7	61.1	-	15.9
10-91-3	27.4	42.2	45.2	50.0	33.7	38.1	43.7	41.1	20.4	25.2
11-31-1	33.3	31.1	46.3	50.7	36.3	29.6	51.1	37.8	Cont.	27.0
<i>N. sphaerica</i> 13-232-2	31.5	47.4	43.3	35.0	27.8	44.4	49.3	53.3	47.4	27.4
14-41-1	-	53.7	48.1	60.0	27.4	50.7	52.2	64.8	53.7	-
16-31-2	-	51.5	47.0	55.9	22.6	44.1	42.2	66.7	22.2	27.8
17-73-1	-	55.2	48.1	57.4	23.3	53.7	46.3	66.3	-	-
20-111-1	19.6	22.9	31.9	41.1	22.2	35.2	33.0	Cont.	-	25.9
<i>C. globosum</i> 22-33-3	-	57.4	48.1	72.2	29.6	48.5	47.4	62.6	-	-
28-91-5	-	52.2	51.9	61.5	26.3	33.3	48.5	62.6	32.5	-
30-212-2	-	48.9	48.9	68.1	24.8	50.7	47.0	62.6	-	22.2
34-82-3	-	24.8	47.8	65.6	26.5	40.7	36.7	68.5	-	30.4
35-61-3	30.7	44.1	51.5	57.4	-	44.4	38.5	51.9	37.4	27.0
36-61-1	17.0	22.2	29.6	40.0	20.7	30.7	37.0	-	-	21.5
40-84-3	-	40.0	37.0	51.1	21.5	40.7	37.0	55.2	-	-
43-24-2	-	55.6	58.5	61.9	35.2	48.9	50.0	64.1	-	33.3
46-101-2	-	61.1	55.6	Cont.	-	55.6	49.3	65.6	-	65.9
53-84-5	-	48.5	41.5	60.4	20.4	39.3	32.6	55.9	58.8	-

^{1/}1. *Pythium aphanidermatum*, 2. *Phytophthora palmivora*, 3. *Colletotrichum gloeosporioides*, 4. *Colletotrichum capsici*, 5. *Lasiodiplodia theobromae*, 6. *Fusarium oxysporum*, 7. *Helminthosporium maydis*, 8. *Alternaria solani*, 9. *Sclerotium rolfii*, 10. *Rhizoctonia solani*

^{2/} Endophytic fungi could not inhibit pathogenic plants. The mycelial plant pathogenic grown cover the endophytic fungi colonies.

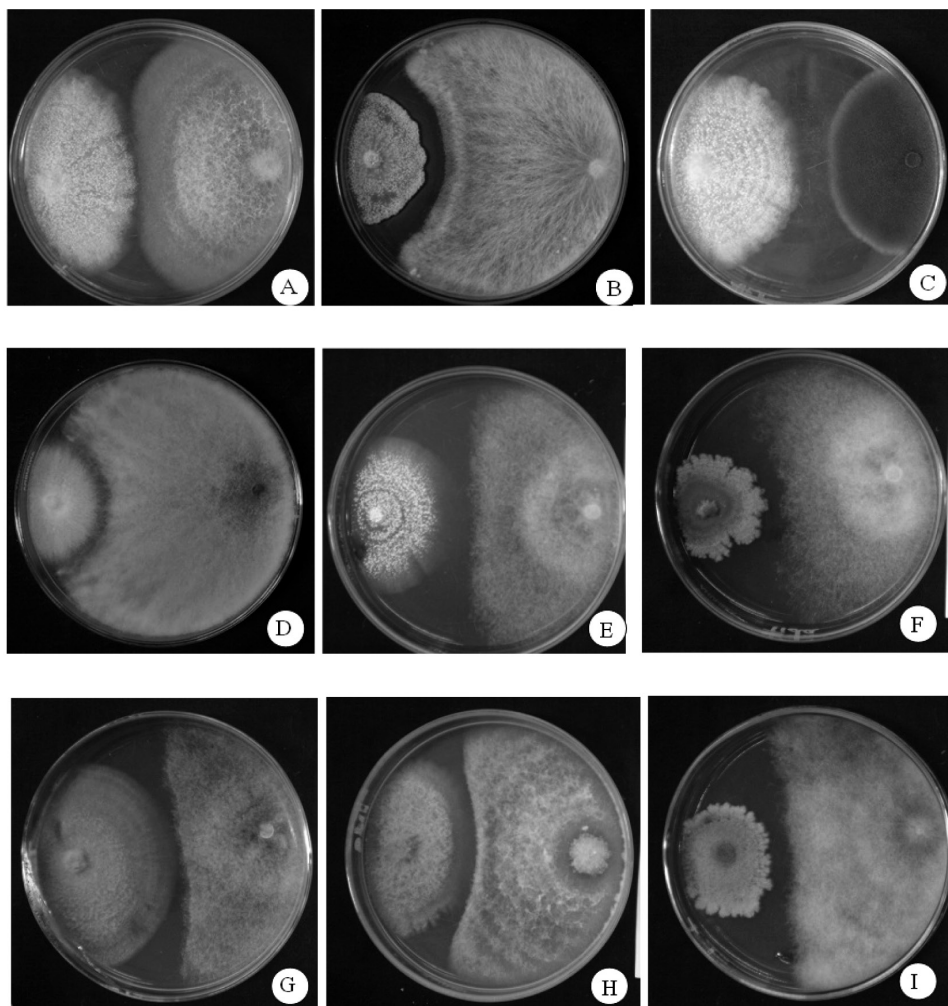


Figure 3 Efficiency of endophytic fungi from *Sesbania javanica* to inhibit mycelial growth of plant pathogens using dual culture method: *Talaromyces trachyspermus* vs *Col. gloeosporioides* (A), *S. rolfsii* (B), *B. maydis* (C), *Talaromyces trachyspermus* vs. *L. theobromae* (D), *Phy. palmivora* (E), *Nigrosporium sphaerica* vs *Phy. palmivora* (F), *Chaetomium* sp. vs *Phy. palmivora* (G), *Phomopsis* sp. vs *Col. gloeosporioides* (H), *L. theobromae* (I)

จากผลการศึกษาประสิทธิภาพของราเอนโดไฟท์จากโสนในการยับยั้งการเจริญของราสาเหตุโรคพืชที่มีความสอดคล้องกับงานวิจัยของ Li et al. (2008) ที่ได้รายงานไว้ว่า *Phomopsis* sp. สามารถสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพได้หลายชนิด โดยการสกัดสารเมตาบอไลต์จาก *Phomopsis* sp. (strain HKI0458) ที่แยกจากต้นปอทะเล (*Hibiscus tiliaceus*) พบสาร a-seco-oleane-type triterpenes ชนิดใหม่ 4 ชนิด

ได้แก่ (1) 3,4-seco-olean-11,13-dien-4,15alpha, 22beta,24-tetraol-3-oic acid, (2) 3,4-seco-olean-11,13-dien-4,7beta,22beta,24-tetraol-3-oic acid, (3) 3,4-seco- olean-13-en-4,7,15,22,24-pentaol-3-oic acid และ (4) 3,4-seco-olean-13-en-4,15, 22,24-tetraol-3-oic acid ซึ่งการทดลองของคณะผู้วิจัยในครั้งนี้พบว่า ราเอนโดไฟท์ *Phomopsis* sp. มีประสิทธิภาพสูงในการควบคุมการเจริญของรา

สาเหตุโรคพืชเช่นกัน ในขณะที่ราเอนโดไฟท์ *T. trachyspermus* ยังไม่มีผู้รายงานและศึกษาการนำมาควบคุมโรคพืช นอกจากนี้ยังพบว่า มีราเอนโดไฟท์อีกหลายชนิดที่แยกจากพืชชนิดต่างๆ ในประเทศไทยที่มีคุณสมบัติเป็นเชื้อปฏิปักษ์ในการควบคุมราและแบคทีเรียสาเหตุโรคพืชที่สำคัญ โดย ชัยวัฒน์ และคณะ (2550) ได้แยกราเอนโดไฟท์จำนวน 170 ไอโซเลตจากพืชในวงศ์ Stemonaceae (หนอนตายหายาก) และนำมาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรีย *Erwinia carotovora*, *Pseudomonas solanacearum* และ *Xanthomonas citrii* โดยวิธี Plate Diffusion Method พบว่าราเอนโดไฟท์หนึ่งสายพันธุ์ที่มีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียทั้ง 4 ชนิด ขณะที่ราเอนโดไฟท์ 7 สายพันธุ์มีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียบางชนิด ต่อมา สุกัญญาณี (2552) ได้ศึกษาราเอนโดไฟท์ในใบพืชป่าชายเลนที่เจริญในพื้นที่ 3 แหล่งของประเทศไทย ได้แก่ อ่าวคุ้งกระเบน จังหวัดจันทบุรี วนอุทยานแห่งชาติปราณบุรี จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ และศูนย์ชีววัฒนพลจังหวัดระนอง และได้ทดสอบราเอนโดไฟท์ในการสร้างสารยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมบวก (*Bacillus subtilis* ATCC 6633 และ *Staphylococcus aureus* ATCC 25923) แบคทีเรียแกรมลบ (*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 และ *Escherichia coli* ATCC 25922) และยีสต์ (*Saccharomyces cerevisiae* ATCC 5169 และ *Candida albicans* ATCC 10231) พบว่า ราเอนโดไฟท์สกุล *Cladosporium* sp. P1 ที่แยกจากใบโพธิ์ทะเลสามารถสร้างสารยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบได้ทุกชนิด

นอกจากนี้ยังมีการรายงานประสิทธิภาพของราเอนโดไฟท์ในการยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคและการสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญ เช่น การรายงานการพบสารอนุพันธ์ของ benzaldehyde ใหม่ 2 ชนิด ได้แก่ 6-ethyl-2-hydroxy-4-methoxy-3-methylbenzaldehyde และ 6-ethyl-2,4-dihydroxy-3-methylbenzaldehyde และสารที่เคยมีรายงานมาก่อน 1 ชนิด คือ 2,4-dihydroxy-3,6-dimethylbenzaldehyde จากราเอนโดไฟท์สายพันธุ์ No. ZZF 32 ที่แยกจากพืชป่าชายเลนทาง

ทะเลจีนใต้ ประเทศจีน (Shao et al., 2009) การรายงานพบสารใหม่ 11 ชนิด ได้แก่ cytosporone J-N, pestatlasins A-E และ pestalotiopsis A และสารที่มีรายงานมาก่อน คือ cytosporone C, dothiorelone B และ 3-hydroxymethyl-6,8-dimethoxycoumarin จากราเอนโดไฟท์ *Pestalotiopsis* sp. ที่แยกจากต้นโกงกางใบใหญ่ (*Rhizophora mucronata*) (Xu et al., 2009)

การแยกราเอนโดไฟท์จากพืช 12 ชนิด ได้แก่ เล็บมีอนาง (*Aegiceras corniculatum*) แสมขาว (*Avicennia alba*) แสมดำ (*Avicennia officinalis*) ฟังกาหัวสุ่มดอกแดง (*Bruguiera gymnorhiza*) ถั่วดำ (*Bruguiera parviflora*) ฝาดดอกแดง (*Lumnitzera littorea*) โกงกางใบเล็ก (*Rhizophora apiculata*) โกงกางใบใหญ่ (*Rhizophora mucronata*) ลำพู (*Sonneratia caseolaris*) สี่ง่า (*Scyphiphora hydrophyllacea*) ตะบูนขาว (*Xylocarpus granatum*) และตะบูนดำ (*Xylocarpus moluccensis*) แล้วนำมาทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบของราเอนโดไฟท์จำนวน 150 สายพันธุ์ ในการยับยั้ง *Staphylococcus aureus* ATCC25923, *S. aureus* (MRSA) SK1, *Escherichia coli* ATCC25922 และ *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853 พบว่า 92 สายพันธุ์ มีฤทธิ์ในการยับยั้ง *S. aureus* โดยสามารถยับยั้งได้สูงสุด 61.3% และต่ำสุด 28.32% และนำสารสกัดหยาบของราเอนโดไฟท์ทั้งหมด 6 ชนิด ได้แก่ *Acremonium* sp., *Diaporthe* sp., *Hypoxyton* sp., *Pestalotiopsis* sp., *Phomopsis* sp. และ *Xylaria* sp. มาทดสอบคุณสมบัติในการยับยั้งแบคทีเรีย แกรมบวก ยีสต์ และ *M. sypseum* พบว่าสารสกัดจากรา *Phomopsis* sp. MA 194 ที่แยกจากต้นโกงกางใบเล็ก มีฤทธิ์สูงสุดในการยับยั้ง (Buatong et al., 2011) การรายงานพบสารเมตาบอไลต์ 39 ชนิด และสาร alkaloids ชนิดใหม่ 2 ชนิด ได้แก่ 12 β -hydroxy -13 α -methoxyverruculogen TR-2 และ 3-hydroxyfumiquinazoline A จากรา *Aspergillus fumigatus* ที่แยกจากเปลือกต้นเลี่ยน (*Melia azedarach*) และ

พบว่า 16 สารมีฤทธิ์ยับยั้งราสาเหตุโรคพืชที่สำคัญ ได้แก่ *Botrytis cinerea*, *Alternaria solani*, *A. alternata*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Fusarium solani*, *F. oxysporum* f.sp. *niveum*, *F. oxysporum* f.sp. *vasinfectum* และ *Gibberella saubinetii* (Li et al., 2012)

สรุป

การแยกราเอนโดไฟท์จากกิ่งและใบโสนบริเวณ จังหวัดพระนครศรีอยุธยา รวม 11 อำเภอ 90 ตัวอย่าง พบราเอนโดไฟท์จำนวน 143 สายพันธุ์ สามารถ จัดจำแนกชนิดเชื้อราได้ 7 สกุล 5 ชนิด ดังนี้ *C. globosum*, *C. lunata*, *Curvularia* spp., *N. sphaerica*, *Pestalotiopsis* spp., *Phomopsis* spp., *T. trachyspermus*, *Z. masonii* และ unidentified spp.

จากการนำราเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากโสนจำนวน 21 สายพันธุ์ มาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้ง การเจริญของเส้นใยราสาเหตุโรคพืช 10 ชนิด พบรา เอนโดไฟท์ *N. sphaerica* สายพันธุ์ 13-232-2 มีประสิทธิภาพสูงสุดในการยับยั้งการเจริญของรา *P. aphanidermatum* สาเหตุโรครากเน่าคอดินของ ผักกาด โดยสามารถยับยั้งได้มากกว่า 30% ขณะที่รา เอนโดไฟท์ *Phomopsis* sp. สายพันธุ์ 3-212-2 มีประสิทธิภาพสูงสุดในการยับยั้งการเจริญของรา *P. palmivora* สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียนได้ มากกว่า 65% นอกจากนี้ยังสามารถควบคุมการเจริญ ของรา *Colletotrichum* spp. สาเหตุโรคแอนแทรคโนส ของผักและผลไม้ได้มากกว่า 70% และสามารถยับยั้ง การเจริญของรา *F. oxysporum* สาเหตุโรคเหี่ยวของ มะเขือเทศ และ *L. theobromae* สาเหตุโรคผลเน่าของ มังคุดได้ 66% และ 56% ตามลำดับ

ขณะที่ราเอนโดไฟท์ *T. trachyspermus* สายพันธุ์ 1-41-4 มีประสิทธิภาพสูงสุดในการยับยั้งการเจริญของ ราสาเหตุโรคพืชที่อยู่ใน Class Hyphomycetes โดย

สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยรา *B. maydis* สาเหตุโรคใบไหม้ของข้าวโพดและรา *A. alternata* สาเหตุโรคผลเน่าของสาลี่ได้มากกว่า 60%

ส่วนผลการศึกษาประสิทธิภาพของราเอนโดไฟท์ ในการยับยั้งการเจริญของราสาเหตุโรคใน Class Agonomycetes ได้แก่ *R. solani* สาเหตุโรคกาบใบแห้ง ของข้าวโพดและ *S. rolfisii* สาเหตุโรคโคนเน่าของ ถั่วเขียว ซึ่งเป็นราสาเหตุโรคพืชที่เจริญเร็วบนอาหาร เลี้ยงเชื้อพบว่า ราเอนโดไฟท์ *C. globosum* สายพันธุ์ 53-84-5 สามารถยับยั้งการเจริญของรา *S. rolfisii* ได้ สูงสุด 58% ขณะที่ *C. globosum* สายพันธุ์ 46-101-2 สามารถยับยั้งการเจริญของรา *R. solani* ได้สูงสุด 65%

จากผลการศึกษาทำให้ทราบว่าราเอนโดไฟท์จาก โสนมีประสิทธิภาพในการควบคุมราสาเหตุโรคพืชโดย สามารถควบคุมรา *A. alternata* (60.6%) ได้สูงสุด รองลงมาได้แก่ *C. capsici* (58.6%), *C. gloeosporioides* (48.9%), *Phytophthora* sp. (47.9%), *F. oxysporum* (46.7%), *B. maydis* (45.8%), *L. theobromae* (25.7%), *R. solani* (21.8%), *S. rolfisii* (15.2%) และ *P. aphanidermatum* (11.2%) โดยราเอนโดไฟท์จาก โสนที่มีประสิทธิภาพสูงสุดในการควบคุมโรคพืชทั้ง 10 ชนิด ได้แก่ *T. trachyspermus* สายพันธุ์ 1-41-4 รองลงมาได้แก่ *Phomopsis* sp. สายพันธุ์ 3-212-2 และ *Curvularia* sp. สายพันธุ์ 6-111-2

คำขอบคุณ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณสำนักงานคณะกรรมการ วิจัยแห่งชาติที่ให้ทุนสนับสนุนการทำวิจัยนี้ตลอด ทั้งโครงการ

เอกสารอ้างอิง

กนกวรรณ อินแบน. 2547. ความหลากหลายทางชีวภาพของรา เอนโดไฟท์และความสามารถในการสร้าง สาร 2-Acetyl-1-Pyrroline ของราที่แยกได้จากข้าวพันธุ์ต่างๆ ใน ประเทศไทย. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.

- กฤตพงศ์ อรัชัยพันธ์ลาภ, โสภณ เรืองสำราญ และประภิตต์สิน สีนันทน์. 2552. ความหลากหลายทางชีวภาพของรา เอนโดไฟต์ที่แยกจากใบพืชในป่าเต็งรัง จังหวัดตาก. เรื่องเติมการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัย เกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 47 สาขาวิทยาศาสตร์.
- ชัยวัฒน์ บุญมาภาส, อัมพร ศุภตระกูล และทวีรัตน์ วิจิตรสุนทรกุล. 2550. สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากรา เอนโดไฟท์ของพืชในวงศ์ Stemonaceae ในการยับยั้ง จุลินทรีย์ที่ก่อโรคในพืช. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร. 38(6): 339-343.
- ถิรต์ สมารักษ์. 2546. การใช้จุลินทรีย์คีโตเมียมควบคุมโรค แอนแทรกโนสของปาล์ม. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า เจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพฯ.
- ไทยโพสดี. 2553. ค้นพบเส้นใยต้นโสนด้านแบคทีเรียได้ด้วย. 23 กันยายน; Sect. X-CITE/เกษตร. 4(5074): col. 57.
- ธนวัช สุจริตรกุล. 2553. ความหลากหลายทางชีวภาพของรา เอนโดไฟท์ที่แยกจากใบพืชในป่าเต็งรัง อ.เวียงสา จ.น่าน ประเทศไทย. การประชุมทางวิชาการระดับบัณฑิตศึกษา ครั้งที่ 2. มหาวิทยาลัยศิลปากร.
- เลขา มาโนช, พรพิมล อธิปัญญาคม, กัญญา เจริญไทย, คณินจ บุศราคำ, อรุณา เจียมจิตต์, ธิดา เศษวบ, จิตรา เกาะแก้ว และผจงจิต ภูจิณญาณ. 2547. เชื้อราโรคพืช บนผลไม้ พืชผักและราดินบริเวณจอมปลวก. น. 544-552. ใน: รายงานการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัย เกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 42 (สาขาพืช) มหาวิทยาลัย เกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- สุกัญญาณี แชนประเสริฐ. 2552. ราเอนโดไฟท์คัดเลือกจากพืช ป่าชายเลนในจังหวัดจันทบุรี ประจวบคีรีขันธ์ และระนอง. วิทยานิพนธ์ปริญญาเอก. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- Anita, D.D., K.R. Sridhar, and R. Bhat. 2009. Diversity of fungi associated with mangrove legume *Sesbania bispinosa* (Jacq.) W. Wight (Fabaceae). Liverstock Research for Rural Development. 21(5).
- Buatong, J., S. Phongpaichit, V. Rukachaisirikul, and J. Sakayaroj. 2011. Antimicrobial activity of crude extracts from mangrove fungal endophytes. World Journal Microbiol Biotechnol. 27: 3005-3008.
- Chamswang, C., W. Intanoo, W. Intana, C. Boonradk-wang, and P. Charoenrak. 2010. Efficacy of Extract from *Trichoderma harzianum* Strain PM9 to Control Anthracnose of Mango and Chili Fruits Disease Caused by *Colletotrichum gloeosporioides*. In: ISSAAS 2009 "Agriculture for Better Living and Global Economy". 11-15 January 2010, Nong Nooch Tropical Botanical Garden & Resort, Pattaya, Thailand.
- Hazalin, N. AMN, K. Ramasamy, S.M. Lim, I.A. Wahab, A. L.J. Cole, and A.B.A. Majeed. 2009. Cytotoxic and antibacterial activities of endophytic fungi isolated from plants at National Park, Pahang, Malaysia. BMC Complementary and Alternative Medicine. 9: 46-50.
- Kokeaw, J., L. Manoch, J. Worapong, C. Chamswang, N. Singburaudom, N. Visarathanonth, O. Piasai, and G. Strobel. 2011. *Coniochaeta ligniaria* an endophytic fungus from *Baeckea frutescens* and its antagonistic effects against plant pathogenic fungi. Thai Journal of Agricultural Science. 44(2): 123-131.
- Kumar, S., N. Kaushik, R. Edrada-Ebel, R. Ebel, and P. Proksch. 2008. Endophytic fungi for pest and disease management. In: Ciancio, A. and K.G. Mukerji (eds.). Integrated Management of diseases caused by fungi, phytoplasma and bacteria. Springer, Berlin. pp. 365-387.
- Li, L., I. Sattler, Z. Deng, I. Groth, G. Walther, K.-D. Menzel, G. Peschel, S. Grabley, and W. Lin. 2008. A-seco-oleane-type triterpene from *Phomopsis* sp. (strain HK10458) isolated from mangrove plant *Hibiscus tiliaceus*. Phytochemistry. 69(2): 511-517.
- Li, X.-J., Q. Zhang, A.-L. Zhang, and J.-M. Gao. 2012. Metabolites from *Aspergillus fumigatus*, an endophytic fungus associated with *Melia azedarach* and their antifungal, antifeedant and toxin activity. Journal of Agricultural and food Chemistry. 60: 3424-3431.
- Mei, C.X., D.H. Ling, H.K. Xing, S.Z. Rong, C. Juan, and G. S. Xing. 2010. Diversity and antimicrobial and plant-growth-promoting activities of endophytic fungi in *Dendrobium loddigesii* Rolfe. Journal of plant growth regulation. 29(3): 328-337.
- Powthong, P., B. Jantrapanukorn, A. Thongmee, and P. Suntornthiticharoen. 2012. Evaluation of endophytic fungi extract for their antimicrobial activity from *Sesbania grandiflora* (L.) Pers. Int. J. Pharm. Biomed. Res. 3(2): 132-136.
- Ramos, H.P., G.H. Braun, M.T. Pupo, and S. Said. 2010. Antimicrobial activity from endophytic fungi *Arthrinium* state of *Apiospora montagnei* Sacc. and *Papulaspora immerse*. Brazilian Archives of Biology and Technology. 53(3): 629-632.
- Schultz, B., S. Guske, U. Dammann, and C. Boyle. 1998. Endophyte-host interactions II. Defining symbiosis of the endophyte-host interaction. Symbiosis. 25: 213-327.

- Shao, C., C. Wang, M. Wei, Z. Jia, Z. She, and Y. Lin. 2009. Two new benzaldehyde derivatives from mangrove endophytic fungus (No. ZZF 32). *Chemistry of Natural Compounds*. 45 (6): 789-791.
- Soytong, K., S. Kanokmedhakul, V. Kukongviriyapa, and M. Isobe. 2001. Application of *Chaetomium* species (Ketomium®) as a new broad spectrum biological fungicide for plant disease control: A review article. *Fungal Diversity*. 7: 1-15.
- Strobel, G.A. 2006. *Muscodor albus* and its biological promise. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 33: 514-522.
- Xu, J., J. Kjer, J. Sendker, V. Wray, H. Guan, R. Edrada, W.E. Muller, M. Bayer, W. Lin, J. Wu, and P. Proksch. 2009. Cytosporones, coumarins, and an alkaloid from the endophytic fungus *Pestalotiopsis* sp. isolated from the Chinese mangrove plant *Rhizophoramucronata*. *Bioorg. Med. Chem.* 17(20): 7362-7367.