

ผลของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายขนาดเล็กต่อการยับยั้ง เชื้อราก่อโรคผลเน่าในเงาะ

Effect of Microalgae Crude Extracts on Antifungal in Fruit Rot Disease of Rambutan

กิตติวรรณ พรหมมิตร จิดาภา หยั่งกุล มิตี เจียรพันธุ์ วิณา จิรัฐวรุตม์กุล ชัยसार จิรนนท์ กล่อมมนรา แก้วรักษา
และ พัชรี หลุ่งหม่าน*

Kittiwan Prommit, Jidapa Yongkul, Miti Jearaphunt, Weena Jirattiwatukul Chaisarn, Cheeranun Klommara
Kaewruksa and Patcharee Lungmann*

Received: 4 May 2021, Revised: 18 February 2022, Accepted: 28 March 2022

บทคัดย่อ

เงาะเป็นผลไม้เมืองร้อนของประเทศไทยที่มีมูลค่าทางเศรษฐกิจในตลาดผลไม้ แต่ประสบปัญหาโรคผลเน่า ซึ่งมีสาเหตุจากการเข้าทำลายของเชื้อราก่อโรคหลายชนิด เช่น *Aspergillus* sp., *Colletotrichum* sp., *Phomopsis* sp. และ *Pestalotiopsis* sp. ทำให้คุณภาพและอายุการเก็บรักษาผลเงาะลดลง เกษตรกรจึงเลือกใช้สารเคมี ได้แก่ คอปเปอร์ออกซิคลอไรด์และกำมะถันในการควบคุมโรค แต่การใช้สารเคมีส่งผลกระทบต่อสุขภาพ สิ่งแวดล้อม และค่าใช้จ่ายที่เพิ่มขึ้น งานวิจัยนี้จึงได้ศึกษาการคัดแยกสาหร่ายขนาดเล็กจากตัวอย่างดิน บริเวณป่าต้นน้ำบ้านน้ำราด อำเภอกีรีรัฐนิคม จังหวัดสุราษฎร์ธานี ศึกษาสารสกัดหยาบเพื่อยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคผลเน่าของเงาะ ผลการแยกสาหร่ายขนาดเล็กได้ทั้งหมด 8 ชนิด ได้แก่ *Haematococcus* sp., *Fischerella* sp., *Oscillatoria* sp., *Hapalosiphon* sp., *Calothrix* sp., *Anabaena* sp., *Aphanocapsa* sp. และ *Scytonema* sp. เชื้อราสาเหตุโรคผลเน่าของเงาะ 4 ไอโซเลต ได้แก่ *Penicillium* sp., *Corticium* sp., *Pestalotiopsis* sp. และ *Lasiodiplodia* sp. ตามลำดับ สาหร่ายขนาดเล็กสกัดด้วย เมทานอลได้สารสกัดหยาบร้อยละ 4.45-5.37 และสกัดด้วยเอทิลอะซิเตต ได้สารสกัดหยาบร้อยละ 4.48-5.39 ผลการทดสอบการยับยั้งเชื้อราด้วยวิธี Paper Disc Diffusion ที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร BG-11 เป็นเวลา 12 วัน พบว่าสารสกัดหยาบสาหร่ายขนาดเล็ก 3 สกุล ได้แก่ *Oscillatoria* sp., *Fischerella* sp. และ *Anabaena* sp. มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคผลเน่าของเงาะ สาหร่าย *Oscillatoria* sp. ที่สกัดด้วยเมทานอลมีฤทธิ์ดีที่สุดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคผลเน่าของเงาะที่เกิดจากเชื้อ *Lasiodiplodia* spp. รองลงมาคือ

สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสุราษฎร์ธานี ถนนสุราษฎร์-นาสาร อำเภอเมือง จังหวัดสุราษฎร์ธานี 84100

Biology Department, Faculty of Science and Technology, Surat Thani Rajabhat University, Surat-Nasan Road, Muang, Surat Thani 84100, Thailand.

* ผู้ติดต่อประสานงาน ไปรษณีย์อิเล็กทรอนิกส์ (Corresponding author, e-mail): plungmann@yahoo.com Tel: 0896512097

Oscillatoria sp. ที่สกัดด้วยเอทิลอะซิเตท วัดเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนการยับยั้งได้เท่ากับ 15.25 และ 14.5 มิลลิเมตร ตามลำดับ ในขณะที่สำหรับ *Anabaena* sp. ที่สกัดด้วยเอทิลอะซิเตท มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อรา *Corticium* sp. ส่วนสำหรับ *Fischerella* sp. ที่สกัดด้วยเมทานอล ยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Lasiodiplodia* spp. วัดเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนการยับยั้งได้เท่ากับ 11.05 มิลลิเมตร

คำสำคัญ: สาหร่ายขนาดเล็ก, สารสกัดหยาบ, การยับยั้งสาเหตุโรคผลเน่าของเงาะ

ABSTRACT

Rambutan (*Nephelium lappaceum* Linn.) is a tropical fruit in Thailand that has economic value in the market, however the fruit rot disease caused by various fungal pathogens such as *Aspergillus* sp., *Colletotrichum* sp., *Phomopsis* sp., and *Pestalotiopsis* sp. affects both quality and shelf life. Many farmers used chemicals such as copper oxychloride and sulfur to control the disease, but the use of chemicals affects health and environment as well as increases costs. This research aimed to screen the microalgae in the soil collected from Nam Rad Forest Headwaters, Khiri Rat Nikhom District, Surat Thani, and to test the antifungal activity from the crude extracts against fruit rot disease. The screening results showed 8 species of microalgae, including *Haematococcus* sp., *Fischerella* sp., *Oscillatoria* sp., *Hapalosiphon* sp., *Calothrix* sp., *Anabaena* sp., *Aphanocapsa* sp. and *Scytonema* sp. and 4 isolates of fungi cause the fruit rot disease in rambutan, including *Penicillium* sp., *Corticium* sp., *Pestalotiopsis* sp., and *Lasiodiplodia* sp. Microalgae extracted by methanol yielded 4.45 - 5.37 percent, while the ethyl acetate-extracted yielded 4.48 - 5.39 percent. The evaluation of antifungal activity using disc diffusion technique revealed that the extraction from 3 genera of microalgae cultured in BG-11 medium for 12 days, including *Oscillatoria* sp., *Fischerella* sp., and *Anabaena* sp., could inhibit the rambutan fruit rot disease fungi. *Oscillatoria* sp. extracted with methanol had the most effective inhibition activity against the rambutan fruit rot disease caused by *Lasiodiplodia* spp. followed by *Oscillatoria* sp. extracted with ethyl acetate, with a mean inhibition zone of 15.25 and 14.5 mm, respectively. *Anabaena* sp. extracted with ethyl acetate inhibited the growth of *Corticium* sp., while *Fischerella* sp. extracted with methanol inhibited the growth of *Lasiodiplodia* spp. with a mean inhibition zone of 11.05 mm.

Key words: microalgae, crude extract, inhibition of rambutan fruit rot disease causes

บทนำ

ปัจจุบันการควบคุมโรคพืชเกษตรกรรมใช้สารเคมีเนื่องจากควบคุมโรคได้อย่างรวดเร็ว สารเคมีที่เกษตรกรนิยมใช้ได้แก่ คอปเปอร์ออกซีคลอไรด์

(copper oxychloride) กำมะถัน (sulfur) คาร์เบนดาซิม (carbendazim) ไอโพรไดโอน (iprodione) เบนซิ มิคาโซล (benzimidazole) และ อิมาซาลิล (imazalil) เป็นต้น ปัญหาการใช้สารเคมีส่งผลเสียต่อสุขภาพ

ผู้ใส่และผู้บริโภค ก่อให้เกิดสารพิษตกค้างในดินส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม และทำให้ค่าใช้จ่ายของเกษตรกรเพิ่มขึ้น (Nicolopoulou-Stamati *et al.*, 2016) ดังนั้นจึงจำเป็นต้องหาวิธีการควบคุมโรคพืชที่ปลอดภัยและเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม ซึ่งสามารถกระทำได้หลายวิธี ได้แก่ การนำเทคโนโลยีชีวภาพด้านจุลินทรีย์ (Belete and Boyraz, 2019) หรือการใช้สารสกัดธรรมชาติจากสมุนไพร เป็นต้น การใช้สารสกัดจากจุลินทรีย์ โดยเฉพาะสาหร่ายขนาดเล็ก ได้แก่ สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน สาหร่ายสีเขียว และไดอะตอม มีความปลอดภัยด้านอาหารและสุขภาพ ลดปัญหาการผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพเพื่อยับยั้งแบคทีเรีย รา และไวรัส (Tiwari and Kaur, 2014; De Morais *et al.*, 2015) โดยผลิตสารในกลุ่ม พอลิไทด์ (polyketide) เอมีน (amine) อัลคาลอยด์ (alkaloid) กรดไขมัน (fatty acids) อินโดล (indole) และ ลิโปเปปไทด์ (lipopeptides) (De Morais *et al.*, 2015; Goncalves, 2021; Nandagopal *et al.*, 2021) มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อราก่อโรคพืช (Righini *et al.*, 2022) เช่น *Botrytis cinerea* ก่อโรคในสตอเบอรี่ *Erysiphe polygoni* สาเหตุโรคราแป้ง (powdery mildew) และเชื้อก่อโรคในมะเขือเทศ จากงานวิจัยพบว่า fischerellin เป็นสารสกัดจากสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน *Fischerella muscicola* ยับยั้งเชื้อรา *Uromyces appendiculatus* สาเหตุโรคราสนิม *Erysiphe graminis* สาเหตุโรคราแป้ง ส่วนสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน *Nostoc muscorum* ยับยั้งเชื้อรา *Sclerotinia sclerotiorum* สาเหตุโรคราสีขาว *Fusarium oxysporum* สาเหตุโรคเหี่ยวในผัก (Singh *et al.*, 2016) สำหรับ *Scytonema* sp. สร้างสาร scytotrycin มีฤทธิ์ต้านเชื้อรา (Shishido *et al.*, 2015) *Calothrix* sp. TISTR 8906 ยับยั้งเชื้อรา *Macrophomina phaseolina* สาเหตุโรคในข้าวฟ่าง ข้าวโพด และถั่วเขียว เป็นต้น โรคผลเน่าของเงาะเกิดจากเชื้อราหลายชนิดเข้าทำลาย

ได้แก่ *Lasiodiplodia theobromae*, *Gliocephalotrichum* spp., *Colletotrichum gloeosporioides*, *Pestalotiopsis* sp. และ *Phomopsis* sp. เป็นปัญหาสำคัญสร้างความเสียหายต่อปริมาณและคุณภาพเงาะทำให้ อายุการเก็บรักษาลดลง (Chirawut, 2014) การควบคุมโรคผลเน่าของเงาะมีหลายวิธีที่มีความปลอดภัย เช่น จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ ชีวภัณฑ์จากพืช สารปลอดภัย และ ไคโตซาน เป็นต้น การใช้สารสกัดจากสาหร่ายขนาดเล็กเป็นอีกวิธีหนึ่งที่นำมาทดสอบการยับยั้งเชื้อราก่อโรคผลเน่าในเงาะในระดับห้องปฏิบัติการ ดังนั้นงานวิจัยในครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อคัดแยกสาหร่ายขนาดเล็กและทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อราก่อโรคในเงาะ เพื่อนำไปประยุกต์ใช้ควบคุมโรคผลเน่าในเงาะ เพื่อเป็นแนวทางการลดการใช้สารเคมีเพื่อเป็นอีกทางเลือกให้แก่เกษตรกรต่อไป

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การคัดเลือกสายพันธุ์สาหร่ายขนาดเล็ก

คัดแยกสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินบนอาหารแข็ง BG-11 โดยวิธี streak plate จากตัวอย่างดินบริเวณป่าต้นน้ำบ้านน้ำราดอำเภอคีรีรัฐนิคม จังหวัดสุราษฎร์ธานี ช่วงเดือน พฤศจิกายน นานิวิสุทธิ ไปศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาและจำแนก (Wehr and Sheath, 2003) เก็บรักษาตัวอย่างสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ในหลอดทดลอง วางภายใต้แสงฟลูออเรสเซนต์ เพื่อนำไปศึกษาต่อไป

2. การเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก

2.1 การเตรียมหัวเชื้อสาหร่ายขนาดเล็ก

เลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก 8 สกุล ได้แก่ *Haematococcus* sp., *Fischerella* sp., *Oscillatoria* sp., *Hapalosiphon* sp., *Calothrix* sp., *Anabaena* sp., *Aphanocapsa* sp. และ *Scytonema* sp. ในอาหารเหลว BG-11 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร บรรจุในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิห้อง (อุณหภูมิ 35 -

37 องศาเซลเซียส) ภายใต้แสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ที่ 5,000 ลักซ์ บนเครื่องเขย่าความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที เมื่อเซลล์เข้าสู่ระยะคงที่ (stationary phase) ใช้เวลา 12 วัน นำหัวเชื้อไปเพาะเลี้ยงเพื่อเพิ่มปริมาณต่อไป

2.2 การเพิ่มปริมาณสาหร่ายขนาดเล็ก

นำหัวเชื้อสาหร่ายขนาดเล็กข้อ 2.1 ปรับความเข้มข้นของเซลล์ให้ได้ 10^6 เซลล์ต่อมิลลิลิตร มาเลี้ยงในอาหารเหลว BG-11 ปริมาตร 300 มิลลิลิตร บรรจุในพลาสติกขนาด 500 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิห้อง ภายใต้แสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ที่ 5,000 ลักซ์ ให้แสงต่อเนื่องบนเครื่องเขย่าความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 12 วัน จากนั้นเก็บเกี่ยวเซลล์สาหร่ายขนาดเล็กโดยวิธีการปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 5,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที ล้างเซลล์ด้วยน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้ว 2 ครั้ง นำเซลล์สาหร่ายขนาดเล็กที่ได้สกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

3. การสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่ายขนาดเล็ก

นำเซลล์สาหร่ายขนาดเล็กข้อ 2.2 มาทำให้เซลล์แตกโดยการแช่เยือกแข็งที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส และบดให้ละเอียด สกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอลและเอทิลอะซิเตท เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำมาปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 5,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที เก็บสารสกัดส่วนใสไประเหยตัวทำละลายออก ภายใต้สูญญากาศด้วยเครื่อง rotary evaporator ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส จนได้สารสกัดหยาบจากสาหร่ายขนาดเล็ก ชั่งน้ำหนักสารสกัดหยาบแล้วนำไปคำนวณหาร้อยละของสารสกัดหยาบที่ได้ จากนั้นเก็บรักษาในขวดสีชา ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ในการทดสอบต่อไป

4. การแยกเชื้อราก่อโรคในผลเงาะ

แยกเชื้อราจากผลเงาะที่เป็นโรคผลเน่า โดยตัดชิ้นส่วนบริเวณที่เป็นโรคเป็นชิ้น ขนาด 0.5×0.5

เซนติเมตร แช่ในสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรต์ 3 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 3 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นนิ่งมาเชื้อ 2 ครั้ง ซับให้แห้งด้วยกระดาษกรองที่ฆ่าเชื้อ นำชิ้นส่วนเงาะน้ำหนัก 25 กรัม ใส่ในสารละลายน้ำเกลือ 0.85 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 225 มิลลิลิตร นำไปปั่นด้วยเครื่อง stomacher ที่ความเร็ว 200 รอบ เป็นเวลา 2 นาที เจือจางให้ได้ระดับความเข้มข้น 10^{-3} นำมา spread plate บนอาหารพีดีเอ (Potato Dextrose Agar) บ่มที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส 3-4 วัน จนเส้นใยเจริญ เชียบบริเวณปลายเส้นใยมาวางบนอาหารพีดีเอ บ่มที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน แยกเชื้อราให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิค single spore (Choi *et al.*, 1999) นำมาข้อมสี Lactophenol Cotton Blue (LPCB) ศึกษาทางสัณฐานวิทยา ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

5. การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดต่อการยับยั้งเชื้อราก่อโรคผลเน่าในเงาะ

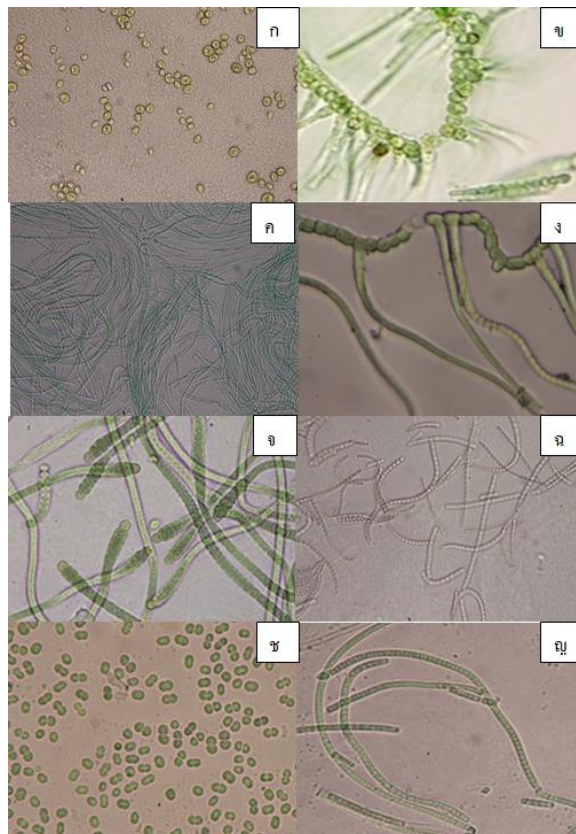
ทดสอบการยับยั้งเชื้อราก่อโรคพืชด้วยวิธี Paper Disc Diffusion นำสารสกัดจากสาหร่ายขนาดเล็กจากข้อ 3 ความเข้มข้น 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร หยดบนแผ่นทดสอบที่มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 8 มิลลิเมตร ทิ้งให้แห้ง ส่วนตัวควบคุมเชิงลบ (negative control) ใช้ตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดสาหร่ายขนาดเล็ก (เมทานอลและเอทิลอะซิเตท) จากนั้นใช้ไม้พันสำลีปราศจากเชื้อ เกลี่ยสปอร์แขวนลอยเชื้อราที่มีความเข้มข้น 1.0×10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ให้ทั่วจานอาหาร PDA ทิ้งไว้ 10 นาที จนกระทั่งผิวหน้าอาหารแห้ง แล้ววางแผ่นทดสอบลงบนผิวหน้าอาหาร โดยวาง 2 ตำแหน่งต่อหนึ่งจานเพาะเชื้อ ทำการทดสอบ 2 ซ้ำ นำจานเลี้ยงเชื้อไปบ่มที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน ตรวจผลการทดสอบโดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนการยับยั้ง (inhibition zone) ในหน่วยมิลลิเมตร (Kim and Kim, 2008)

ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

1. ผลการคัดแยกสาหร่ายขนาดเล็ก

ผลการศึกษาพบสาหร่ายขนาดเล็กจำนวน 8 ชนิด แบ่งเป็นสาหร่าย สีเขียว จำนวน 1 ชนิด ได้แก่ *Haematococcus* sp. และสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน จำนวน 7 ชนิด ได้แก่ *Fischerella* sp., *Oscillatoria* sp., *Hapalosiphon* sp., *Calothrix* sp., *Anabaena* sp.,

Aphanocapsa sp. และ *Scytonema* sp. โดยที่ *Anabaena* sp. เป็นชนิดที่พบมากที่สุด (คิดเป็น 35 %) รองลงมา คือ *Oscillatoria* sp. (คิดเป็น 25 %), *Fischerella* sp. (คิดเป็น 18 %), *Hapalosiphon* sp. (คิดเป็น 7 %), *Calothrix* sp., *Aphanocapsa* sp. และ *Scytonema* sp. (คิดเป็นชนิดละ 5 %) ตามลำดับ (ภาพที่ 1)



ภาพที่ 1 ลักษณะสัณฐานวิทยาของสาหร่ายขนาดเล็ก ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 400 เท่า

ก. *Haematococcus* sp. ข. *Fischerella* sp. ค. *Oscillatoria* sp. ง. *Hapalosiphon* sp.

จ. *Calothrix* sp. ฉ. *Anabaena* sp. ช. *Aphanocapsa* sp. ญ. *Scytonema* sp.

เนื่องจากพื้นที่ดังกล่าวมีการศึกษาค่อนข้างจำกัด สภาพแวดล้อมส่วนใหญ่ถูกทำลายจากการบุกรุกพื้นที่ป่าเพื่อปลูกยางพาราและทำการเกษตรจากแหล่งน้ำที่เคยมีความอุดมสมบูรณ์กลายเป็นพื้นน้ำตื้นเขิน ส่งผลทำให้พื้นที่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างรวดเร็ว ความหลากหลายและการแพร่กระจายของสาหร่ายขนาดเล็กในสถานที่ต่างๆ จะมีชนิดของ

สาหร่ายแตกต่างกัน ทั้งนี้เนื่องจากความเหมาะสมปัจจัยทางอาหารและสภาพแวดล้อม คณะผู้วิจัยเก็บตัวอย่างเดือนพฤศจิกายนซึ่งเป็นช่วงฤดูฝนจะมีผลต่อการดำรงชีวิตของสาหร่ายในแต่ละชนิด เช่น แสงสาหร่ายต้องการแสงสว่างในการเจริญเติบโตปกติจะเจริญอยู่ในดินความลึกไม่เกิน 0.5 เซนติเมตร หรือในพื้นที่ที่มีน้ำขัง ความเข้มของแสงจะเปลี่ยนแปลงไป

ขึ้นกับฤดูกาล พืชที่เจริญปกคลุมอยู่ ตลอดจนความขุ่นของน้ำ สาหร่ายแต่ละชนิดมีความทนทานต่อแสงได้แตกต่างกันแล้วแต่นชนิดและสายพันธุ์ น้ำที่มีความขุ่นมากจะส่งผลทำให้แสงผ่านน้ำได้น้อยลง จึงอาจพบสาหร่ายที่ตรึงไนโตรเจนเป็นบางครั้ง ในบางครั้งฝนอาจทำให้เกิดการคลุกเคล้ากันระหว่างสาหร่ายและดิน ทำให้กิจกรรมการตรึงไนโตรเจนของสาหร่ายลดลงเกือบทั้งหมดได้ และอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของสาหร่ายคือ 25-35 องศาเซลเซียส

ตัวอย่างสาหร่ายที่แยกได้เป็นสาหร่ายสีเขียวและสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน บางสกุลมีรายงานวิจัยถึงการผลิตสารทุติยภูมิ (secondary metabolites) ที่เป็นพิษต่อสิ่งมีชีวิตและผลิตสารยับยั้งการเจริญของเชื้อราและแบคทีเรียก่อโรคในพืช (Abdel-Monaim *et al.*, 2016) Alwathnani and Perveen (2012) รายงานว่า *Nostoc linckia* สามารถยับยั้ง *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* สาเหตุโรคเหี่ยวในมันฝรั่ง นอกจากนี้ *Oscillatoria*, *Anabaena*, *Nostoc* และ *Calothrix* ยับยั้งเชื้อราโรคพืชโดยเฉพาะ *Nostoc commune* และ *Oscillatoria tenuis* มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *Phytophthora capsici*

ดังนั้นสาหร่ายขนาดเล็กที่ผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพสามารถพัฒนาเป็นสารยับยั้งเชื้อราก่อโรคพืชทดแทนการใช้สารสังเคราะห์ซึ่งก่อให้เกิดสารพิษตกค้างในสิ่งแวดล้อม และส่งผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตรวมถึงมนุษย์ หากมีการนำสารจากธรรมชาติมาทดแทนสารสังเคราะห์จะเป็นการอนุรักษ์สิ่งแวดล้อมอย่างยั่งยืน

2. ปริมาณสารสกัดหยาบจากสาหร่ายขนาดเล็ก

จากการนำตัวอย่างดินบริเวณป่าต้นน้ำบ้านน้ำราด อำเภอคีรีรัฐนิคม จังหวัดสุราษฎร์ธานี ปริมาณสารสกัดหยาบสาหร่ายขนาดเล็ก แสดงในตารางที่ 1 พบว่าสาหร่ายขนาดเล็กที่สกัดด้วยเมทานอลได้ปริมาณสารสกัดร้อยละ 4.45-5.37 และสกัดด้วยเอทิลอะซิเตท ได้ปริมาณสารสกัดร้อยละ 4.48-5.39 สาหร่ายขนาดเล็ก *Haematococcus* sp. ที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตทให้น้ำหนักสารสกัดสูงสุด คิดเป็นร้อยละ 5.39 และที่สกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอล ให้น้ำหนักสารสกัดสูงสุดคิดเป็นร้อยละ 5.37

ตารางที่ 1 ร้อยละของสารสกัดหยาบสาหร่ายขนาดเล็ก เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว BG-11 เมื่อสกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอลและเอทิลอะซิเตท

ชนิดสาหร่าย	ร้อยละของสารสกัด	
	เมทานอล	เอทิลอะซิเตท
<i>Haematococcus</i> sp.	5.37	5.39
<i>Fischerella</i> sp.	4.48	4.50
<i>Oscillatoria</i> sp.	4.62	4.64
<i>Hapalosiphon</i> sp.	5.26	5.29
<i>Calothrix</i> sp.	4.98	4.96
<i>Anabaena</i> sp.	4.57	4.53
<i>Aphanocapsa</i> sp.	4.45	4.48
<i>Scytonema</i> sp.	4.55	4.53

ตัวทำละลายอินทรีย์ที่นำมาสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพมีหลายชนิด เช่น เมทานอล เอทานอล คลอโรฟอร์ม อะซิโตน เอทิล อะซิเตทและ เฮกเซน โดยแต่ละชนิดมีจุดเดือด ความหนาแน่น การมีขั้วและความสามารถในการผสมรวมกับน้ำต่างกัน สามารถนำมาใช้เป็นตัวทำละลายสำหรับสกัดสารเมแทบอไลต์ในอุตสาหกรรมอาหารและยา (Grodowska and Parczewski, 2010) สำหรับตัวทำละลายอินทรีย์ เมื่อนำมาสกัดสารหยาบจะได้กลุ่มสารเคมีชนิดต่างๆ เช่น เปปไทด์ (peptide) กรดไขมัน (fatty acids) คาโรทีนอยด์ (carotenoids) โพลีฟีนอล (polyphenol) ฟีนอลิก (phenolic) ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) และพอลิแซ็กคาไรด์ (polysaccharide) สารเคมีดังกล่าวเป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรีย เชื้อรา ไวรัส และเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (Guerreiro *et al.*, 2020) นอกจากนี้ พบว่าอุณหภูมิและระยะเวลาในการให้ความร้อนมีผลต่อสมบัติทางกายภาพของสารสกัดสำหรับ Gonzalez *et al.* (2001) ศึกษาผลของสภาวะการเจริญต่อการผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ในสภาวะที่ให้ความเครียดและสภาวะธรรมชาติพบว่า การเลี้ยงในสภาวะที่ให้ความเครียดมีแนวโน้มจะสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพได้ดีกว่าแต่ไม่ชัดเจน (แตกต่างกันไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ)

3. ผลการแยกเชื้อราก่อโรคในผลเงาะ

จากการเก็บตัวอย่างเงาะที่แสดงอาการโรคผลเน่า มาแยกเชื้อสาเหตุของโรค และทำการศึกษาโครงสร้างของเชื้อรา พบว่า สามารถแยกเชื้อราให้บริสุทธิ์ได้ทั้งหมด 4 ไอโซเลท ได้แก่ *Penicillium* sp., *Corticium* sp., *Pestalotiopsis* sp. และ *Lasiodiplodia* sp.

จากลักษณะสัณฐานวิทยาสันนิษฐานว่าเชื้อราไอโซเลท 1 เชื้อรา *Penicillium* sp. ไอโซเลท 2 เชื้อรา *Corticium* sp. ไอโซเลท 3 เชื้อรา *Pestalotiopsis* sp. และ ไอโซเลท 4 เชื้อรา *Lasiodiplodia* sp. เนื่องจากเชื้อราไอโซเลท 1 ลักษณะโคโคนีมีสีเขียวอมเหลือง

หรือเขียวมะกอก ปลายโคนดิโอพอร์ (conidiophore) มีการแตกแขนงเป็นไฟอะลาอิด (phialide) สปอร์เป็นแบบโคนิเดีย (conidia) ไอโซเลท 2 สร้างเส้นใยสีขาวอมชมพูไปจนถึงม่วงอ่อน เบสิดิโอสปอร์ (basidiospore) ลักษณะแคบรูปกระสวย มีความยาว 8-11 ไมโครเมตร กว้าง 3-5 ไมโครเมตร ไอโซเลท 3 สร้างเส้นใยสีขาว นวลและหยาบฟูเล็กน้อย สร้างพิกนิตีเดีย (pycnidia) สีดำกระจายทั่วโคโคนี โคนิเดียมีความยาว 20-23 ไมโครเมตร กว้าง 5-6 ไมโครเมตร ลักษณะยาวเรียว บางเซลล์ส่วนหัวและท้ายมีลักษณะแหลมเรียวไม่มีสี แต่เซลล์บริเวณกลาง 3 เซลล์จะมีสีน้ำตาลเข้มถึงดำ ไอโซเลท 4 เส้นใยสีน้ำตาลเข้มจนถึงดำเส้นใยละเอียดค่อนข้างฟู โคนิเดียระยะแรกมีสีใส เซลล์เดี่ยว รูปไข่ถึงยาวรี จนถึงค่อนข้างกลม ปลายด้านหนึ่งกลมมน มีความยาว 20-25 ไมโครเมตร กว้าง 10-14 ไมโครเมตร ดังนั้นจึงนำเชื้อราทั้ง 4 ไอโซเลทมาใช้ทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากสาหร่ายขนาดเล็กในการยับยั้งเชื้อรา จากรายงานวิจัยของ Chirawut (2014) สาเหตุโรคผลเน่าในเงาะเกิดจากเชื้อรา *Lasiodiplodia theobromae*, *Gliocephalotrichum* spp., *Colletotrichum gloeosporioides*, *Pestalotiopsis* sp. และ *Phomopsis* sp. Thimabut *et al.* (2016) แยกเชื้อราก่อโรคในผลเงาะโรงเรียน อำเภอนาสาร จังหวัดสุราษฎร์ธานี สามารถแยกเชื้อราได้ 2 ชนิดคือ *Pestalotiopsis* sp. และ *Phomopsis* sp. ในขณะที่ Sanosomneng *et al.* (2019) รายงานว่าเชื้อราที่ทำให้เงาะเกิดผลเน่ามากที่สุดคือ *Gliocephalotrichum* spp. รองลงมาคือ *Pestalotiopsis* spp. และ *Lasmenia* spp. ตามลำดับ ทั้งนี้เชื้อราก่อโรคผลเน่าในเงาะ เป็นปัญหาสำคัญทำให้คุณภาพของผลเงาะลดลง อายุการเก็บรักษาสั้น

4. ผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากสาหร่ายขนาดเล็กในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุก่อโรคในเงาะ

สาหร่ายขนาดเล็กเป็นสิ่งมีชีวิตที่มีศักยภาพในการยับยั้งเชื้อราก่อโรค การสกัดด้วยตัวทำละลายที่แตกต่างกันอาจส่งผลต่อประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อรา ประสิทธิภาพสารสกัดหายาจากสาหร่ายขนาดเล็กในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุก่อโรคเน่าในเงาะ สารสกัดหายาจาก *Oscillatoria* sp. ที่สกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอลสามารถยับยั้งเชื้อราก่อโรคเน่าของเงาะได้ดีที่สุด สามารถยับยั้งก่อโรคเน่าของเงาะได้ทุกไอโซเลท วัดเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนการยับยั้ง (inhibition zone) เท่ากับ 15.25 ± 0.3 มิลลิเมตร ส่วนการสกัดด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตท ประสิทธิภาพการยับยั้งเท่ากับ 14.5 ± 0.7 มิลลิเมตร รองลงมา คือสารสกัดสาหร่ายขนาดเล็ก *Fischerella* sp. ที่สกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอลยับยั้งเชื้อรา *Penicillium* sp. และ *Lasiodiplodia* sp. วัดเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนการยับยั้ง เท่ากับ 6.5 ± 0.7 และ 11.5 ± 0.7 มิลลิเมตร ตามลำดับ และที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตทยับยั้งเชื้อรา *Corticium* sp. และ *Lasiodiplodia* sp. วัดเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนการยับยั้งเท่ากับ 8.5 ± 0.7 และ 10.0 ± 0 มิลลิเมตร ตามลำดับ สารสกัดหายาจาก *Anabaena* sp. ที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทิล อะซิเตทสามารถยับยั้งเชื้อรา *Penicillium* sp. และ *Corticium* sp. วัดเส้นผ่านศูนย์กลาง

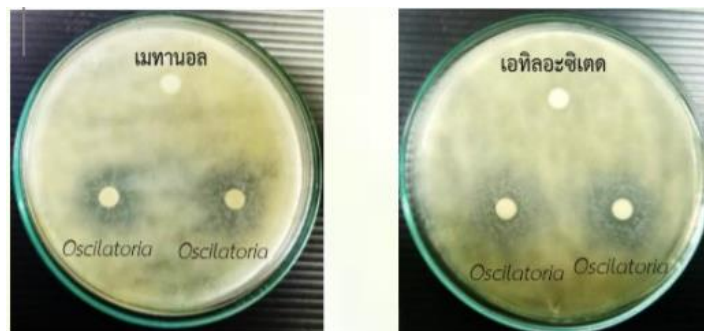
ของโซนการยับยั้งเท่ากับ 8.0 ± 0 และ 11.5 ± 0.7 มิลลิเมตร ตามลำดับ สารสกัดจากสาหร่ายขนาดเล็กทั้ง 8 สกุลไม่สามารถยับยั้งเชื้อรา *Pestalotiopsis* sp. ได้ สำหรับปัจจัยของตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดสารเพื่อยับยั้งเชื้อรา พบว่าสาหร่ายขนาดเล็กมีองค์ประกอบภายในเซลล์อยู่ในสภาพขี้วปานกลางสามารถถูกสกัดได้ดีด้วยเมทานอลและเอทิลอะซิเตท และเมื่อพิจารณาเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนการยับยั้งของ *Oscillatoria* sp. ซึ่งยับยั้งเชื้อราก่อโรคเน่าในเงาะได้ดีที่สุด พบว่าเมทานอลเป็นตัวทำละลายที่มีประสิทธิภาพในการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพได้ดีกว่าเอทิลอะซิเตท นอกจากนี้ คุณสมบัติของเมทานอลเป็นสารที่มีขี้วปานกลางจึงสามารถละลายน้ำได้ดีกว่าสารที่สกัดได้โดยตัวทำละลายที่มีขี้วต่ำ และเป็นตัวทำละลายที่ระเหยได้ง่าย ทำให้ง่ายต่อการแยกตัวทำละลายออกจากสารสกัด และอิทธิพลของตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดพบว่าสารออกฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์มีค่าดัชนีความมีขี้วปานกลาง (polarity index, P) เช่น เมทานอล ($P = 5.1$) และ เอทิลอะซิเตท ($P = 4.4$) ในขณะที่การใช้ตัวทำละลายที่มีค่าดัชนีความมีขี้วสูงมาก เช่น น้ำ ($P = 10.2$) และตัวทำละลายที่มีค่าดัชนีความมีขี้วต่ำมาก เช่น เฮกเซน ($P = 0.1$) ไม่สามารถสกัดสารออกฤทธิ์ไซยาโนแบคทีเรียได้ ดังนั้น ตัวทำละลายสภาพที่มีขี้วปานกลางจึงสกัดสารได้ดี โดยเฉพาะเมทานอล และเอทิลอะซิเตท (Utaiida et al., 2014)

ตารางที่ 2 ประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อราสาเหตุก่อโรคในผลเงาะของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายขนาดเล็ก ด้วยวิธี

Paper Disc Diffusion

ความเข้มข้นของ สารสกัด 500 µg/ml	ตัวทำละลาย	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนการยับยั้ง (มิลลิเมตร)			
		<i>Penicillium</i> sp. <i>Corticium</i> sp., <i>Pestalotiopsis</i> sp. <i>Lasiodiplodia</i> sp.			
<i>Fischerella</i> sp.	เมทานอล	6.5±0.7	-	-	11.5±0.7
	เอทิลอะซิเตท	-	8.5±0.7	-	10.0±0.0
<i>Oscillatoria</i> sp.	เมทานอล	-	-	-	15.25±0.3
	เอทิลอะซิเตท	-	-	-	14.5±0.7
<i>Anabaena</i> sp.	เมทานอล	-	-	-	-
	เอทิลอะซิเตท	8.0±0	11.5±0.7	-	-

หมายเหตุ - หมายถึง ไม่เกิดบริเวณการยับยั้ง; ค่าเฉลี่ย ± ค่า SD

ภาพที่ 2 แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนการยับยั้งเชื้อรา *Lasiodiplodia* sp. ของสารสกัดหยาบ *Oscillatoria* sp. ที่ความเข้มข้น 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

สาหร่ายขนาดเล็กโดยเฉพาะสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพภายในเซลล์และนอกเซลล์ที่หลากหลาย มีฤทธิ์ในการต้านแบคทีเรีย เชื้อรา และไวรัส สามารถนำมาใช้ทางการเกษตร (Goncalves, 2021) จึงได้รับความสนใจนำมาใช้เป็นสารชีวภาพที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมเพื่อควบคุมโรคพืช จากงานวิจัยของ Abdel-Monaim *et al.* (2016) รายงานว่า *Nostoc muscorum*, *Oscillatoria agardhii*, *Spirulina platensis* และ *Anabaena sphaerica* เมื่อนำมาสกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอล อะซิโตน และน้ำ สามารถยับยั้งเชื้อรา *Rhizoctonia solani*, *Fusarium*

solani และ *Phytophthora phaseolina* โดยสาหร่ายดังกล่าวผลิตสารเมแทบอไลต์ทุติยภูมิ ได้แก่ กรดอินโดลแอซิดิก (IAA) ฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ และโปรติเอส เป็นต้น Haggag *et al.* (2014) พบว่าสารสกัดจาก *Oscillatoria agardhii* และ *Anabaena sphaerica* ที่ความเข้มข้นต่ำสุด 0.3 µg/ml สามารถยับยั้งเชื้อรา *Fusarium equiseti*, *F. moniliforme*, *F. solani*, *F. proliferatum*, *F. graminearum*, *Penicillium digitatum*, *Aspergillus terreus*, *A. niger*, *A. flavus*, *A. oryza*, *Alternaria alternate* และ *A. triticina* สาเหตุโรคในเมล็ดธัญพืช เช่น ข้าวโพด ข้าวสาลี และข้าวบาร์เลย์ โดย *Oscillatoria agardhii*

ที่สกัดด้วยอะซิโตน เมทานอล และน้ำ สารสกัดยับยั้งเชื้อราวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนการยับยั้งอยู่ในช่วง 9.8-24.1, 8.1-18.8 และ 5.5-9.9 มิลลิเมตร ตามลำดับ และ *Anabaena sphaerica* ยับยั้งเชื้อราวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนการยับยั้งอยู่ในช่วง 7.7-16.3, 6.2-12.4 และ 5.5-9.5 มิลลิเมตร ตามลำดับ จึงมีความเป็นไปได้ที่นำสารสกัดจากสาหร่ายขนาดเล็กมาใช้อย่างมีประสิทธิภาพต่อโรคในผัก ผลไม้ ซึ่งเป็นทางเลือกสำหรับเกษตรกรที่จะใช้สารชีวภาพยับยั้งเชื้อรา

สรุป

สาหร่ายขนาดเล็กที่แยกได้จากดินบริเวณป่าต้นน้ำ มี 8 ชนิด แบ่งเป็นสาหร่าย สีเขียว จำนวน 1 ชนิด ได้แก่ *Haematococcus* sp. และสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน จำนวน 7 ชนิด ได้แก่ *Fischerella* sp., *Oscillatoria* sp., *Hapalosiphon* sp., *Calothrix* sp., *Anabaena* sp., *Aphanocapsa* sp. และ *Scytonema* sp. โดยที่ *Anabaena* sp. เป็นชนิดที่พบมากที่สุด (คิดเป็น 35 %) รองลงมาคือ *Oscillatoria* sp. (คิดเป็น 25 %), *Fischerella* sp (คิดเป็น 18 %), *Hapalosiphon* sp. (คิดเป็น 7 %), *Calothrix* sp., *Aphanocapsa* sp. และ *Scytonema* sp. (คิดเป็นชนิดละ 5 %) ตามลำดับ จากการศึกษาพบว่าสารสกัดหยาบสาหร่ายขนาดเล็ก 3 สกุล ได้แก่ *Oscillatoria* sp., *Fischerella* sp. และ *Anabaena* sp. มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคผลเน่าของเงาะ สาหร่าย *Oscillatoria* sp. ที่สกัดด้วยเมทานอลมีฤทธิ์ดีที่สุดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคผลเน่าของเงาะที่เกิดจากเชื้อ *Lasiodiplodia* spp. รองลงมาคือ *Oscillatoria* sp. ที่สกัดด้วยเอทิลอะซิเตท วัดเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนการยับยั้งได้เท่ากับ 15.25 และ 14.5 มิลลิเมตร ตามลำดับ ในขณะที่สาหร่าย *Anabaena* sp. ที่สกัดด้วยเอทิลอะซิเตท มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อรา

Corticium sp. ส่วนสาหร่าย *Fischerella* sp. ที่สกัดด้วยเมทานอล ยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Lasiodiplodia* spp. วัดเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนการยับยั้งได้เท่ากับ 11.05 มิลลิเมตร จากการศึกษาครั้งนี้เป็นเพียงการศึกษาเบื้องต้น จึงควรมีการศึกษาต่อไปในด้านการนำสาหร่ายขนาดเล็กที่แยกได้มาใช้ประโยชน์ในด้านต่างๆ เช่น การผลิตปุ๋ยชีวภาพสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ เป็นต้น

กิจกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสุราษฎร์ธานี

เอกสารอ้างอิง

- Abdel-Monaim, M.F., Mazen, M.M. and Atwa, M.A.A.M. 2016. Effect of cyanobacteria on reducing damping-off and root rot incidence in lupine plants, New Valley Governorate, Egypt. **British Microbiology Research Journal** 16(2): 1-14.
- Alwathnani, H.A. and Perveen, K. 2012. Biological control of *Fusarium* wilt of tomato by antagonist fungi and cyanobacteria. **African Journal of Biotechnology** 11(5): 1100-1105.
- Belete, T. and Boyraz, N. 2019. Biotechnological tools for detection, identification and management of plant diseases. **African Journal of Biotechnology** 18(29): 797-807.
- Chirawut, B. 2014. Fruit rot disease of harvested rambutan and its control. **Thai Agricultural Research Journal** 32(1): 89-109. (in Thai)

- Choi, Y.W., Hyde, K.D. and Ho, W.H. 1999. Single spore isolation of fungi. **Fungal Diversity** 3: 29-38.
- De Moraes, M.G., Vaz, B.D.S., De Moraes, E.G. and Costa, J.A.V. 2015. Biologically active metabolites synthesized by microalgae. **BioMed Research International** (Suppl. 1): 1-15.
- Goncalves, A.L. 2021. The use of microalgae and cyanobacteria in the improvement of agricultural practices: A review on their biofertilising, biostimulating and biopesticide roles. **Applied Sciences** 11(871): 1-21.
- Gonzalez del Val, A., Platas, G., Basilio, A., Cabello, A., Gorrochategui, J., Suay, I., Vicente, F., Protillo, E., Jimenez del Rio, M., Reina, G.G. and Pelaez, F. 2001. Screening of antimicrobial activities in red, green and brown macroalgae from Gran Canaria (Canary Islands, Spain). **International Microbiology** 4(1): 35-40.
- Grodowska, K. and Parczewski, A. 2010. Organic solvents in the pharmaceutical industry. **Acta Poloniae Pharmaceutica-Drug Research** 67: 3-12.
- Guerreiro, A., Andrade, M.A., Menezes, C., Vilarinho, F. and Dias, E. 2020. Antioxidant and cytoprotective properties of cyanobacteria: Potential for biotechnological applications. **Toxins** 12(548): 1-18.
- Haggag, W., Abd El-Aty, A.M. and Mohamed, A.A. 2014. The potential effect of two cyanobacteria species; *Anabaena sphaerica* and *Oscillatoria agardhii* against storage fungi. **European Scientific Journal** 10(30): 1857-7881.
- Kim, J. and Kim, J.D. 2008. Inhibitory effect of algal extracts on mycelial growth of the tomato-wilt pathogen, *Fusarium oxysporum* f. sp. *Lycopersici*. **Mycobiology** 36(4): 242-248.
- Nandagopal, P., Steven, A.N., Chan, L.N., Rahmat, Z., Jamaluddin, H. and Noh, N.I.M. 2021. Bioactive metabolites produced by cyanobacteria for growth adaption and their pharmacological properties. **Biology** 10: 1-24.
- Nicolopoulou-Stamati, P., Maipas, S., Kotampasi, C., Stamatis, P. and Hens, L. 2016. Chemical pesticides and human health: The urgent need for a new concept in agriculture. **Frontiers in Public Health** 4: 148.
- Righini, H., Francioso, O., Quintana, A.M. and Roberti, R. 2022. Cyanobacteria: A natural source for controlling agricultural plant diseases caused by fungi and oomycetes and improving plant growth. **Horticultural** 8(1): 58.
- Sanosomneng, K., Bussabong, N., Sangchotea, S. and Tongsri, V. 2019. Fungal pathogens of rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) fruit rot and disease control using salicylic acid. **Thai Science and Technology Journal** 28(7): 1216-1226. (in Thai)
- Shishido, T.K., Humisto, A., Jokela, J., Liu, L., Wahlsten, M., Tamrakar, A., Fewer, D.P., Pemi, P., Andreote, A.P.D., Fiore, M.F. and Sivonen, K. 2015. Antifungal compounds from cyanobacteria. **Marine Drugs** 13(4): 2124-2140.
- Singh, N.K., Dhar, W.D. and Tabassum, R. 2016. Role of cyanobacteria in crop protection, pp. 1-8. *In The Proceedings of the National Academy of Sciences*. India.

- Thimabut, K., Srisawat, T. and Ummarat, N. 2016. Efficiency of khium (*Cotylelobium lanceolatum* Craib.) branch extracts against pathogenic fungi causing postharvest disease of rambutan fruit. **Songklanakarin Journal of Plant Science** 3(Suppl. I): 132-137. (in Thai)
- Tiwari, A. and Kaur., A. 2014. Allelopathic impact of cyanobacteria on pathogenic fungi. **International Journal of Pour & Applied Bioscience** 2(3): 63-70.
- Utaida, S., Khlangmake, V., Chittapun, S. and Charoenrat, T. 2014. Screening of antibacterial substances from cyanobacteria *Anabaena* spp. and *Nostoc* spp. **Thai Journal of Science and Technology** 22(2): 147-157. (in Thai)
- Wehr, J.D. and Sheath, R.G. 2003. **Freshwater Algae of North America Ecology and Classification**. 1st ed. Academic Press, Boston.