ความหลากหลายของราในนาเกลือ จังหวัดฉะเชิงเทรา

Diversity of Solar Saltern Fungi in Chachoengsao Province

อภิรดี ปิลันธนภาคย์[1]* สุดารัตน์ สวนจิตร[1] สมถวิล จริตควร[2] และศรัณยา รักเสรี[3]

Apiradee Pilantanapak[1] Sudarat Suanjit[1] Somtawin Jaritkuan[2] and Saranya Rakseree[3]

[1]*ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา*

[2]*ภาควิชาวาริชศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา*

[3]*โครงการวิทยาศาสตร์ชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา*

[1]*Department of Microbiology, Faculty of Science, Burapha University*

[2]*Department of Aquatic Science, Faculty of Science, Burapha University*

[3]*Biological Science Program, Faculty of Science, Burapha University*

Received : 19 April 2016

Accepted : 11 July 2016

Published online : 11 August 2016

บทคัดย่อ

การศึกษาความหลากหลายของราในดินและน้ำในนาเกลือ จังหวัดฉะเชิงเทรา ในช่วงระหว่างเดือนตุลาคม พ.ศ. 2554 ถึงเดือนกรกฎาคม พ.ศ. 2555 พบราทั้งหมดจำนวน 41 แทกซา ซึ่งเป็นราในกลุ่มอะนามอร์ฟ เมื่อนำมาจัดจำแนกโดยอาศัยลักษณะทางสัณฐาน สามารถจำแนกได้อย่างน้อยถึงระดับจีนัส จำนวน 23 จีนัส จีนัสที่พบสมาชิกได้หลากหลายสปีชีส์ คือ *Aspergillus*, *Penicillium* และ *Cladosporium* โดยมีจำนวน 5, 4 และ 3 สปีชีส์ ตามลำดับ ราที่พบบ่อยที่สุดคือ *Cochilobolus* sp. / *Bipolaris* sp. (8.33%) ตามด้วย *Cladosporium sphaerospermum*, *C. cladosporioides*, *Moniliella* sp. และ *Nigrospora sphaerica* (พบชนิดละ 5.56%) ประชาคมราที่พบในการเก็บตัวอย่างเดือนตุลาคม พ.ศ. 2554 มกราคม พ.ศ. 2555 และเมษายน พ.ศ. 2555 มีความคล้ายคลึงกันตาม Sorensen's index of similarity (S) ระหว่าง 0.30-0.52 ปริมาณราที่พบในเดือนกรกฎาคม พ.ศ. 2555 มีมากที่สุด แต่มีความคล้ายคลึงของประชาคมรากับประชาคมราในเดือนอื่นๆ น้อยที่สุด (S = 0.1 - 0.2)

คำสำคัญ : รา ความหลากหลาย นาเกลือ จังหวัดฉะเชิงเทรา

***Corresponding author. E-mail :** apiradee@buu.ac.th

Abstract

Diversity of fungi from soil and water in solar salterns of Chachoengsao Province during October, 2011 and July, 2012 was investigated. Forty-one taxa of anamorphic fungi were revealed. Twenty-three fungal genera were identified based upon morphological characteristics. High species diversity was found in the genera *Aspergillus, Penicillium* and *Cladosporium*, i.e. 5, 4, and 3 species, respectively. The most frequent fungi were *Cochilobolus* sp. / *Bipolaris* sp. (8.33), followed by *Cladosporium sphaerospermum*, *C. cladosporioides*, *Moniliella* sp. and *Nigrospora sphaerica* (each represented 5.56%). Sorensen's index of similarity (S) between fungal communities in the samples collected in October, 2011, January, 2012 and April, 2012 ranged from 0.30 - 0.52. The highest total number of fungi was found in July, 2012 compared to those of other collection times. In contrast, the lowest similarity of fungal community was recorded in this month (S = 0.1-0.2).

Keywords :fungi, diversity, solar saltern, Chachoengsao Province

บทนำ

นาเกลือ (solar saltern land, marine salterns) เป็นระบบนิเวศทางทะเลประเภทหนึ่งที่มนุษย์สร้างขึ้น (man-made ecosystem) มีสภาพแวดล้อมที่แตกต่างจากระบบนิเวศอื่นๆ โดยมีปัจจัยสิ่งแวดล้อมหลายประการที่มีผลต่อการดำรงชีวิตของจุลินทรีย์รวมทั้งราที่อาศัยอยู่ในบริเวณนี้ ได้แก่ ความเค็ม ความเป็นกรด-เบส อุณหภูมิ ความเข้มแสง ปริมาณออกซิเจน และความเข้มข้นของสารอาหาร (Cantrell *et al.,* 2006; Nayak *et al.,* 2012) ความเค็มในนาเกลือมีค่าอยู่ในช่วง 3% ถึงมากกว่า 30% (Oren, 2002) ซึ่งสูงมากเมื่อเทียบกับความเค็มของน้ำทะเลปกติ จึงถูกจัดเป็นสภาพแวดล้อมสุดขีด (extreme environment) แบบ hypersaline และ thallassohaline (Oren, 2002; Ventosa & Arahal, 2009) น้ำในนาเกลือมีความเป็นกรด-เบส อยู่ในช่วงกลางถึงเป็นเบสเล็กน้อย (Oren, 2002) ส่วนปัจจัยทางชีวภาพที่มีอิทธิพลโดยตรงคืออินทรีย์สารและสารอาหารโดยเฉพาะอย่างยิ่งไนโตรเจนและฟอสฟอรัส (Gunde-Cemerman *et al.,* 2009)

ความหลากหลายของราในนาเกลือรวมถึงระบบนิเวศที่มีความเค็มสูงอื่นๆ เช่น Dead Sea อาจมีน้อยกว่าบริเวณอื่นๆ แต่สามารถพบรากลุ่มที่ชอบเค็ม (halophile) และทนเค็ม (halotolerant) ได้ เนื่องจากราในบริเวณนี้มีการปรับตัวทางสรีรวิทยา (Oren, 2002) ราชอบเค็มชนิดแรกที่มีรายงานจาก Dead Sea คือ *Gymnascella marismortui* (Buchalo *et al.,* 1998) ปัจจุบันการศึกษาความหลากหลายของราในบริเวณนาเกลือที่มีค่าความเค็มสูงมากๆ นี้ยังนับว่าน้อยมากเมื่อเทียบกับรากลุ่มอื่นๆ และการศึกษาราในนาเกลือในประเทศไทยยังมีน้อยมาก (Ali *et al.,* 2012) โดยมีรายงานการพบรานาเกลือจากประเทศต่างๆ ครั้งแรกไม่ถึง 20 ปีที่ผ่านมา (Gunde-Cemerman *et al.,* 2009) ราทนเค็มชนิดเด่นในนาเกลือที่มีรายงาน ได้แก่ *Cladosporium cladosporioides, Aspergillus, Penicillium* (Cantrell *et al.,* 2006; Cantrell & Baez- Félix, 2010) ในประเทศไทย Ali *et al.* (2012) รายงานการจัดจำแนกราในนาเกลือจังหวัดเพชรบุรีทางสัณฐานวิทยาและอณูพันธุศาสตร์ไว้ ในจำนวนนี้รา 4 สปีชีส์ (6 สายพันธุ์) เป็นราชอบเค็ม ปัจจุบันราชอบเค็มกำลังเป็นที่สนใจมากขึ้นเนื่องจากสามารถผลิตสารโพลีเมอร์ชีวภาพและ สารก่อฤทธิ์ชีวภาพต่างๆ เช่น

beta - carotene, ectoine, biosurfactats, exopolysaccharides, compatible solutes รวมถึงเอนไซม์อาทิเช่น amylase, cellulase, lipase ที่ทำงานได้ในที่มีความเค็ม (Margesin & Schinner, 2001; Ali *et al.,* 2014)

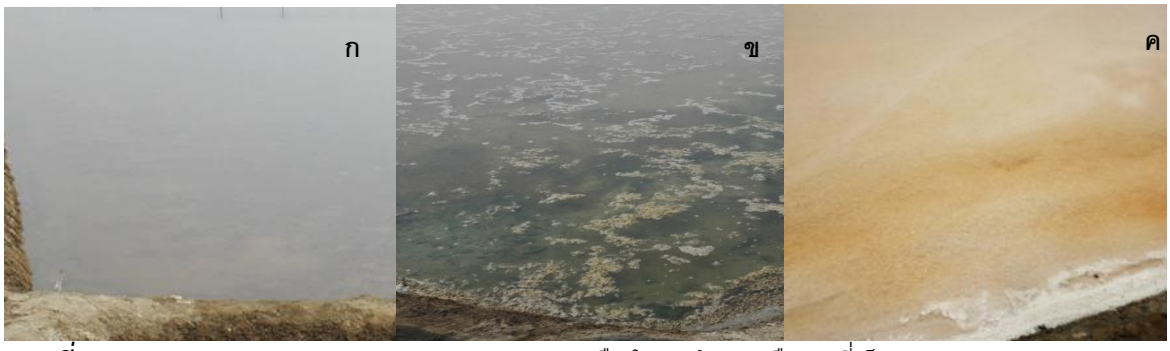
ประเทศไทยมีพื้นที่ทำนาเกลือทั้งหมดประมาณ 81,485 ไร่ โดยจังหวัดเพชรบุรีมีพื้นที่มากที่สุด ร้อยละ 47.0 รองลงมาคือจังหวัดสมุทรสาคร (ร้อยละ 43.1) จังหวัดสมุทรสงคราม (ร้อยละ 7.7) นาเกลือในภาคตะวันออก มีพื้นที่ผลิตเกลือที่ผลิตเกลือได้ประมาณร้อยละ 10 ของผลผลิตเกลือทั้งประเทศ โดยจังหวัดฉะเชิงเทรามีพื้นที่ที่มีการผลิตเกลือเพียงร้อยละ 0.4 (Marine Knowledge Hub, 2010) เนื่องจากรานาเกลือเป็นรากลุ่มหนึ่งที่อาจมีศักยภาพในการใช้ประโยชน์เชิงพาณิชย์ งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความหลากหลายทางชีวภาพของรานาเกลือในจังหวัดฉะเชิงเทรา เพื่อใช้เป็นฐานข้อมูลด้านความหลากหลายทางชีวภาพพร้อมแหล่งที่อยู่ตามธรรมชาติ และเพื่อการวางแผนเพื่ออนุรักษ์รานาเกลือต่อไป

วิธีดำเนินการวิจัย

แหล่งเก็บตัวอย่างและรายละเอียดของแหล่งที่เก็บตัวอย่าง

ทำการเก็บตัวอย่างดินและน้ำจากนาเกลือ ตำบลท่าข้าม อำเภอบางปะกง จังหวัดฉะเชิงเทรา (13°30'8"N 100°59'24"E) ในฤดูฝนและฤดูแล้ง รวมทั้งหมด 4 ครั้งคือเดือนตุลาคม พ.ศ. 2554 เดือนมกราคม พ.ศ. 2555 เดือนเมษายน พ.ศ. 2555 และเดือนกรกฎาคม พ.ศ. 2555 โดยที่เดือนตุลาคม พ.ศ. 2554 และเดือนกรกฎาคม พ.ศ. 2555 เป็นตัวแทนของฤดูฝน ซึ่งไม่ใช่ฤดูทำนาเกลือ น้ำในนาเกลือทุกแปลงมีลักษณะทางกายภาพที่ไม่แตกต่างกัน ส่วนอีก 2 ครั้ง ทำการเก็บตัวอย่างเดือนมกราคม พ.ศ. 2555 และเดือนเมษายน พ.ศ. 2555 ซึ่งเป็นฤดูแล้งเป็นช่วงต้นและช่วงท้ายฤดูทำนาเกลือ เลือกเก็บตัวอย่างจากแปลงนาเกลือมีลักษณะทางกายภาพที่แตกต่างกันอย่างชัดเจน ได้แก่ สีของน้ำ ความขุ่น และตะกอนแขวนลอยในนาเกลือ (ภาพที่ 1) แปลงที่เลือกเก็บตัวอย่างในแต่ละครั้งมีจำนวน 3 แปลงๆ ละ 3 ซ้ำ โดยเก็บตัวอย่างบริเวณขอบแปลง พร้อมกับวัดความเป็นกรด - เบส และอุณหภูมิของน้ำในแปลงที่เก็บตัวอย่าง

การเก็บตัวอย่างดิน ใช้ท่อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 เซนติเมตร เก็บดินตั้งแต่ระดับผิวหน้าดินจนถึงความลึก 15 เซนติเมตร ส่วนตัวอย่างน้ำเก็บโดยใช้ขวดเก็บตัวอย่างปริมาตร 500 มิลลิลิตร เก็บน้ำที่ระดับความลึกจากผิวน้ำ 5 เซนติเมตร เก็บตัวอย่างดินและน้ำใส่ถุงพลาสติกแช่ในน้ำแข็ง นำกลับห้องปฏิบัติการเพื่อทำการศึกษาความหลากหลายของรา และวัดค่าความเค็มโดยนำตัวอย่างมาทำการเจือจางก่อนวัดด้วย salinometer (Atago, Japan)



ภาพที่ 1 ลักษณะทางกายภาพ 3 ลักษณะ ของแปลงนาเกลือ ในฤดูทำนาเกลือช่วงที่เก็บตัวอย่าง
ก: น้ำลักษณะใสเป็นปกติ, ข: น้ำมีสีเข้มขึ้น มีตะกอนแขวนลอยหยาบๆ สีน้ำตาลอมส้มในน้ำ ส่วนใหญ่อยู่บริเวณขอบบ่อ, ค: น้ำในแปลงเริ่มงวด เปลี่ยนเป็นสีส้ม เห็นผลึกเกลือสีขาวที่ด้านล่าง

การแยกเชื้อราจากตัวอย่างดิน

นำตัวอย่างดินมาเจือจางด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อด้วยเทคนิค tenfold dilution (Gunasekaran, 1995) จนได้สารละลายดินที่ระดับการเจือจางที่เหมาะสม (10^{-1}-10^{-3}) ปิเปต soil suspension แต่ละระดับการเจือจาง 0.1 มิลลิลิตร เกลี่ยบนอาหาร potato dextrose agar (PDA) ที่ผสมน้ำทะเล (PDAsw) ความเค็ม 30 psu นำจานเลี้ยงเชื้อไปบ่มที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 - 7 วัน (3 ซ้ำ) สังเกตการเจริญลักษณะของโคโลนีรา เมื่อสังเกตเห็นเส้นใยราชัดเจน นับจำนวนโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ แยกราโดยเลือกเฉพาะโคโลนีเดี่ยวที่มีลักษณะแตกต่างกัน ถ่ายลงในอาหารใหม่ เก็บเป็นเชื้อบริสุทธิ์ไว้จัดจำแนกต่อไป

การแยกเชื้อราจากตัวอย่างน้ำ

ใช้ปั๊มสูญญากาศดูดตัวอย่างน้ำปริมาตร 100 มิลลิลิตร ผ่านกระดาษกรองปลอดเชื้อ Millipore HA-type (Millipore, USA) ขนาดช่องตา 0.45 µm เส้นผ่านศูนย์กลาง 47 มิลลิเมตร วางกระดาษกรองลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDAsw ความเค็ม 30 psu โดยวางด้านที่มีเชื้อขึ้น นำจานเลี้ยงเชื้อไปบ่มที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3-7 วัน (3 ซ้ำ) สังเกตการเจริญ ลักษณะของโคโลนี เมื่อสังเกตเห็นเส้นใยราชัดเจน นับจำนวนโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ เลือกโคโลนีเดี่ยวที่มีลักษณะแตกต่างกันเก็บไว้เป็นเชื้อบริสุทธิ์

การจำแนกราทางสัณฐานวิทยา

ศึกษาลักษณะโคโลนีด้านบน และลักษณะด้านล่างโคโลนี อัตราการเจริญ ความสามารถในการสร้างสปอร์และฟรุตบอดี บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDAsw ความเค็ม 30 psu ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo (Zeiss STEMI SV6, Germany) และ แบบ compound (Olympus CH30, Japan) รวมถึงศึกษาโครงสร้างของราที่เลี้ยงด้วยเทคนิคการเพาะเชื้อบนสไลด์ (Booth, 1971) บันทึกลักษณะการเจริญ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนี อัตราการเจริญ และถ่ายภาพลักษณะของโคโลนี รวมทั้งสปอร์และโครงสร้างสืบพันธุ์ที่พบ นำไปเป็นข้อมูลของราเพื่อใช้ในการจำแนก การจำแนกชนิดของราตัวอย่าง อ้างอิงคู่มือการจัดจำแนกของ Samson *et al*. (2004) และ Barnett and Hunter (2006) เป็นหลัก

การคำนวณค่าความถี่ของการพบราทะเลแต่ละชนิด

ร้อยละของความถี่ของการพบราทะเลแต่ละชนิด คำนวณได้จากสูตร (จำนวนตัวอย่างที่พบราชนิดนั้น / จำนวนตัวอย่างทั้งหมด) x 100 (Maria and Sridhar, 2003)

แบ่งความถี่ของการพบราออกเป็น 4 ระดับ โดยใช้เกณฑ์ดังนี้ ความถี่การพบตั้งแต่ 7.50% จัดว่าพบบ่อยมาก ความถี่การพบตั้งแต่ 5.50% จัดว่าพบบ่อย ความถี่การพบตั้งแต่ 3.50% จัดว่าพบได้ปานกลาง ความถี่การพบตั้งแต่ 1.50% จัดว่าพบได้น้อย พบน้อยกว่า 1.50% จัดว่าหายาก

การศึกษาความคล้ายคลึงของประชาคมราทะเล

ความคล้ายคลึงของประชาคมราทะเลคำนวณได้จากดัชนีความคล้ายคลึง (Sorensen's index of similarity, S) (Sorensen, 1948) จากสูตร

$$S = 2c / (a+b)$$

โดย a คือจำนวนแทกซาของราที่พบเฉพาะในตัวอย่างของเดือนที่ 1

b คือจำนวนแทกซาของราที่พบเฉพาะในตัวอย่างของเดือนที่ 2

c คือจำนวนแทกซาของราที่พบในตัวอย่างที่เก็บทั้งสองเดือน

ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

คุณสมบัติทางกายภาพและเคมีของแหล่งเก็บตัวอย่าง

ความเค็มของตัวอย่างน้ำแต่ละแปลงที่เก็บตัวอย่างในแต่ละช่วงเวลามีค่าแตกต่างกัน แต่มีแนวโน้มไปในทิศทางเดียวกัน (ตารางที่ 1) ความเค็มเฉลี่ยที่วัดได้ตลอดการศึกษามีค่าอยู่ในช่วง 110-383 psu โดยในฤดูฝน (เดือนกรกฎาคม พ.ศ. 2555 และตุลาคม พ.ศ. 2554) มีความเค็มเฉลี่ยอยู่ในช่วง 110-263 psu ซึ่งต่ำกว่าฤดูแล้ง (เดือนมกราคม พ.ศ. 2555 ถึงเดือนเมษายน พ.ศ. 2555) ที่เป็นช่วงต้นและช่วงท้ายฤดูทำนาเกลือ ในฤดูแล้งน้ำมีค่าความเค็มอยู่ในช่วง 267-283 psu ตัวอย่างดินมีความเค็มเฉลี่ยตลอดปีอยู่ในช่วง 140-350 psu โดยฤดูฝนและฤดูแล้งมีค่าเฉลี่ยในช่วง 140-250 psu และ 260-350 psu ตามลำดับ พบว่าความเค็มที่วัดได้จากการศึกษานี้มีค่าน้อยกว่านาเกลือประเทศเปอโตริโกที่มีค่าระหว่าง 250-600 psu (Cantrell *et al.*, 2006)

ความเป็นกรด-เบสเฉลี่ยของน้ำในนาเกลือมีค่าเป็นด่างเล็กน้อยเช่นเดียวกับน้ำทะเลทั่วไป และค่าเฉลี่ยตลอดปีนับว่าไม่แตกต่างกัน โดยในฤดูแล้งอยู่ในช่วง 7.4-7.6 ฤดูฝนอยู่ในช่วง 7.4-7.7 อุณหภูมิเฉลี่ยของน้ำที่วัดได้แต่ละครั้งตลอดปีใกล้เคียงกัน คือ 38°C - 40 °C

การวิเคราะห์ปริมาณราทั้งหมดในตัวอย่างดินและตัวอย่างน้ำ

ราจากตัวอย่างดินและตัวอย่างน้ำพบในปริมาณที่ต่ำ โดยมีความแตกต่างกันในแต่ละแปลง ราส่วนใหญ่อาศัยอยู่ในดิน จากการศึกษาสามารถประมาณการปริมาณราที่พบแตกต่างกันในดินจังหวัดฉะเชิงเทรา ในช่วงเดือนตุลาคม พ.ศ. 2554–กรกฎาคม พ.ศ. 2555 ระหว่าง 1.5-3.0 cfu/g ปริมาณราในน้ำตัวอย่างในช่วงเดียวกัน ระหว่าง 0.05-0.85 cfu/ml ปริมาณราในดินและน้ำในนาเกลือ รวมถึงบริเวณที่เค็มจัดอื่นๆ เช่น Dead Sea ยังไม่มีผู้ศึกษาและรายงานไว้ แต่เมื่อเทียบปริมาณราในดินนาเกลือกับราในแหล่งที่มีผู้ศึกษา พบว่ามีปริมาณน้อยมากเมื่อเทียบกับราประมาณ 2.5 x10^5-8.0x10^5cfu/g ในดินจากแหล่งธรรมชาติที่สมบูรณ์ ที่มีรายงานก่อนหน้านี้ (Vieira & Nahas, 2005; Parveen *et al*., 2011) เนื่องจากนาเกลือถูกจัดเป็นพื้นที่แบบสุดขีดที่มีข้อจำกัดหลายด้าน จึงมีราบางกลุ่มเท่านั้นที่มีความสามารถสูงในการปรับตัวให้อาศัยอยู่ได้ (Cantrell & Duval- Pérez, 2012) การที่ตัวอย่างจากเดือนกรกฎาคม พ.ศ. 2555 พบปริมาณราสูงสุดในน้ำแต่มีปริมาณราในดินต่ำสุด (ตารางที่ 2) อาจเนื่องจากเป็นฤดูฝนมีฝนตกชุกในช่วงเวลาก่อนเก็บตัวอย่างดินจึงค่อนข้างอ่อนนุ่ม ราในนาเกลือที่อาศัยอยู่ในดินบางส่วนจึงถูกน้ำชะออกมาอยู่ในน้ำ ในทำนองเดียวกันการที่พบปริมาณราในน้ำมากในช่วงนี้ น่าจะเกิดจากการเจริญของราในดินนาเกลือที่ถูกน้ำชะพาขึ้นมา ประกอบกับน้ำมีความเค็มต่ำเอื้อต่อการเจริญและอาศัยของราชนิดต่างๆ มากขึ้น ซึ่งรวมถึงราบกที่ถูกน้ำชะลงสู่แหล่งน้ำในนาเกลือในช่วงฤดูกาลนี้

ความหลากหลายของราในนาเกลือ

จากการแยกราที่มีลักษณะแตกต่างกันทั้งหมดที่พบ มาเลี้ยงเป็นเชื้อบริสุทธิ์และเก็บรักษาที่ ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา พบราทั้งหมดจำนวน 41 แทกซา ราที่แยกได้เป็นราที่สามารถจัดจำแนกเบื้องต้นทางสัณฐานวิทยาได้จำนวน 23 จีนัส รา 2 สายพันธุ์ เป็นราในชั้น coelomycete รา 8 แทกซาไม่สามารถจัดจำแนกได้เนื่องจากพบแต่เส้นใยราไม่พบโครงสร้างอื่น (sterile) ส่วนอีก 8 แทกซา ยังไม่สามารถจำแนกได้ในขณะนี้ บางส่วนเป็นราที่เห็นโครงสร้างสืบพันธุ์ไม่สมบูรณ์ (unidentified and incomplete) (ตารางที่ 3) อย่างไรก็ตามจำนวนแทกซาของราที่พบจากการศึกษานี้ใกล้เคียงกับรา 43 แทกซา ที่ Cantrell & Duval – Pérez (2012) รายงานจาก microbial mats ในนาเกลือฤดูน้ำมาก ประเทศเปอโตริโก และใกล้เคียงกับ 38 แทกซาจาก Dead Sea ประเทศอิสราเอล (Kis-Papo *et al.,* 2001)

ราที่จัดจำแนกได้เป็นรากลุ่มอะนามอร์พทั้งหมด จีนัสที่พบสมาชิกหลากหลายที่สุดคือ *Aspergillus*, *Penicillium* และ *Cladosporium* (5 4 และ 3 สปีชี ตามลำดับ) *Aspergillus* spp. และ *Penicillium* spp. เป็นราที่มีรายงานการพบมากในนาเกลือและพื้นที่ที่มีความเค็มจัด จากหลายภูมิภาคทั่วโลก (Kis-Papo *et al.,* 2001; Cantrell *et al.,* 2006, 2011; Cantrell & Duval-Pérez, 2012) ซึ่งนอกจากจะแสดงให้เห็นว่าน่าจะเป็นเชื้อประจำถิ่นแล้ว ยังแสดงให้เห็นว่าราในจีนัสเหล่านี้น่าจะมีกลไกที่สามารถปรับตัวให้ทนต่อสภาวะต่างๆ รวมถึงสภาวะความเค็มที่รุนแรงได้ดี จึงพบได้ทั่วไป และจากการจัดจำแนกเบื้องต้นทางสัณฐานวิทยา พบว่าสปีชีส์ของราที่พบในงานวิจัยนี้คล้ายคลึงกับที่มีรายงานไว้แล้ว โดยเฉพาะอย่างยิ่ง *Cladosporium* spp. (Cantrell *et al.,* 2006, 2011; Cantrell & Duval-Pérez, 2012)

ราที่พบได้บ่อยมากและพบได้บ่อย (most frequent and frequent) แสดงให้เห็นว่าน่าจะเป็นเชื้อประจำถิ่น คือ *Cochilobolus* sp./ *Bipolaris* sp.(8.33%), *Cladosporium sphaerospermum*, *C. cladosporioides, Moniliella* sp. และ *Nigrospora sphaerica* (5.56%) ราที่พบบ่อยปานกลาง (4.17%) ได้แก่ *Acremonium* sp., *Fusarium oxysporum, Fusarium* sp.1, *Penicillium* sp. 1, *Penicillium* sp. 2 และ unidentified 1 การทบทวนวรรณกรรมเกี่ยวกับจีนัสต่างๆ ของราในตัวอย่างสิ่งแวดล้อมเค็มจัด (hypersaline) และเกี่ยวเนื่องกับจีนัสของราที่พบในการศึกษานี้พบว่า *Acremonium strictum* เป็นราที่มีรายงานการพบบ่อยจากการตรวจหาโดยตรงในตัวอย่าง microbial mat ด้วยวิธีทางอณูพันธุศาสตร์ และ *Cladosporium dominicanum* เป็นราที่มีรายงานการพบบ่อยสุดจากการแยกเชื้อจากตัวอย่าง microbial mat แถบคาลิเบียน (Cantrell & Duval-Pérez, 2012) *C. sphaerospermum* และ *C. cladosporioides* เป็นราที่มีรายงานในตัวอย่างน้ำที่มีความเค็มจัดทั้งจากเขตร้อนและเขตอบอุ่น (Cantrell *et al.,* 2006) อย่างไรก็ตาม การพบ *Cochilobolus* sp./ *Bipolaris* sp. ได้บ่อยยังไม่มีผู้ใดรายงานไว้ และอาจเป็นเชื้อประจำถิ่นที่จำเพาะ แต่ในการศึกษาเพียงเบื้องต้นนี้ทำให้ยังสรุปข้อสังเกตนี้ไม่ได้แน่ชัด

ตารางที่ 1 ค่าเฉลี่ยความเค็มและความเป็นกรด-เบส ของตัวอย่างดินและตัวอย่างน้ำจากนาเกลือ จังหวัดฉะเชิงเทรา

ตัวอย่าง/แปลง	ค่าเฉลี่ยความเค็มและความเป็นกรด-เบส ของตัวอย่างดินและตัวอย่างน้ำ							
	ตุลาคม พ.ศ. 2554		มกราคม พ.ศ. 2555		เมษายน พ.ศ. 2555		กรกฎาคม พ.ศ. 2555	
	ความเค็ม (psu)	ความเป็นกรด-เบส	ความเค็ม (psu)	ความเป็นกรด-เบส	ความเค็ม (psu)	ความเป็นกรด-เบส	ความเค็ม (psu)	ความเป็นกรด-เบส
ดิน								
แปลง 1	180	-	270	-	350	-	160	-
แปลง 2	200	-	260	-	320	-	145	-
แปลง 3	250	-	300	-	307	-	140	-
น้ำ								
แปลง 1	180	7.6	290	7.4	383	7.4	160	7.4
แปลง 2	197	7.7	267	7.4	370	7.6	140	7.5
แปลง 3	263	7.7	300	7.4	340	7.4	110	7.4

ตารางที่ 2 ประมาณการปริมาณรานาเกลือที่พบในตัวอย่างดินและน้ำ จังหวัดฉะเชิงเทรา

แปลง	ประมาณการปริมาณรานาเกลือ							
	ตัวอย่างดิน (cfu/g)				ตัวอย่างน้ำ (cfu/ml)			
	ตุลาคม พ.ศ. 2554	มกราคม พ.ศ. 2555	เมษายน พ.ศ. 2555	กรกฎาคม พ.ศ. 2555	ตุลาคม พ.ศ. 2554	มกราคม พ.ศ. 2555	เมษายน พ.ศ. 2555	กรกฎาคม พ.ศ. 2555
1	3.00	1.54	2.00	1.5	0.05	0.13	0.07	0.55
2	1.93	2.80	2.20	1.53	0.08	0.08	0.08	0.47
3	1.80	2.00	1.93	1.97	0.07	0.07	0.08	0.85

ตารางที่ 3 ความถี่ของราที่พบในตัวอย่างดินและตัวอย่างน้ำจากนาเกลือ จังหวัดฉะเชิงเทรา

ลำดับ	แทกซาของราที่พบ	จำนวนตัวอย่างที่พบ					ความถี่การพบ (%)
		ต.ค. พ.ศ. 2554	ม.ค. พ.ศ. 2555	เม.ย. พ.ศ. 2555	ก.ค. พ.ศ. 2555	รวม	
1	*Acremonium* sp.			2	1	3	4.17
2	*Aspergillus flavus*				2	2	2.78
3	*A. fumigatus*			1		1	1.39
4	*A. terreus*	1		1		2	2.78
5	*A. versicolor* like		1	1		2	2.78
6	*Aspergillus* sp.		2			2	2.78
7	*Bipolaris* sp./*Cochilobolus* sp.	3	2		1	6	8.33
8	*Cladosporium cladosporiodes*	1	2	1		4	5.56
9	*C.sphaerospermum*			1	3	4	5.56
10	*Cladosporium* sp.1	2				2	2.78
12	*Curvularia lunata*	2				2	2.78
13	*Curvularia* sp.1	1				1	1.39
14	*Curvularia* sp.2	1				1	1.39
15	*Fusarium oxysporum*			1	1	3	4.17
16	*Fusarium* sp.1	1	1	1		3	4.17
17	*Moniliella* sp.	2	1	1		4	5.56
18	*Nigrospora sphaerica*	1				4	5.56

ตารางที่ 3 ความถี่ของราที่พบในตัวอย่างดินและตัวอย่างน้ำจากนาเกลือ จังหวัดฉะเชิงเทรา (ต่อ)

ลำดับ	แทกซาของราที่พบ	จำนวนตัวอย่างที่พบ					ความถี่
		ต.ค. พ.ศ. 2554	ม.ค. พ.ศ. 2555	เม.ย. พ.ศ. 2555	ก.ค. พ.ศ. 2555	รวม	การพบ (%)
18	*Nigrospora sphaerica*	1				4	5.56
19	*Penicillium* sp.1		1	2		3	4.17
20	*Penicillium* sp. 2		2	2		4	5.56
21	*Penicillium* sp. 3			2		2	2.78
22	*Penicillium* sp. 4			1		1	1.39
23	*Pestalothia* sp.				1	1	1.39
24	Unidentified 1			2	1	3	4.17
25	Unidentified 2					1	1.39
26	Unidentified 3			2		2	2.78
27	Unidentified 4			1		1	1.39
28	Unidentified 5				1	1	1.39
29	Unidentified 6				2	2	2.78
30	Coelomycete 1	1				1	1.39
31	Coelomycete 2				1	1	1.39
32	Incomplete 1	1				1	1.39
33	Incomplete 2				1	1	1.39
34	Sterile mycelium 1	1				1	1.39
35	Sterile mycelium 2	1				1	1.39
36	Sterile mycelium 3		1	1		2	2.78
37	Sterile mycelium 4	2				2	2.78
38	Sterile mycelium 5	1				1	1.39
39	Sterile mycelium 6				2	2	2.78
40	Sterile mycelium 7				1	1	1.39
41	Sterile mycelium 8				1	1	1.39
	รวม	19	12	16	14	41	100
	Species richness (S)					41	
	Total number of samples					72	

ความชุกชุมและความคล้ายคลึงประชาคมประชากร

จากข้อมูลในตารางที่ 3 เมื่อพิจารณาจำนวนชนิด / แทกซาของรานาเกลือที่แยกได้ในช่วงเวลาต่างๆ กัน พบว่าไม่แตกต่างกัน ในแต่ละช่วงเวลาเก็บตัวอย่างพบราระหว่าง 12-19 แทกซา ค่า Sorensen's index of similarity ของประชาคมราในช่วงเวลาต่างๆ (ตารางที่ 4) แสดงให้เห็นว่าประชาคมราในเดือนกรกฎาคม มีความคล้ายคลึงน้อยกับประชาคมราที่เก็บจากตัวอย่างในเดือนอื่นๆ การที่พบปริมาณราในเดือนนี้มากกว่าเดือนอื่นๆ จึงน่าจะเป็นเพราะน้ำมีความเค็มต่ำเนื่องจากเป็นช่วงฝนตกชุก เอื้อต่อการเจริญและอาศัยของราชนิดต่างๆ มากขึ้น ซึ่งรวมถึงราบกที่ถูกน้ำชะลงสู่แหล่งน้ำในนาเกลือดังที่กล่าวมา

สรุปผลการวิจัย

การศึกษาความหลากหลายทางชีวภาพของราในนาเกลือ จังหวัดฉะเชิงเทรา พบราทั้งหมด 41 แทกซา โดยทั้งหมดเป็นรากลุ่มอะนามอร์พ จีนัสที่พบได้หลากหลายสปีชีย์คือ *Aspergillus, Penicillium* และ *Cladosporium* ราที่พบบ่อยสุดคือ *Cochilobolus* sp./ *Bipolaris* sp. ความถี่การพบ 8.83% ในแต่ละช่วงเวลาเก็บตัวอย่างพบราชุกชุมระหว่าง 12-19 แทกซา ประชาคมราที่พบในการเก็บตัวอย่างเดือนตุลาคม 2554 มกราคม 2555 และเมษายน 2555 มีความคล้ายคลึงกันระหว่าง 0.30-0.52 ปริมาณราที่พบในเดือนกรกฎาคมมีมากที่สุดแต่มีความคล้ายคลึงของประชาคมรากับประชาคมราในเดือนอื่นๆ น้อยที่สุด บ่งชี้ว่าส่วนใหญ่น่าจะไม่ใช่รานาเกลือที่แท้จริง

ตารางที่ 4 ดัชนีความคล้ายคลึงของประชาคมราที่พบในตัวอย่างดินและน้ำจังหวัดฉะเชิงเทราในช่วงเวลาต่างๆ กัน

เวลาเก็บตัวอย่าง	**ตุลาคม พ.ศ. 2554**	**มกราคม พ.ศ. 2555**	**เมษายน พ.ศ. 2555**	**กรกฎาคม พ.ศ. 2555**
ตุลาคม พ.ศ. 2554	1.0			
มกราคม พ.ศ. 2555	0.37	1.0		
เมษายน พ.ศ. 2555	0.52	0.30	1.0	
กรกฎาคม พ.ศ. 2555	0.10	0.10	0.20	1.0

กิตติกรรมประกาศ

การศึกษานี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากสำนักบริหารโครงการวิจัยในอุดมศึกษาและพัฒนามหาวิทยาลัยวิจัยแห่งชาติ สำนักงานคณะกรรมการอุดมศึกษา ปีงบประมาณ 2555 คณะผู้วิจัยขอขอบคุณมา ณ โอกาสนี้

เอกสารอ้างอิง

Ali, I., Kanhayuwa, L., Rachdawong, S., & Rakshit, S.K. (2012). Identification, phylogenetic analysis and characterization of obligate halophilic fungi isolated from a man - made solar saltern in Phetchaburi province, Thailand. *Annals of Microbiology, 63,* 887-895.

Ali, I., Siwarungson, N., Punnapayak, H., Lotrakul, P., Prasongsuk, S., Bankeeree, W., & Rakshit, S. K. (2014). Screening of potential biotechnological applications from obligate halophilic fungi, isolated from a man - made solar saltern located in Phetchaburi province, Thailand. *Pakistan Journal of Botany*, *46*, 983-988.

Barnett, H.L., & Hunter, B.B. (2006). Illustrate genera of imperfect fungi. New York: Macmillan Publishing Company.

Booth, C. (1971). Introduction to general methods. In C. Booth (Ed.), *Methods in Microbiology Volume IV.* Academic Press: London.

Buchalo, A.S., Nevo, E., Wasser, S.P., Oren, A., & Molitoris, H.P. (1998). Fungal life in extremely hypersaline water of the Dead Sea: First records. *Proceedings of the Royal Society of London*, *265,* 1461-1465.

Cantrell, S. A., & Baez-Félix, L. (2013). Fungal molecular diversity of a Puerto Rican subtropical hypersaline microbial mat. *Fungal Ecology, 3,* 402-405.

Cantrell, S. A., & Duval-Pérez, L. (2013). Microbial mats: an ecological niche for fungi. *Frontiers in Microbiology,* doi.org/10.3389/fmicb.2012.00424.

Cantrell, S.A., Marti´nez, L. C., & Molina, M. (2006). Characterization of fungi from hypersaline environments of solar salterns using morphological and molecular techniques. *Mycological Research*, *110,* 962–970.

Cantrell, S. A., Dianese, J. C., Fell, J., Gunde-Cimerman, N., & Zalar, P. (2011). Unusual fungal niches. *Mycologia*, *103*, 1161-1174.

Gunasekaran, P. (1995). *Laboratory manual in Microbiology*. New Delhi: New Age International Publishers.

Gunde-Cimerman, N., Ramos, J, & Plemenitaš A. (2009). Halotolerant and halophilic fungi. *Mycological Research, 113,* 1231-1241.

Kis-Papo, T., Grishkan, I., Oren, A., Wasser, S.P., & Nevo, E. (2001).Spatiotemporal diversity of filamentous fungi in the hypersaline Dead Sea. *Mycological Research, 105,* 749-756.

Margesin, R., & Schinner, F. (2001). Potential of halotolerant and halophilic microorganisms for Biotechnology. *Extremophiles, 5,* 73-83.

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

Marine Knowledge Hub. (2010). Retrieved December 8, 2015, from http://www.mkh.in.th/index.php/2010-03-22-18-05-14/2010-03-26-05-53-43?tmpl=compo...

Nayak, S. S., Gonsalves, V., & Nazareth, S. W. (2012). Isolation and salt tolerance of halophilic fungi from mangroves and solar salterns in Goa – India. *Indian Journal of Geo-Marine Science, 42*, 164-172.

Oren, A. (2002). Diversity of halophilic microorganisms: Environments, phylogeny, physiology, and applications. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology, 28*, 56-63.

Praveen, S., Lanjewar, S., Sharma, K., & Kutti, U. (2011). Isolation of fungi from the surface water of river. *Journal of Experimental Science, 2,* 58-59.

Samson, R.A., Hoekstra, E.S., & Frisvad, J.C. (2004). *Introduction to food and airborne fungi.* (7nd ed.),Utrecht: The Netherlands.

Shannon, C. E. (1948). A mathematical theory of communication. *The Bell System Technical Journal, 27*, 379–423 & 623–656.

Sorensen, T. (1948). A method of establishing groups of equal amplitude in plant sociology based on similarity of species and its application to analyses of the vegetation on Danish commons. *Biologiske Skrifter, 5,* 1-34.

Ventosa, A., & Arahal, D.R. (2009). Physico-chemical characteristics of hypersaline environments and their biodiversity.In C. Gerday, & N. Glansdorff.(Eds.), *Extremophiles Volume II.* (pp.247-262). Encyclopedia of life support systems.

Viera, F.C.S., & Nahas, E. (2005). Comparison of microbial numbers in soil by using various culture media and temperatures. *Microbiological Research*, *160,* 197-202.