

รายงานโครงการวิจัยฉบับสมบูรณ์

เรื่อง

การแยกสายพันธุ์จากตัวอย่างไลเคนที่รวบรวม
ได้จากป่าภูตีสวนทราย อำเภอนาแห้ว จังหวัดเลย

เสนอ

ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ

คณะผู้วิจัย

นายเอก แสงวิเชียร

นายพิบูลย์ มงคลสุข

นางสาวณัฐสุรางค์ หอมจันทร์

นางสาวกัณทริย์ บุญประกอบ

นางสาวจุฑามาส หงษาชาติ

นางสาวนาฏฤดี มีศิลป์

นางสาวฐิติพร ภูंपราง

นายขจรศักดิ์ วงศ์ชีวรัตน์

นางสาวนาลิน ภมรพล

นางสาววิไลรัตน์ ขำทิม

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยรามคำแหง

รายงานโครงการวิจัยฉบับสมบูรณ์

เรื่อง

การแยกสายพันธุ์จากตัวอย่างไลเคนที่รวบรวม
ได้จากป่าภูตืนสวนทราย อำเภอนาแห้ว จังหวัดเลย

เสนอ

ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ

คณะผู้วิจัย

นายเอก แสงวิเชียร
นายพิบูลย์ มงคลสุข
นางสาวณัฐสุรางค์ หอมจันทร์
นางสาวกัณฐิรีย์ บุญประกอบ
นางสาวจุฑามาส หงษาชาติ
นางสาวนาฏฤดี มีศิลป์
นางสาวฐิติพร ภู่ปราง
นายขจรศักดิ์ วงศ์ชีวรรณ์
นางสาวนาลิน ภมรพล
นางสาววิไลรัตน์ ขำทิม

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยรามคำแหง

PC 9 17.0.1.2

รายงานฉบับสมบูรณ์

ชื่อโครงการ	การแยกสายพันธุ์จากตัวอย่างไลเคนที่รวบรวมได้จากป่าภูตืนสวนทราย อำเภอนาแห้ว จังหวัดเลย
ชื่อหัวหน้าโครงการ	นายเอก แสงวิเชียร
ระยะเวลาตลอดโครงการ	1 ปี (เมษายน พศ. 2539 ถึง 2540)

ชื่อหัวหน้าโครงการ นายเอก แสงวิเชียร

ระยะเวลาตลอดโครงการ 1 ปี (เมษายน พศ. 2539 ถึง 2540)

คณะผู้วิจัย	นายเอก แสงวิเชียร	หัวหน้าโครงการ
	นายพิบูลย์ มงคลสุข	ผู้ร่วมวิจัย
	น.ส.ณัฐสรวงศ์ หอมจันทร์	ผู้ร่วมวิจัย
	น.ส.กัณห์รีย์ บุญประกอบ	ที่ปรึกษาโครงการ
	นส.จุฑามาส หงษาชาติ	ผู้ช่วยวิจัย
	นส.นาฏฤดี มีศิลป์	ผู้ช่วยวิจัย
	น.ส.จิตติพร ภู่ปราง	ผู้ช่วยวิจัย
	นายขจรศักดิ์ วงศ์ชีวรัตน์	ผู้ช่วยวิจัย
	น.ส.นาลิน ภมรพล	ผู้ช่วยวิจัย
	น.ส.วิไลรัตน์ ขำทิม	ผู้ช่วยวิจัย

บทคัดย่อ (Abstract)

การแยกสายพันธุ์ราจากตัวอย่างไลเคนที่รวบรวม ได้จากป่าภูตืนสวนทราย อำเภอนาแห้ว จังหวัดเลย

จากตัวอย่างไลเคนจำนวน 456 ตัวอย่างที่ได้รวบรวมจากป่าภูตืนสวนทราย อำเภอนาแห้ว จังหวัดเลย รวม 3 ครั้ง ระหว่างเดือนพฤศจิกายน 2538 ถึงเดือนธันวาคม 2539 ได้นำมาแยกด้วยวิธีการต่าง ๆ คือ spore discharging, spore oozing, medulla dissecting และ fruiting body crushing ได้ราทั้งสิ้น 393 ไอโซเลท การแยกจาก ascospore เป็นวิธีที่ดีที่สุดและเป็นเป้าหมายที่สำคัญในการแยกเพราะเป็นการลดการปนเปื้อนจากเชื้อราอื่น ๆ ที่อาจอาศัยอยู่ในไลเคน แต่ ascospore ที่แยกได้มีเปอร์เซ็นต์การงอกและการเติบโตที่ต่ำมากจึงต้องใช้วิธีการอื่นด้วย ในการแยกครั้งนี้มีไอโซเลทที่สามารถตรวจสอบสกุลได้แล้ว 24 ตัวอย่าง แต่ยังมีอีกจำนวนมากที่ไม่สามารถตรวจสอบสกุลได้

Three collections of lichens were made during November 1995 to December 1996 from Puteen Suan-sai Forest, Amphor Nahaew, Loei Province. Four hundred and fifty-six lichen samples from these collections were used to isolate fungal partner from lichens by various techniques; spore discharging, spore oozing, medulla dissecting and fruiting body crushing. There are three hundred and ninety three fungus isolated from these lichen samples. Ascospore is the target of this isolation because it is the best technique to get authentic of lichenized fungi by minimizing contamination with their lichenicolous fungi. However the isolated ascospores have very low rates of germination and growth. Therefore, other techniques were employed for fungal isolation. Twenty-four of fungus are identified to genus, but large number of fungus remain unidentified.

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	ก
สารบัญตาราง	ค
สารบัญรูป	ง
บทนำ	1
วิธีดำเนินการวิจัย	11
ผลการวิจัย	16
สรุปผลการวิจัย ปัญหาและแนวทางแก้ไข	23
เอกสารอ้างอิง	27
ภาคผนวก	30

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1 แสดงจำนวนของราที่ก่อให้เกิดไลเคนใน Subdivision ต่าง ๆ	3
ตารางที่ 2 แสดงสารบางชนิดที่รา (mycobiont) ในไลเคนสร้างขึ้นในการเลี้ยง(culture)	9
ตารางที่ 3 แสดงสาร secondary metabolites ที่ราชนิด mycobiont และ free-living สร้างขึ้น	10
ตารางที่ 4 แสดงชนิดพรรณไม้ที่ได้ทำการรวบรวมไลเคน	12
ตารางที่ 5 แสดงชนิดของไลเคนที่เก็บมาแยก	17
ตารางที่ 6 แสดงจำนวนไลเคนในการแยกด้วยวิธีต่าง ๆ	18
ตารางที่ 7 แสดงไอโซเลทราที่แยกด้วยวิธีต่าง ๆ	18
ตารางที่ 8 แสดงสกุลของราที่ได้ทำการตรวจสอบแล้ว	19
ตารางที่ 9 แสดงชื่อสกุลและชนิดของไลเคน ลักษณะของ ascospore และจำนวน ไอโซเลทราที่แยกได้ในการเก็บตัวอย่างครั้งที่ 1	33
ตารางที่ 10 แสดงชื่อสกุลและชนิดของไลเคน ลักษณะของ ascospore และจำนวน ไอโซเลทราที่แยกด้วยวิธีต่าง ๆจากการเก็บตัวอย่างครั้งที่ 2	41
ตารางที่ 11 แสดงชื่อสกุลและชนิดของไลเคน ลักษณะของ ascospore และจำนวน ไอโซเลทราที่แยกด้วยวิธีต่าง ๆจากการเก็บตัวอย่างครั้งที่ 3	47

สารบัญรูป

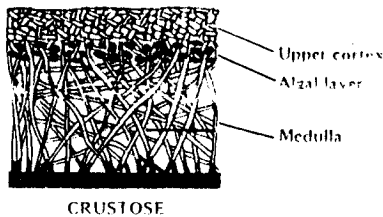
หน้า

รูปที่ 1	แสดงรูปแบบของอัสลัสไลเคนชนิดต่าง ๆ	1
รูปที่ 2	แสดง ascospore ชนิดต่าง ๆ ของราที่ก่อให้เกิดไลเคน	5
รูปที่ 3	แสดงส่วนของไลเคนที่มีการเจริญ	6
รูปที่ 4	แสดง pathway การสร้างสารบางชนิดของไลเคน	7
รูปที่ 5	แสดงโครงสร้างบางชนิดของสาร secondary metabolites ที่ร่าก่อให้เกิดไลเคนสร้าง	8
รูปที่ 6	แสดงวิธีการแยก ascospore ด้วยวิธี spore discharge	14
รูปที่ 7	แสดง ascospore จากตัวอย่างหมายเลข 3 (จากการเก็บตัวอย่างครั้งที่ 3) ขณะกำลังออก	20
รูปที่ 8	แสดง ascospore ที่ได้จากวิธี ooze spore วิธีที่ 2.7.6 จากตัวอย่างหมายเลข 36 (จากการเก็บตัวอย่างครั้งที่ 3)	20
รูปที่ 9	แสดง ascospore ที่ได้จากวิธี ooze spore วิธีที่ 2 จากตัวอย่างหมายเลข 83 (จากการเก็บตัวอย่างครั้งที่ 3)	21
รูปที่ 10	แสดง ascospore ที่ได้จากวิธี ooze spore วิธีที่ 2 จากตัวอย่างหมายเลข 97 (จากการเก็บตัวอย่างครั้งที่ 3)	21
รูปที่ 11	แสดง ascospore ที่ได้จากวิธี ooze spore โดยนำไปปล่อยบนอาหารเลี้ยงเชื้อ	22
รูปที่ 12	แสดงการเจริญของเชื้อ หมายเลข 40,45 Aบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และ OMA	22

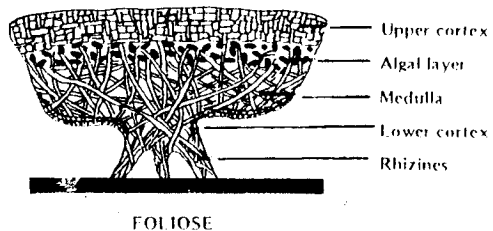
1. บทนำ

ไลเคนจัดเป็นสิ่งมีชีวิตที่เกิดจากการอยู่ร่วมกันแบบพึ่งพาอาศัยซึ่งกันและกัน (symbiosis) ของไมโคไบออนต์พาทเนอร์ (mycobiont partner) ได้แก่รา และโฟโตไบออนต์พาทเนอร์ (photobiont partner) ได้แก่ สาหร่าย (algae) หรือสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน (cyanobacteria) โดยมีรูปแบบการเจริญเติบโตแตกต่างกันไปจากราและสาหร่ายโดยสิ้นเชิง สาหร่ายมีคลอโรฟิลล์ทำหน้าที่สังเคราะห์อาหารสำเร็จจากสารอนินทรีย์ แล้วถูกนำไปใช้เพื่อการเจริญเติบโต ส่วนราทำหน้าที่ป้องกันอันตรายจากสิ่งแวดล้อมให้กับสาหร่าย เช่น ป้องกันอันตรายจากรังสีอัลตราไวโอเลตที่ได้รับจากดวงอาทิตย์และช่วยสะสมน้ำให้แก่สาหร่าย (Ahmadjian and Hale, 1973) ไลเคนมีรูปแบบการเจริญเติบโตเป็นธัลลัส (thallas) ชนิดต่าง ๆ คือ (รูปที่ 1)

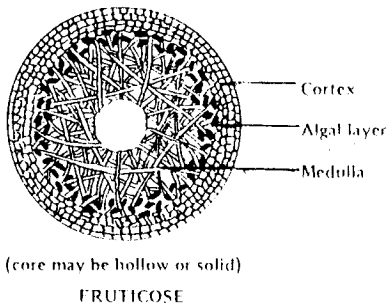
- 1) ครัสโตส (Crustose type) ธัลลัสมีลักษณะเป็นแผ่นบางแบนราบติดแน่นกับที่เกาะอาศัย
- 2) โฟลิโอส (Foliose type) ธัลลัสมีลักษณะเป็นแผ่นคล้ายใบไม้เกาะติดที่อยู่อาศัยด้วยเส้นใยพิเศษสามารถลอกออกได้ง่าย
- 3) ฟรุติโคส (Fruticose type) ธัลลัสมีลักษณะเป็นเส้นยาวและแตกกิ่งก้านได้อย่างอิสระ บริเวณฐานยึดเกาะกับที่อยู่อาศัยด้วยโครงสร้างเฉพาะ คือ โฮลด์ฟาสท์ (holdfast)
- 4) สแควมูโลส (Squamulose type) ธัลลัสที่มีลักษณะเป็นเส้นยาว ผสมกับการแตกกิ่งมีเกล็ดเล็ก ๆ



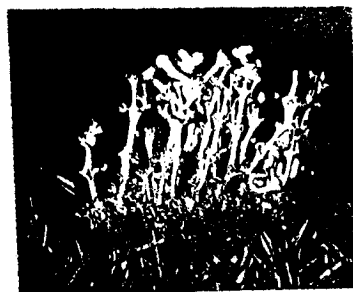
ก



ข



ค



ง

รูปที่ 1 แสดงภาคตัดตามขวางไลเคนชนิด ก) ครัสโตส ข) โฟลิโอส ค) ฟรุติโคส และ ง) รูปแบบของไลเคนชนิดสแควมูโลส

ไลเคนต่าง ๆ เหล่านี้พบได้ทั่วไป ทุกสภาพอากาศทั่วโลก ไลเคนสามารถเกาะทุกสิ่ง ไม่ว่าจะเป็นต้นไม้ ก้อนหิน ก้อนน้ำแข็ง โบราณสถาน ผนังคอนกรีต หรือแม้กระทั่งขวดแก้วที่เหลือใช้ (Elix, 1994) พบว่าความหลากหลายชนิดของไลเคน (species diversity) บนพื้นที่ ๆ มีสภาพอากาศรุนแรงจะมีมากกว่าในเขตที่มีสภาพอากาศปกติ เช่น เขตร้อนชื้น (Seaward, 1977) ไลเคนใช้วัตถุดิบที่จำเป็นต่อการดำรงชีวิต จากอากาศในสภาพของหมอก ฝน และ น้ำค้างเพื่อการสังเคราะห์แสงทั้งยังสังเคราะห์ สารจากธรรมชาติ (natural products) ที่ได้มีการตรวจสอบแล้วว่าพบสารสกัดได้จากไลเคนแล้วประมาณ 700 ชนิด (Huneck และ Yoshimura, 1996) ซึ่งเป็นสารที่ไม่พบในพืชชั้นสูงอื่นๆ สารดังกล่าวสามารถนำมาใช้ประโยชน์เป็นยารักษาโรคในรูปของ ปฏิชีวนะสาร และสารธรรมชาติที่ไลเคนสร้างขึ้นดังกล่าว ถูกนำมาใช้อย่างกว้างขวาง ทั้งในลักษณะเป็นส่วนประกอบของยาสมุนไพรของชาวจีนสารปฏิชีวนะที่ผลิตในเชิงพาณิชย์ (Culbertson, 1979; Hale, 1974) และสีธรรมชาติที่นำมาทำกระดาษลิตมัส ตลอดจนการย้อมผ้าขนสัตว์ของชนชาวพื้นเมืองในทวีปอเมริกา สำหรับประเทศทางทวีปยุโรป ไลเคนถูกใช้เป็นดัชนีทางชีวภาพ (bio-indicator) เพื่อตรวจสอบ (monitor) คุณภาพทางอากาศอย่างกว้างขวาง ถ้าอากาศดีก็จะพบไลเคนกลุ่มหนึ่ง ถ้าอากาศเลวก็จะพบไลเคนอีกกลุ่มหนึ่งและถ้าอากาศเลวมากก็ไม่พบไลเคน (Boonpragob et. al, 1989; Boonpragob and Nash 1990; Boonpragob and Nash 1991)

การศึกษาไลเคนในประเทศไทย เริ่มต้นโดย Vainio (1990) ชาวเดนมาร์กได้รวบรวมตัวอย่างไลเคนจากเกาะช้าง จังหวัดตราดในปี ค.ศ.1909 และได้ตรวจสอบชื่อทางวิทยาศาสตร์ พร้อมรายงานถึงชนิดของไลเคนที่พบว่าเป็นดิสโคไลเคน (Discolichens) 77 ชนิด พายรีโนไลเคน (Pyrenolichens) 16 ชนิดและไลเคนในกลุ่มฟังไจอิมเพอร์เฟกโต (Lichens Fungi Imperfecti) 28 ชนิด รวมเป็น 95 ชนิด ต่อมา Paulson, F.L.S. (1930) ได้มีโอกาสเข้ามารวบรวมไลเคนที่เกาะเต่า จังหวัดสุราษฎร์ธานี พร้อมกับตรวจรายชื่อวิทยาศาสตร์ได้ 30 ชนิด และ Isao Yoshimura (1978) ได้ตรวจสอบชื่อไลเคน ซึ่งเป็นตัวอย่างที่ Mr. E Warncke นักพฤกษศาสตร์ ชาวเดนมาร์กรวบรวมจากประเทศไทย ตอนเหนือ พบไลเคนจำนวน 27 ชนิด โดยตัวอย่างดังกล่าวเก็บรักษาไว้ในพิพิธภัณฑ์พืชที่ Botanisk Institute Arrhus Universitet และที่ Botanical Museum, The University of Copenhagen ในปี พ.ศ. 2535-2536 P.Wolesley และ Dr.B.Aquirre-Hudson ได้รับเงินทุนสนับสนุนจาก British Museum of Natural History ให้มาสำรวจ และรวบรวมไลเคนในประเทศไทย โดยมีพื้นที่ศึกษาที่ดอยสุเทพ-ปุย จังหวัดเชียงใหม่ และห้วยขาแข้ง จังหวัดอุทัยธานี ประเมินว่าพบไลเคนประมาณ 139 ชนิด (Wolesley, 1995) โดยสรุปแล้วประเทศไทยมีการศึกษาไลเคนกันน้อยมาก และการศึกษาที่ผ่านมาทั้งหมดกระทำโดยนักวิจัยชาวต่างประเทศ ข้อมูลรายละเอียดเกี่ยวกับตัวอย่าง ไลเคนที่ศึกษาจึงถูกเก็บไว้ในที่ต่าง ๆ กัน ทำให้ไม่สามารถนำตัวอย่างนั้นๆ มาศึกษาเปรียบเทียบให้ได้ข้อมูลพื้นฐานด้านอนุกรมวิธาน

ความหลากหลายของราในไลเคน (Diversity of fungi in lichen)

เนื่องจากไลเคนมีการเจริญเติบโตช้าและส่วนใหญ่ไม่สามารถทำการเพาะเลี้ยงได้ในห้องปฏิบัติการโดยใช้ถังหมัก (fermentor) หรือเพาะในเรือนเพาะชำ (greenhouse) แต่สามารถแยกรา (mycobiont) ที่อยู่ร่วมกันเป็นไลเคนมาทำการเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อในรูปของเชื้อบริสุทธิ์ (pure culture) ได้โดยไม่ต้องมี สาหร่าย (photobiont) อยู่ด้วย

การศึกษารามาจากไลเคนในปัจจุบันยังมีการศึกษาน้อยมากโดยเฉพาะประเทศไทยยังไม่เคยมีการศึกษามาก่อน ส่วนในประเทศอังกฤษ สหรัฐอเมริกา สวีเดน ญี่ปุ่น และเยอรมันนี้ได้มีการแยกราจากไลเคนเพื่อศึกษาอย่างกว้างขวางทางอนุกรมวิธาน (taxonomy) และสรีรวิทยา (physiology) (Crittenden, 1991) โดยมีเป้าหมายที่จะผลิตสารเคมีบางชนิด (novel metabolites) ที่ได้จากการเลี้ยงราดังกล่าวเพื่อประโยชน์ในเชิงพาณิชย์ เช่นการผลิต usnic acid เนื่องจากการสกัดสารจากธรรมชาติทำได้ยากและไม่สามารถทำได้ในระดับอุตสาหกรรม

ราที่พบในไลเคนนี้อาจแบ่งได้เป็นสองกลุ่มคือ ราที่ก่อให้เกิดไลเคน (lichenized fungi or lichen-forming fungi) กับราที่อยู่บนหรืออยู่ในไลเคน (lichenicolous fungi) ราที่ก่อให้เกิดไลเคนส่วนใหญ่เป็นราใน Subdivision Ascomycotina ซึ่ง Hawksworth (1995) ประมาณว่ามีจำนวน 13,250 sp. หรือคิดเป็น 46.25 % ของราในกลุ่ม Ascomycotina (เทียบเท่ากับ 21 % ของจำนวนราทั้งหมด) (ตารางที่ 1) ราใน Subdivision Ascomycotina นี้มี 13 วงศ์จาก 46 วงศ์ที่เป็นราที่ก่อให้เกิดไลเคนโดยตรงหรือรวมอยู่ด้วย (ภาคผนวกที่ 1) และ มี 4 วงศ์เฉพาะที่เป็นราที่ก่อให้เกิดไลเคนโดยตรง ส่วนราใน Subdivision Basidiomycotina และ Deuteromycotina (Mitosporic fungi) จะพบราที่ก่อให้เกิดไลเคนได้น้อย

ตารางที่ 1 แสดงจำนวนของราทั้งหมดและราที่ก่อให้เกิดไลเคนใน subdivisions ต่าง ๆ
(Crittenden, 1991)

Subdivisions	จำนวนชนิด (รวม)	จำนวนชนิดราที่ก่อให้เกิดไลเคน	คิดเป็น (%)
Ascomycotina	28,650	13,250	46.2
Basidiomycotina	16,000	50	0.3
Deuteromycotina	17,000	200	1.1
Mastigomycotina	1,170	1	0.0
Myxomycota	625	?2	?0.3
Zygomycotina	765	0	0
รวม	64,200	13,500	21

ราที่อยู่บนหรืออยู่ในไลเคน (lichenicolous fungi) เป็นราที่อยู่ในรูปปรสิต (parasite [obligate pathogen or gall forming]), กึ่งพึ่งพาอาศัย (commensals [parasymbiont]), หรือ แซปโรไฟท์ (saprophyte) ของไลเคน พบว่ามีประมาณ 300 สกุล 1,000 ชนิด จัดอยู่ใน Subdivision Ascomycotina, Basidiomycotina และ Deuteromycotina (mitosporic fungi) ราดังกล่าวจะพบได้น้อยบนไลเคนที่มีสารเดพไซด์ (depsides) หรือเดพไซด์อน (depsidones) แต่พวกที่เป็น non-obligate species แล้วจะพบทั้งราใน Subdivision Ascomycotina, Basidiomycotina และ Deuteromycotina ซึ่งราบางส่วนเหล่านี้ สามารถแย่งเอาสาหร่ายมาและสร้างเป็นอีลล์สใหม่ได้ (lichenicolous lichen) นอกจากนี้ lichenicolous fungi ยังมีผลต่อการสร้างสารเคมีของไลเคนหรือสร้างสารอื่นขึ้นมาด้วย (Hawksworth, 1995)

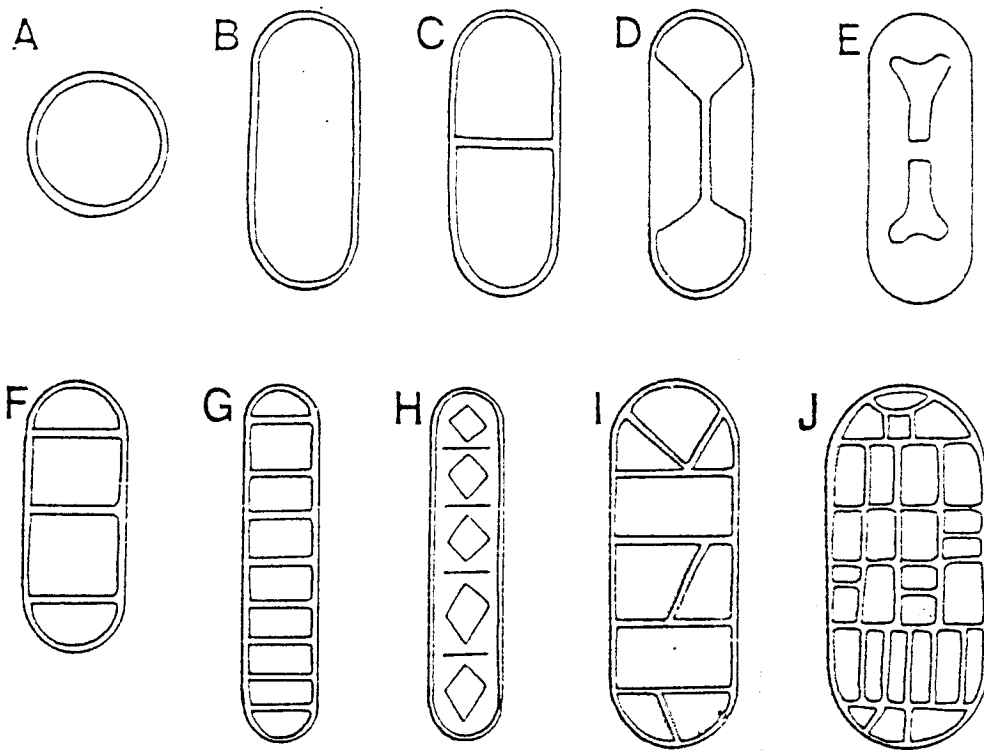
การแยกราจากไลเคน

เทคนิคที่ใช้ในการแยกและเลี้ยงราที่ก่อให้เกิดไลเคนเป็นเทคนิคเดียวกันกับการแยกเชื้อจุลินทรีย์ทั่วไป แต่ราที่ก่อให้เกิดไลเคนเจริญได้ช้ากว่าราจำพวก lichenicolous และปัญหาที่สำคัญอีกประการหนึ่งคือการปนเปื้อนของจุลินทรีย์อื่น โดยเฉพาะอย่างยิ่งราจำพวก saprophytes วิธีการแยกรากราออกจากไลเคน มีดังนี้

1. แยกโดยใช้ Ascospore

Ascospore คือสิ่งที่ราสร้างขึ้นเพื่อใช้ในการขยายพันธุ์ ascospore จึงเป็นที่มาของสายพันธุ์ที่บริสุทธิ์ของราและเป็นเป้าหมายที่สำคัญอันดับแรกในการแยกสายพันธุ์ของราจากไลเคน การแยก ascospore ของราจากไลเคนทำได้โดยให้ ascospore ตีตัว (eject หรือ discharge) ออกมาในสภาพที่แห้งหรือมีน้ำน้อย ซึ่งทำได้โดยติด ascocarp หรือ fruiting body บนฝาจานอาหารเลี้ยงเชื้อ แล้วรอให้ สปอร์ถูกตีตัวออกมา จากนั้นย้าย spore ที่ถูกปล่อยออกมาไปทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อราที่เหมาะสมต่อไป ตามปกติ ascospore จะงอกในเวลาที่แตกต่างกัน สปอร์ที่งอกเร็วใช้เวลาประมาณ 2-4 ชั่วโมง สปอร์บางชนิดอาจใช้เวลา 4-5 วัน อย่างไรก็ตามมีรายงานว่าสปอร์ของราที่ก่อให้เกิดไลเคนในวงศ์ Peltigerales สามารถงอก (germinate) ได้ แต่ไม่สามารถเจริญเติบโต (growth) ต่อไปได้เมื่อไม่มีคู่ของสาหร่ายในอาหารเลี้ยงเชื้อ (Stocker-Wörgötter, 1995)

ข้อจำกัดที่สำคัญของการแยกราจากตัวอย่างไลเคนโดยใช้ ascospore ก็คือ ascospore ประมาณ 50 % ไม่สามารถงอกได้ในการเพาะเลี้ยง และพบว่าสปอร์ของครัสโตสไลเคนมีเปอร์เซ็นต์การงอกที่สูงกว่า โพลีโอสและฟรุติโคสไลเคน อย่างไรก็ตาม ascospore หลายชนิดมีการงอกที่แตกต่างกันคือ งอกช้า, ไม่งอก หรืองอกแล้วไม่เจริญต่อเป็นเส้นใย ดังเช่น ในกรณีสปอร์ของ *Ramalina ecklonii* ใช้เวลานาน 5 สัปดาห์จึงจะงอก , สปอร์ของ *Cetraria ciliaris* ถูกทิ้งไว้ในอาหารเลี้ยงเชื้อ นานถึง 6 สัปดาห์จึงงอก ปัจจัยที่คาดว่าจะมีผลต่อการงอกของสปอร์คือ สาหร่าย (photobiont) และสาร สกัดจากเปลือกไม้ (bark extracts) (Ahmadejian, 1993)



รูปที่ 2 แสดง ascospore ชนิดต่างๆของราที่ก่อให้เกิดไลเคน

- A) Globose and simple (1-celled) B) Ellipsoid and simple (1-celled)
 C) 1-septate (2-celled) D) Polarilocular E) Mischoblastiomorph
 F) 3-septate (4-celled) G) 8-septate (9-celled) H) 4-distoseptate
 (Pyrenula type) I) Submuriform J) Muriform (Hawksworth, 1984)

2. แยกโดยใช้ Conidia

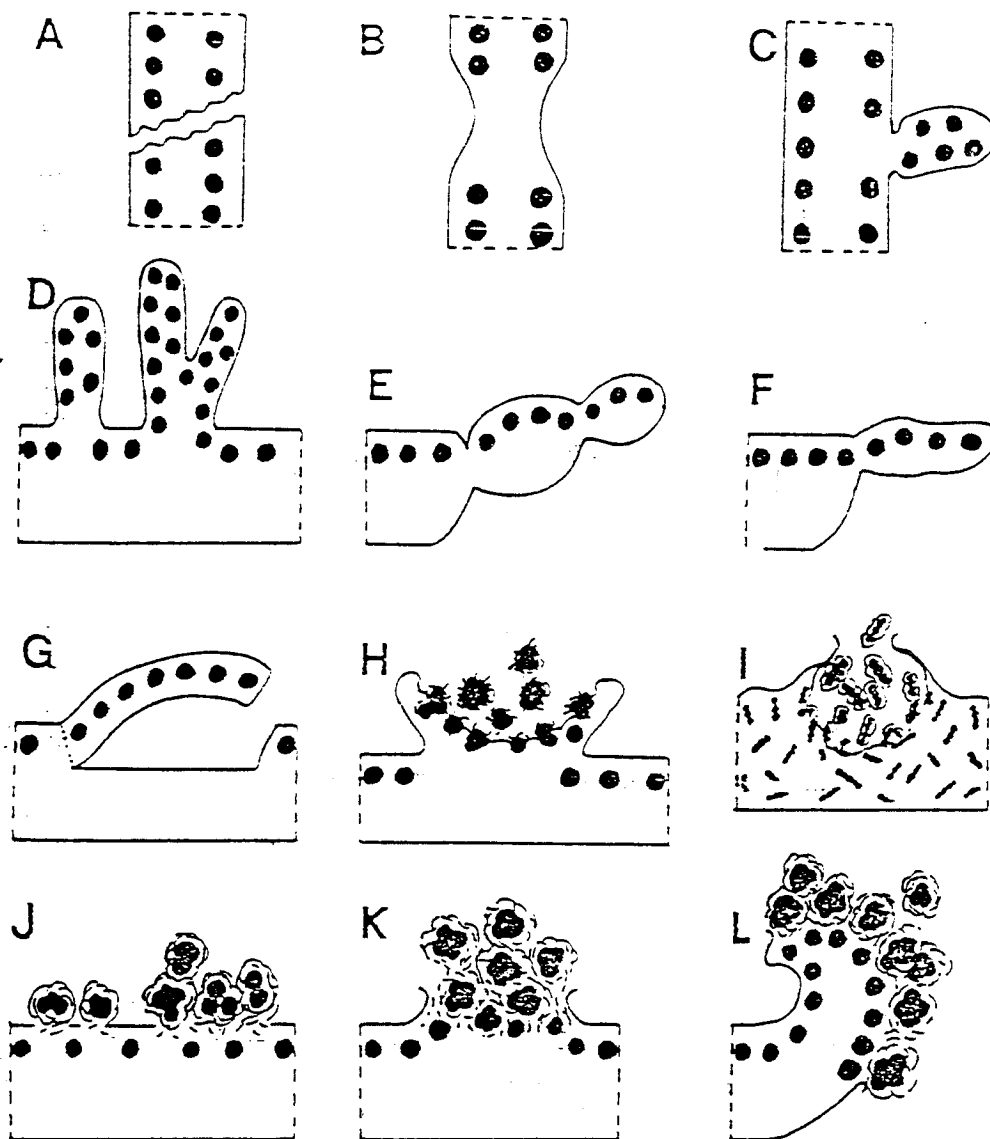
นอกจากการแยกโดยใช้ ascospore แล้ว พบว่าไลเคนในกลุ่ม *Calicium sp.*, *Lecanectis sp.* และ *Opegrapha sp.* สร้าง conidia หรือ pycnidiospore ด้วย (Vobis และ Hawksworth, 1981) conidia เหล่านี้สามารถงอกและเจริญเป็นเส้นใยได้

3. แยกจาก Soredia และ Isidia

สำหรับ soredia และ isidia (รูปที่ 3) ก็สามารถใช้ในการแยกได้เช่นกันแต่อัตราการปนเปื้อน (contamination) ด้วยเชื้อจุลินทรีย์อื่นจะสูงแต่ไอโซเลทราที่แยกด้วยวิธีนี้จะมีการเจริญเติบโตได้เร็วกว่าการแยกจาก ascospore

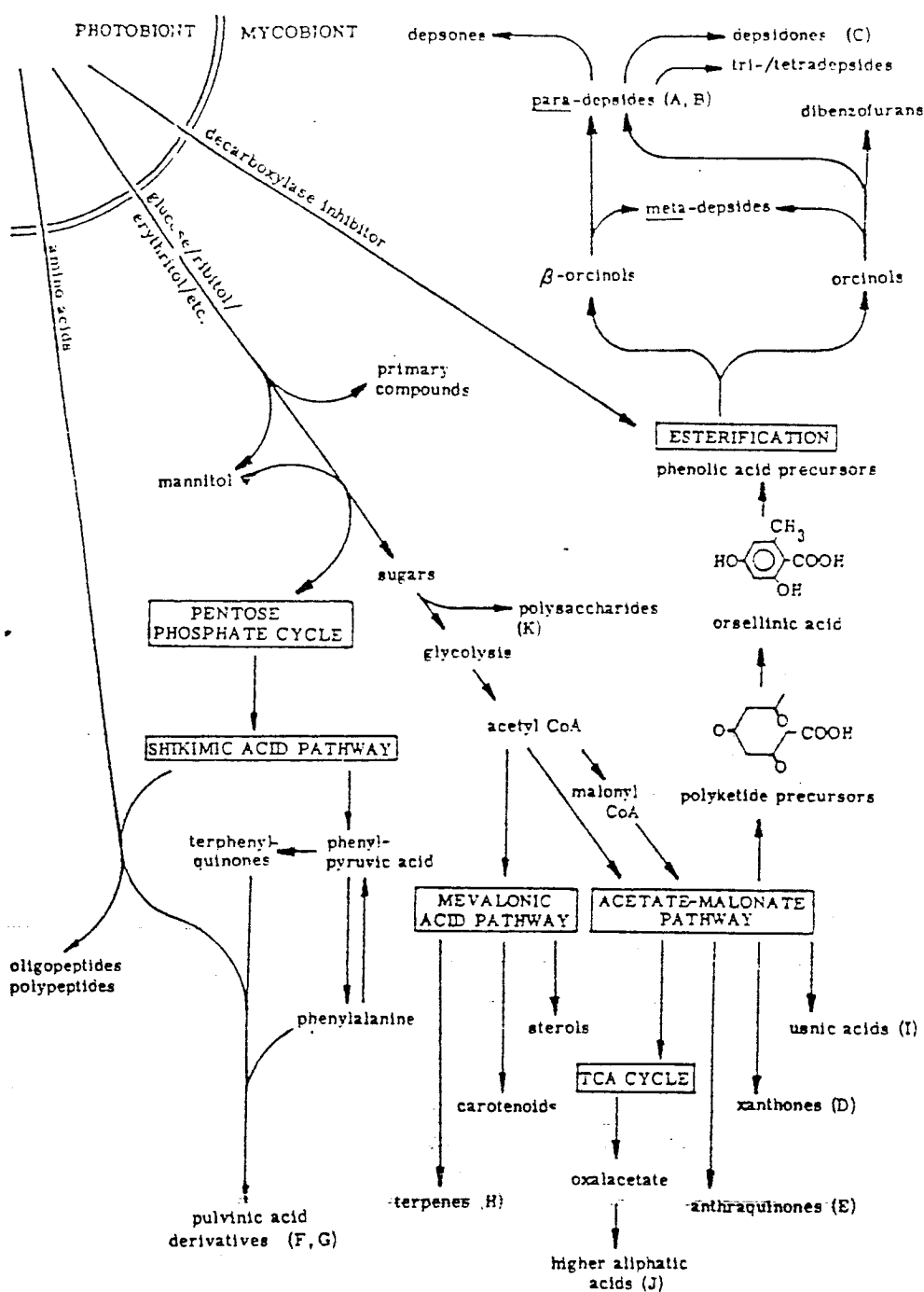
4. แยกโดยใช้ Medulla

การแยกราที่ก่อให้เกิดไลเคนด้วยวิธีดังกล่าวข้างต้นไม่สามารถทำได้วิธีที่จะใช้แยกราก็คือ แยกเส้นใยจากชั้นเมดูลา (medulla) ของอัลลิส (Ahmadjian และ Hale, 1973) วิธีนี้ทำโดย ตัดชั้นเมดูลาจากตัวอย่างที่สดมาเพาะเลี้ยงบน อาหารเลี้ยงเชื้อ การแยกด้วยวิธีนี้ถ้ามีราที่เป็นรา ที่อยู่ในไลเคน (lichenicolous fungi) ปนอยู่ในอัลลิสแล้ว การใช้กล้องจุลทรรศน์ตรวจสอบเส้น ใยราก็ไม่อาจแยกความแตกต่างของเซลล์ราทั้งสองชนิดออกจากกันได้ ทำให้ไอโซเลทราที่แยก มาได้นั้นมีทั้งราที่ก่อให้เกิดไลเคนและราที่อยู่ในไลเคน



รูปที่ 3 แสดงส่วนที่มีการเจริญของไลเคน

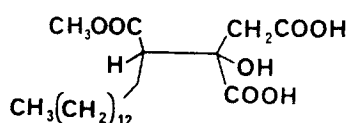
A) Thallus fragmentatoin B) Fragmentation region C) Lateral spinule D) Isidia
E) Blastidia F) Phyllidium G) Schizidium H) Goniocyst I) Homocyst J) Soredia
formed from erode surface K) Soredia formed in soralium L) Soredia formed from
recurved lower cortex (labriform) (Hawksworth, 1984)



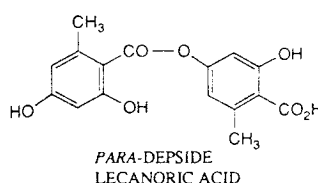
รูปที่ 4 แสดง pathway การสร้างสารบางชนิดของไลเคน
(Hawksworth, 1984)

สารทุติยภูมิจากไลเคน

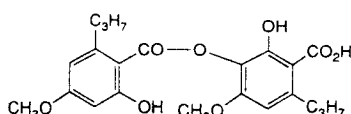
ประมาณว่ามีสารจากธรรมชาติ (natural products) มากกว่า 700 ชนิด ที่สร้างขึ้นมา โดยราที่ก่อให้เกิดไลเคนสร้างขึ้น (Huneck และ Yoshimura, 1996) ในจำนวนนี้ 350 ชนิดเป็น สารจำพวกสารทุติยภูมิ (secondary metabolites) ตัวอย่างที่สำคัญของสารเหล่านี้คือ aliphatic acid, *para*-depsides, *meta*-depsides, depsidones, benzyl esters, dibenzofurans, usnic acids, xanthenes, anthraquinones และ terpenoids ดังแสดงในรูปที่ 5



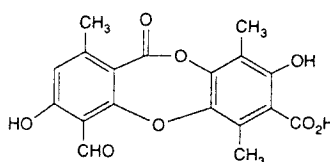
Aliphatic acids.



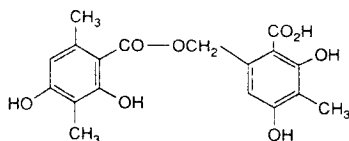
PARA-DEPSIDE
LECANORIC ACID



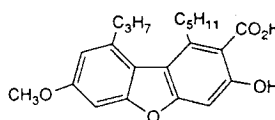
META-DEPSIDE
SEKIKAIIC ACID



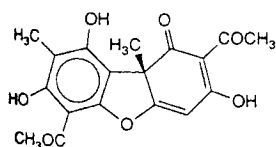
DEPSIDONE
VIRENSIC ACID



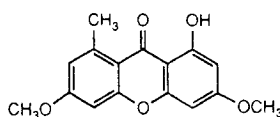
BENZYL ESTER
ALECTORIALIC ACID



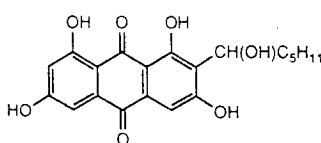
DIBENZOFURAN
DIDYMIC ACID



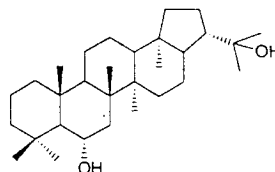
USNIC ACID



XANTHONE
LICHEXANTHONE



ANTHRAQUINONE
AVERYTHRIN



TRITERPENE
ZEORIN

รูปที่ 5 แสดงโครงสร้างบางชนิดของสาร secondary metabolites ที่ราก่อให้เกิดไลเคนสร้าง (Nash III, 1996)

สารทุติยภูมิ (secondary metabolites) จากไลเคนถูกสร้างขึ้นมาโดยราบางชนิดอาจมี photobiont หรือ lichenicolous fungi เข้ามาเกี่ยวข้องด้วย รูปแบบของการสร้างสารทุติยภูมิอาจแบ่งได้เป็น 3 แบบคือ

- 1) เกี่ยวข้องกับ photobiont ในไลเคนตามธรรมชาติ
- 2) เกี่ยวข้องกับ photobiont ในไลเคนที่สร้างขึ้นใหม่ในห้องปฏิบัติการ
- 3) ราสามารถสร้างได้เองไม่เกี่ยวข้องกับ photobiont

มีรายงานว่า ราจำพวก mycobiont ในสภาพของเชื้อบริสุทธิ์ (pure culture) สามารถสร้างสารบางชนิดเหล่านี้ได้ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 แสดงสารที่รา(mycobiont) สร้างขึ้นได้ในการเลี้ยง (culture) (Lawrey, 1984)

<i>Lichen Mycobiont</i>	<i>Substances Produced</i>	<i>Source</i>
<i>Candelariella vitellina</i>	Pulvinic acid, pulvinic dilactone, calycin, vulpinic acid	Thomas (1939); Mosbach (1969)
<i>Xanthoria</i> and <i>Caloplaca</i> spp.	Parietin, erythritol, emodin, teloschistin, fragilin, fallacinal, 2-chloroemodin	Thomas (1939); Tomaselli (1957); Piatelli & de Nicola (1968); Nakano et al. (1972)
<i>Cladonia macilenta</i> , <i>C. pyxidata</i> , <i>C. chlorophaea</i>	Orsellinic acid, haematomic acid	Hess (1959)
<i>Lecanora rupicola</i>	Roccellic acid, eugenitol, eugenitin, sordidone	Fox & Huneck (1969)
<i>Lecanora chlorotera</i>	Gangaleoidin	Santesson (1969)
<i>Cladonia cristatella</i>	Usnic acid, didymic acid, rhodocladonic acid	Castle & Kubsch (1949)
<i>Ramalina crassa</i> , <i>R. yasudae</i>	Usnic acid, salazinic acid	Komiya & Shibata (1969)
<i>Bombyliospora japonica</i> , <i>Anaptychia hypoleuca</i>	Zeorin	Ejiri & Shibata (1974); Shibata (1974)
<i>Cladonia crispa</i>	Squamatic acid	Ejiri & Shibata (1975)
<i>Acroscyphus sphaerophoroides</i>	Calycin, skyrin	Shibata (1974)
<i>Cladonia bellidiflora</i>	Bellidiflorin, skyrin	Shibata (1974)

ตารางที่ 3 แสดงสาร secondary compounds ที่ราชนิด mycobiont และ free-living สร้างขึ้น
(Ahmadjian, 1993)

Mycobiont and Natural Chemistry	Compounds Produced in Culture	References
<i>Aspergillus parasiticus</i> ^a	Norsolorinic acid	Lee et al. (1971)
<i>Aspergillus terreus</i> ^a	4-0-demethylbarbatic acid	Yamamoto et al. (1976)
<i>Aspergillus unguis</i> ^a	Unguinol (depsidone)	Stodola et al. (1972)
<i>Aspergillus versicolor</i> ^a	Norsolorinic acid	Hamasaki et al. (1967)
<i>Caloplaca ferruginea</i> , <i>Xanthoria calcicola</i> , <i>X. elegans</i> , <i>X. fallax</i> , <i>X. parietina</i>	Anthraquinones,	Piatelli and de Nicola (1968); Nakano et al. (1972); Renner and Gerstner (1978); Honegger and Kutasi (1990)
<i>Candelariella vitellina</i> (stictaurin)	Vulpinic acid	Mosbach (1969)
<i>Cladonia crispata</i> (squamatic acid)	Squamatic acid	Ejiri and Shibata (1975)
<i>Cladonia cristatella</i> (barbatic acid, didymic acid, usnic acid)	Didymic acid	Ahmadjian and Jacobs (1983)
<i>Cladonia grayi</i> (4-0-demethylsphaerophorin), grayanic acid, 4-0-demethylgrayanic acid)	Same as in natural lichen	Culberson and Armaleo (1992)
<i>Dimelaena oreina</i> (gyrophoric acid, usnic acid)	Gyrophoric acid	Ahmadjian and Culberson (unpublished)
<i>Lecanora chlorotera</i>	Gangaleodin	Santesson (1969)
<i>Lecanora dispersa</i> (2,7-dichlorolichexanthose)	Pannarin, dechloropannarin, argopsin	Leuckert et al. (1990)
<i>Lecanora rupicola</i> (atranorin, chloroatranorin, thiophanic acid, roccellic acid)	Roccellic acid	Fox and Huneck (1969)
<i>Pyricularia</i> ^a	Lecanoric acid	Umezawa et al. (1974)
<i>Ramalina crassa</i> , (atranorin, salazinic acid, usnic acid)	Usnic acid, salazinic acid	Komiya and Shibata, (1969); Kurokawa (1971)
<i>Ramalina pertusa</i>	Usnic acid	Hamada (1991)
<i>Ramalina siliquosa</i> ^b (atranorin, protocetraric acid, usnic acid)	4-0-demethylbarbatic acid, usnic acid	Hamada and Ueno (1987); Hamada (1989, 1991)
<i>Ramalina subbreviscula</i> (salazinic acid, divaricatic acid)	4-0-demethylbarbatic acid	Hamada (1988)
<i>Ramalina subcomplanata</i> (salazinic acid, sekikaic acid derivatives)	4-0-demethylbarbatic acid	Hamada (1988)
<i>Ramalina yasudae</i>	Usnic acid	Komiya and Shibata (1969)
<i>Stereocaulon curtatum</i> (atranorin, miriquidic acid)	Lecanoric acid	Hamada and Ueno (1990)
<i>Trypethelium eluteriae</i>	1,2-naphthoquinones	Mathey et al. (1980)
<i>Usnea flexilis</i> (salazinic acid, usnic acid, protocetraric acid)	Protocetraric acid, salazinic acid	Yoshimura et al. (1989)

2.วิธีการศึกษาวิจัย

2.1 สถานที่เก็บตัวอย่างไลเคน พื้นที่ทำการเก็บตัวอย่างไลเคนอยู่ ณ ป่าภูตืนสวนทราย อำเภอนาแห้ว จังหวัดเลย ตำแหน่งประมาณลองจิจูดที่ 101.5 องศาตะวันออก ละติจูดที่ 17.5 องศาเหนือ ความสูงเหนือระดับน้ำทะเล 540-1260 เมตร สภาพป่ามีลักษณะเป็นป่าดิบชื้น และป่าเต็งรัง ประกอบไปด้วยพรรณไม้ขนาดชนิดขึ้นที่ระดับความสูงแตกต่างกัน ความหลากหลายของไลเคนอาจมีความผันแปรตามลักษณะพรรณไม้ ระดับความสูงของพื้นที่ ชนิดของป่า และสภาพภูมิอากาศเป็นเกณฑ์ การเก็บไลเคน ทำโดยการรวบรวมไลเคนจากพื้นที่ป่ารอบ ๆ หมู่บ้านบ่อเหมืองน้อย หมู่บ้านห้วยน้ำฝัก เขตตรวจการที่ 1 และ 2

2.2 เวลาที่เก็บตัวอย่างไลเคน ทำการเก็บตัวอย่างไลเคนในช่วงฤดูต่างๆคือ ต้นฤดูฝน ปลายฤดูฝน และต้นฤดูหนาว

ครั้งที่ 1 เป็นการเก็บตัวอย่างปลายฤดูฝน กระทำในระหว่างวันที่ 4-10 พฤศจิกายน 2538

ครั้งที่ 2 เป็นการเก็บตัวอย่างต้นฤดูฝน กระทำในระหว่างวันที่ 8-12 พฤษภาคม 2539

ครั้งที่ 3 เป็นการเก็บตัวอย่างในฤดูหนาว กระทำในระหว่างวันที่ 15-20 ธันวาคม 2539

2.3 การเก็บตัวอย่างไลเคนจากพรรณไม้ ไลเคนที่เจริญเติบโตบนพรรณไม้แต่ละชนิดส่วนใหญ่ ขึ้นอาศัยอยู่บริเวณที่ได้รับแสงเต็มที่ ได้แก่กิ่งไม้ที่เรือนยอด (canopy) โดยพบไลเคนเกาะอยู่ที่ด้านบนของกิ่งไม้ซึ่งทอดขนานไปตามแนวนอนและตามลำต้นด้วย ทั้งนี้เนื่องจากไลเคนดำรงชีวิตด้วยการสร้างอาหารจากการสังเคราะห์แสง ดังนั้นด้านล่างของกิ่งจึงไม่พบไลเคนเจริญเติบโต เนื่องจากขาดแสงสว่างที่ใช้ในการปรุงอาหาร เมื่อสำรวจไลเคนด้วยตาเปล่าจากพื้นดินจึงไม่พบไลเคนมากเท่าที่ควร

การเก็บตัวอย่างไลเคนจากพรรณไม้แต่ละชนิดกระทำโดยตัดกิ่งไม้จากเรือนยอดลงมาต้นละ 3-5 กิ่ง ใช้น้ำฉีดบน อัลลัส (thallus) ของไลเคน พวก โฟลิโอส (foliose) ให้อ่อนตัวทำให้ไม่เปราะและหักง่าย จากนั้นก็ใช้มีดแกะและลอกออกจากเปลือกไม้ รวบรวมใส่ถุงกระดาษ แยกไว้เป็นกลุ่มๆ ส่วนไลเคนพวกครัสโตส (crustose) ซึ่งเกาะแน่นกับเปลือกไม้ใช้มีดตัดเปลือกไม้ที่มีไลเคนติดอยู่ออกมา เมื่อกลับถึงที่พัก จึงนำตัวอย่างไลเคนที่รวบรวมได้ ออกผึ่งลมให้แห้ง ครั้งหนึ่งก่อนบรรจุและส่งกลับมาแยกภา ที่ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยรามคำแหงต่อไป

2.4 การเก็บตัวอย่างไลเคนบนหิน ไลเคนบางชนิดสามารถเจริญได้บนดินหรือหินซึ่งพบได้ทั้งในบริเวณที่รับแสงเต็มที่ หรือบริเวณที่มีแสงน้อยแต่ความชื้นสูง การเก็บตัวอย่างไลเคนจำพวกโฟลิโอส ก็เช่นเดียวกับการเก็บตัวอย่างจากพรรณไม้ โดยการฉีดย้ำน้ำทำให้อัลลัสอ่อนตัวแล้วแกะหรือลอกออกจากก้อนหิน ส่วนตัวอย่างไลเคนชนิดครัสโตสซึ่งเกาะแน่นกับหินจำเป็นต้องใช้

วิธีสกัดออกมา เมื่อถึงที่ปักแล้วนำตัวอย่างมาฝึ่งให้แห้งก่อนบรรจุส่งกลับมาทำการตรวจสอบชนิดและแยกธาตุต่อไป

2.5 ชนิดของพรรณไม้ที่รวบรวมไลเคน ตัวอย่างไลเคนทั้งหมดที่เก็บรวบรวมได้จากหินดิน และพรรณไม้ต่าง ๆ ในแต่ละสถานที่ แสดงในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 แสดงชนิดของพรรณไม้ที่ได้รวบรวมไลเคน

ชื่อภาษาไทย	ชื่อวิทยาศาสตร์	วงศ์
กำลังเสือโคร่ง	<i>Betula alnoides</i> Buch. Ham	Betulaceae
ก่อขี้หมู	<i>Castanopsis helferiana</i> A.Dc.	Fagaceae
ค่อม-โครัย้อย	<i>Elaeocarpus grandiflorus</i> J.E.Smith	Elaeocarpaceae
จั่วป่า	<i>Bombax anceps</i> Pierre	Bombaraceae
จำปีป่า	<i>Michelia floribunda</i> Finet & Gagnep	Magnoliaceae
จวง	<i>Neolitsea</i> sp.	Lauraceae
ชิงชัน	<i>Dalbergia oliveri</i> Gamble	Papilionaceae
ตะคร้ำ	<i>Garuga pinnata</i> Roxb.	Burseraceae
เต็ง	<i>Shorea obtusa</i> Wall	Dipterocarpaceae
ปอขาว	<i>Sterculia pexa</i> Pierre.	Sterculiaceae
ไผ่	<i>Bambusa</i> sp.	Gramineae
พลอง	<i>Memocylon</i> sp.	Memecylaceae
เพกา, ลั่นฟ้า	<i>Oroxylum indicum</i> Vent.	Bigoniaceae
มะกล่ำต้น	<i>Adenanthera pavonina</i> Linn.	Mimosaceae
มะกอกขี้หมูใหญ่	<i>Spondias pinnata</i> Kurz	Anacardiaceae
ยางขน, ยางเมือง	<i>Dipterocarpus bandii</i> Kort	Dipterocarpaceae
ยางบก	<i>Dipterocarpus</i> sp.	Dipterocarpaceae
รัก	<i>Buchanania florida</i> Schuaer	Anacardiaceae
ส้านหิน	<i>Dillinia parviflora</i> Griff	Dilleniaceae
ส้านใบเล็ก	<i>Dillinea ovata</i> Wall ex. Hook	Dilleniaceae
สารภีป่า	<i>Schima wallichii</i> Korth	Theaceae
สลอด	<i>Croton tigilium</i> Linn	Euphorbiaceae

วิธีสกัดออกมา เมื่อถึงที่พักแล้วนำตัวอย่างมาผึ่งให้แห้งก่อนบรรจุส่งกลับมาทำการตรวจสอบชนิดและแยกธาตุต่อไป

2.5 ชนิดของพรรณไม้ที่รวบรวมไลเคน ตัวอย่างไลเคนทั้งหมดที่เก็บรวบรวมได้จากหินดิน และพรรณไม้ต่าง ๆ ในแต่ละสถานที่ แสดงในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 แสดงชนิดของพรรณไม้ที่ได้รวบรวมไลเคน

ชื่อภาษาไทย	ชื่อวิทยาศาสตร์	วงศ์
กำลังเสือโคร่ง	<i>Betula alnoides</i> Buch. Ham	Betulaceae
ก้อขี้หมู	<i>Castanopsis helferiana</i> A.Dc.	Fagaceae
ค่อม-ไคร้ย่อย	<i>Elaeocarpus grandiflorus</i> J.E.Smith	Elaeocarpaceae
จิวป่า	<i>Bombax anceps</i> Pierre	Bombaraceae
จำปีป่า	<i>Michelia floribunda</i> Finet & Gagnep	Magnoliaceae
จวง	<i>Neolitsea</i> sp.	Lauraceae
ชิงชัน	<i>Dalbergia oliveri</i> Gamble	Papilionaceae
ตะคร้ำ	<i>Garuga pinnata</i> Roxb.	Burseraceae
เต็ง	<i>Shorea obtusa</i> Wall	Dipterocarpaceae
ปอขาว	<i>Sterculia pexa</i> Pierre.	Sterculiaceae
ไผ่	<i>Bambusa</i> sp.	Gramineae
พลอง	<i>Memocylon</i> sp.	Memecylaceae
เพกา, ลิ่นฟ้า	<i>Oroxylum indicum</i> Vent.	Bigoniaceae
มะกล่ำต้น	<i>Adenanthera pavonina</i> Linn.	Mimosaceae
มะกอกขี้หมูใหญ่	<i>Spondias pinnata</i> Kurz	Anacardiaceae
ยางขน, ยางเมือง	<i>Dipterocarpus bandii</i> Kort	Dipterocarpaceae
ยางบก	<i>Dipterocarpus</i> sp.	Dipterocarpaceae
รัก	<i>Buchanania florida</i> Schuaer	Anacardiaceae
ส้านหิน	<i>Dillinia parviflora</i> Griff	Dilleniaceae
ส้านใบเล็ก	<i>Dillinea ovata</i> Wall ex. Hook	Dilleniaceae
สารภีป่า	<i>Schima wallichii</i> Korth	Theaceae
สลอด	<i>Croton tigilium</i> Linn	Euphorbiaceae

2.6 การวิเคราะห์ลักษณะทางอนุกรมวิธานของไลเคน จำแนกตัวอย่างไลเคนออกเป็นหมวดหมู่ต่างๆ ด้วยการตรวจดูโครงสร้างทางสัณฐานวิทยา เช่น ไลเคนพวก ครัสโตส ฟรติโคส โพลีไอสที่มีธัลลัสสีเขียว (green thallus) ลักษณะ lobe เล็ก, lobe ใหญ่ และโพลีไอสที่มีธัลลัสสีเทา (grey thallus) ลักษณะ lobe เล็ก, lobe ใหญ่ นำไลเคนเหล่านี้มาวิเคราะห์หาสกุล (genus) ด้วยวิธีการดังนี้

2.6.1 ทดสอบคุณสมบัติทางเคมีเบื้องต้น ด้วยการทำ spot test สังเกตการเปลี่ยนแปลงสีของเมดูลลา (medulla) และธัลลัสกับสารละลายแคลเซียมไฮโปคลอไรด์ โพแตสเซียมไฮดรอกไซด์ และ พาราฟีนีนไดอะมีน

2.6.2 การตัดเนื้อเยื่อ (cross-section) เพื่อการศึกษาสัณฐานวิทยาของ Fruiting body และสปอร์ (spores)

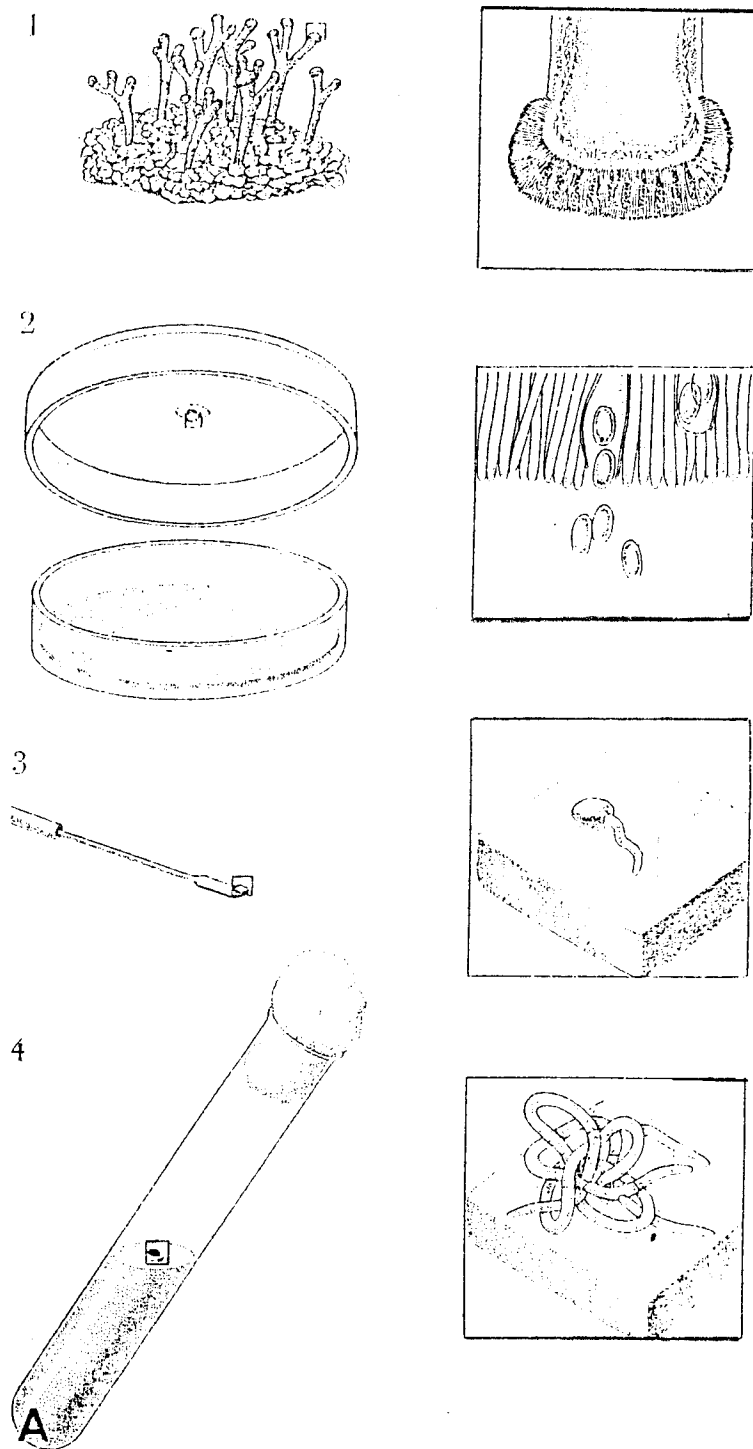
2.7 วิธีแยกราจากตัวอย่างไลเคน

เทคนิคที่ใช้แยกราจากตัวอย่างไลเคนตามวิธีของ Crittenden (1995) มีดังนี้

* 2.7.1 Spore discharging technique วิธีที่ 1 (รูปที่ 6) ทำโดยตัดส่วนของผล Fruiting body (Ascocarp) มาล้างผ่านน้ำประปาเป็นเวลา 1/2 ชั่วโมงเพื่อจัดการปนเปื้อนออก แล้วทำการฆ่าเชื้อที่ผิว (Surface sterilization) ด้วย Sodium hypochlorite 0.5 % นาน 5 นาที ถ่ายตัวอย่างลงในน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อเขย่าเป็นระยะนาน 30 นาที จากนั้นนำตัวอย่างไปติดที่ผาด้านในของ petri dish ด้วย petroleum jelly โดยให้มีระยะห่างจากผิววัน 1-2 มม. บ่มตัวอย่างที่อุณหภูมิห้อง สังเกต spore ที่งอก หากยังไม่พบสปอร์ทำการเลื่อนตำแหน่งผาทุก 2 วัน

2.7.2 Spore discharging technique วิธีที่ 2 ตัดผล Fruiting body และล้างน้ำตามวิธีเช่นเดียวกับข้อ 2.7.1 แต่ทำการฆ่าเชื้อด้วย Sodium hypochlorite 0.5 % นาน 5 นาที หรือ Absolute Ethanol นาน 30 วินาทีถ่ายตัวอย่างลงในน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้วทิ้งไว้ 30 นาที นำตัวอย่างออกมาติดบนผาเช่นเดียวกับข้อ 2.7.1 เปลี่ยนอาหารใหม่ทุก 8 ชั่วโมงเป็นเวลา 24 ชั่วโมง

2.7.3 Crushing technique นำส่วนผล Fruiting body (Ascocarp) มาทำการฆ่าเชื้อที่ผิว (Surface sterilization) ด้วย Sodium hypochlorite 0.5 % นาน 5 นาที หรือ absolute ethanol นาน 30 วินาทีถ่ายตัวอย่างลงในน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้วทิ้งไว้ 5 นาที นำตัวอย่างออกมาใส่ petri dish เติมน้ำกลั่นลงไปเล็กน้อย แล้วบด (Crush) ให้ ascocarp แตก ใช้ loop ตะ suspension วางลงบนอาหาร Corn Meal Agar (CMA) และ Water agar (WA) บ่มที่อุณหภูมิห้องและสังเกตเชื้อราที่เจริญขึ้นมา



รูปที่ 6 แสดงวิธีการแยก ascospore จากตัวอย่างไลเคนด้วยวิธี spore discharge (Ahmadjian, 1993)

1. เลือก fruiting body
2. ตัด fruiting body มาติดฝา
3. - 4. เมื่อสปอร์ออกย้ายไปยังอาหารเลี้ยงเชื้อใหม่

วิธีอื่นที่ได้ทดลองเพิ่มเติม คือ

2.7.4 Medulla dissecting technique ทำการตัดชั้นเนื้อเยื่อ medulla โดยใช้มีดผ่า ตัดปลายแหลมผ่าตัวอย่าง แล้วตัดเอาชั้น medulla ออกมาเลี้ยงในอาหาร Water agar (WA) และ CMA

2.7.5 Spore oozing technique วิธีที่ 1 นำ Fruiting body มาตัด section แล้วบ่มในน้ำ กลั่นที่ปราศจากเชื้อ สังเกต spore ที่หลุดออกทุก ๆ 3, 6 และ 24 ชั่วโมง ดูด spore suspension นี้ไปปล่อยลงบนอาหาร WA

2.7.6 Spore oozing technique วิธีที่ 2 นำ fruiting body ที่เป็น ascocarp มาทำ surface sterilization เช่นเดียวกับข้อ 2.7.2 ด้วย absolute ethanol ทิด fruiting body บนแผ่นสไลด์แก้ว ด้วย petroleum jelly เติมน้ำกลั่นที่ปราศจากเชื้อลงใน ascocarp ดูด suspension ออกมาตรวจดู ascospore ทุก 8 ชั่วโมงจนครบ 24 ชั่วโมง ถ้าพบสปอร์นำ suspension นี้ไปปล่อยลงบนอาหาร เลี้ยงเชื้อ

2.7.7 Tissue dissecting technique โไลเคนในกลุ่มที่ไม่สร้าง fruiting body การแยกจากไลเคนกลุ่มนี้จึงทำโดยตัดเนื้อเยื่อของไลเคนมาทำการฆ่าเชื้อที่ผิวเช่นเดียวกับวิธีข้างต้นจาก นั้นตัดอัลลัสให้เป็นชิ้นเล็กๆยาว ประมาณ 1-2 มม. นำไปปักลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ สังเกตการ งอกของเส้นใยรา

นำไอโซเลทราที่แยกได้จากวิธีเหล่านี้มาบ่มในจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิห้อง สังเกตผล เป็นระยะเวลานานประมาณ 10-14 วัน หากมีเส้นใยงอกขึ้น ข้ายเส้นใยราที่แยกได้นี้ลงหลอด CMA slant บ่มเชื้อจนเจริญเต็มที่แล้วจึงไปเก็บในตู้เย็นอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อทำการ ศึกษาด้านอนุกรมวิธานและสรีรวิทยาต่อไป ส่วนตัวอย่างไลเคนที่เหลือนั้นหากการแยกครั้งแรก ไม่ประสบผลสำเร็จก็นำมาทำการแยกซ้ำอีกครั้ง โดยทำการเก็บรักษาตัวอย่างไลเคนไว้ใน อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

3. ผลการศึกษา

3.1 การเก็บตัวอย่างไลเคน

การเก็บตัวอย่างไลเคน ณ ป่าภูตืนสวนทราย อ.นาแห้ว จ.เลย ได้ทำการเก็บตัวอย่างรวม 3 ครั้งคือ

1.ครั้งที่ 1 เป็นการเก็บตัวอย่างปลายฤดูฝนกระทำในระหว่างวันที่ 4-10 พฤศจิกายน 2538 ได้ตัวอย่างไลเคนจำนวน 240 ตัวอย่าง

2.ครั้งที่ 2 เป็นการเก็บตัวอย่างต้นฤดูฝนกระทำในระหว่างวันที่ 8-12 พฤษภาคม 2539 ได้ตัวอย่างไลเคน จำนวน 105 ตัวอย่าง

3.ครั้งที่ 3 เป็นการเก็บตัวอย่างในฤดูหนาวกระทำในระหว่างวันที่ 15-20 ธันวาคม 2539 ได้ตัวอย่างไลเคนจำนวน 111 ตัวอย่าง

3.2 การตรวจสอบชนิดของไลเคน

นักวิจัยของโครงการวิจัยไลเคนได้ทำการตรวจสอบชนิดของไลเคน ดังผลที่แสดงในภาคผนวกตารางที่ 5 สำหรับชื่อและสกุลของไลเคนที่ได้รวบรวมมาแสดงไว้ในภาคผนวกตารางที่ 9, 10 และ 11

3.3 การแยกจากตัวอย่างไลเคนที่ได้รวบรวม

การแยกจากตัวอย่างไลเคนที่รวบรวมมาครั้งแรกระหว่างวันที่ 4-10 พฤศจิกายน 2538 ใช้วิธี crushing เพียงวิธีเดียว จากตัวอย่างไลเคนรวมตัวอย่างสามารถแยกได้ทั้งสิ้น 125 ไอโซเลท ดังผลแสดงในตารางที่ 7 ตามลำดับ

การแยกจากตัวอย่างไลเคนที่รวบรวมระหว่างวันที่ 8-12 พฤษภาคม 2539 จำนวน 105 ตัวอย่าง ได้ทำการแยกด้วยวิธี spore discharging (วิธี 2.7.1), crushing, medulla dissecting และ spore oozeing (วิธี 2.7.5) การแยกจะใช้วิธี spore discharging และ medulla dissecting เป็นหลักก่อนหากไม่ได้ผล จึงนำตัวอย่าง ไลเคนมาแยกด้วยวิธี crushing สำหรับวิธี spore oozeing (วิธี 2.7.5)ได้ทดลอง ทำกับตัวอย่างไลเคน บางตัวอย่างเท่านั้น การแยกในครั้งนี้สามารถแยกได้ 99 ไอโซเลท ผลการแยกด้วยวิธีต่างๆได้แสดงไว้ในตารางที่ 6 และ 7 ตามลำดับ

การแยกจากตัวอย่างไลเคนที่รวบรวมระหว่างวันที่ 10-15 ธันวาคม 2539 จำนวน 111 ตัวอย่าง ได้ทำการแยกด้วยวิธี spore discharging (วิธี 2.7.2), crushing, medulla dissecting, tissue cutting และ spore oozeing (วิธี 2.7.6) การแยกจะใช้วิธี spore discharging และ medulla dissecting ก่อนหากไม่ได้ผลจึง นำตัวอย่าง ไลเคนมาแยกด้วยวิธี crushing และ tissue cutting ตามลำดับ ส่วนวิธี spore oozeing (วิธี 2.7.6) ได้ทดลองทำกับตัวอย่างไลเคน

จำนวน 7 ตัวอย่าง การแยกราในครั้งนี้สามารถแยกได้รวม 168 ไอโซเลท ผลการแยกราด้วยวิธีต่าง ๆ ได้แสดงไว้ในตารางที่ 6 และ 7 ตามลำดับ

เนื่องจากการแยกราด้วยวิธี spore discharging (วิธีที่ 2.7.1 และ 2.7.2) ได้ ascospore ออกมาน้อย (ประมาณ 1-3 ascospore ต่อ fruiting body) และสปอร์ก็มีการงอกน้อย คณะผู้วิจัยจึงได้ทดลองใช้วิธี ooze spore (วิธี 2.7.6) กับตัวอย่างไลเคนหมายเลข 36, 83, 86, 88, 95, 96, และ 97 จากการเก็บตัวอย่างครั้งที่ 3 ซึ่งตัวอย่างเหล่านี้มี fruiting body ที่สมบูรณ์ พบว่าการแยก ascospore ด้วยวิธีนี้สามารถแยกสปอร์ออกมาได้เป็นจำนวนมาก ดังแสดงในรูปที่ 7-10

3.4 การตรวจสอบทางอนุกรมวิธานเบื้องต้นของราที่แยกได้

เนื่องจากการตรวจสอบชนิดและสกุลของราจำเป็นต้องอาศัยรูปร่างลักษณะของสปอร์ทั้งที่เป็น sexual spore (perfect stage of fungi) และ conidia เป็นหลัก แต่จากไอโซเลทราที่แยกได้นี้จะสร้างเฉพาะเส้นใยจึงไม่อาจทำการตรวจสอบได้อย่างไรก็ตามมีตัวอย่างบางไอโซเลทที่พบการสร้างสปอร์ ผลการตรวจสอบชนิดของราได้แสดงไว้ในตารางที่ 8

จากปัญหาที่ราจากไอโซเลทเหล่านี้ไม่สร้าง sexual stage หรือ conidia ในอาหารเลี้ยงเชื้อปกติที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ คณะผู้วิจัยจึงได้ทดลองเพาะเชื้อลงบนท่อนไม้ที่มีการเติมและไม่เติมสารสกัดจากไลเคนลงไป ผลการทดลองในส่วนนี้ยังไม่อาจสรุปผลได้ เนื่องจากต้องให้เวลาระยะหนึ่งเพื่อให้ตัวอย่างรามีการเจริญเติบโตและมีระยะเวลาเพียงพอที่อาจจะสร้างสปอร์ขึ้นมา

ตารางที่ 5 แสดงชนิดของไลเคนที่เก็บมาแยก

การเก็บตัวอย่าง ชนิดของไลเคน	เก็บตัวอย่าง ครั้งที่ 1	เก็บตัวอย่าง ครั้งที่ 2	เก็บตัวอย่าง ครั้งที่ 3	รวม
Crustose	131	79	37	247
Foliose	95	25	57	177
Fruticose	5	-	7	12
Squamulose	9	1	6	16
Unidentified	-	-	4	4
รวม	240	105	111	456

ตารางที่ 6 แสดงจำนวนไลเคนในการแยกธาตุด้วยวิธีการต่างๆ

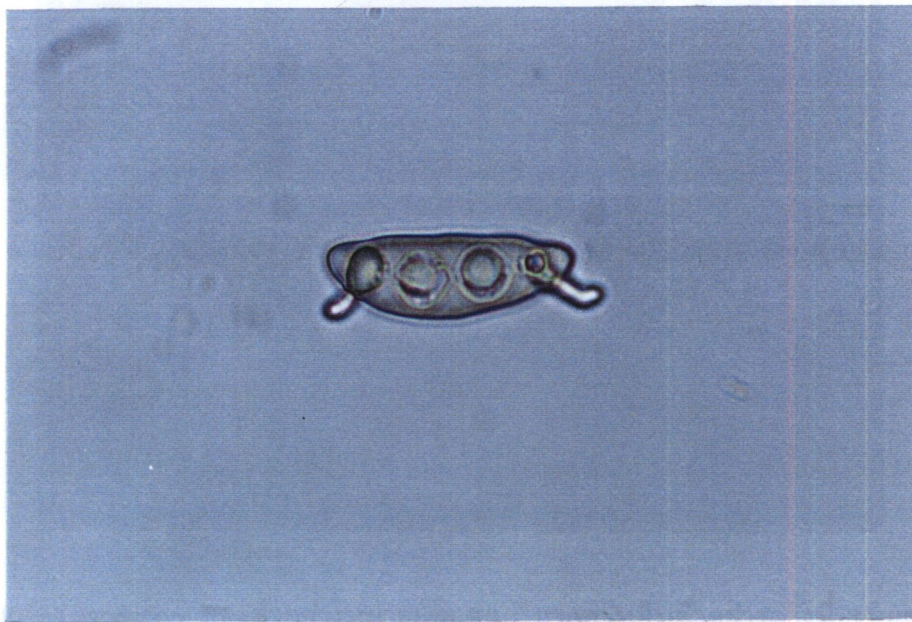
แบบอัลลัส วิธีแยกธาตุ	Crustose	Foliose	Fruticose	Squamulose	รวม
Spore discharge	48	7	0	0	55
Crush	106	113	2	7	228
Tissue	0	18	17	11	46
Medulla	26	22	0	0	48
Ooze	0	15	0	0	15
Isidia	0	1	0	0	1
รวม	180	176	19	18	393

ตารางที่ 7 แสดงจำนวนไอโซเลทราที่แยกด้วยวิธีต่างๆ

การเก็บตัวอย่าง วิธีแยก	เก็บตัวอย่าง ครั้งที่ 1	เก็บตัวอย่าง ครั้งที่ 2	เก็บตัวอย่าง ครั้งที่ 3	รวม
Spore discharge	-	41	14	55
Crushing	125	3	90	228
Tissue	-	-	46	46
Medulla	-	45	3	48
Ooze	-	-	15	15
Isidia	-	1	-	1
รวม	125	100	168	393

ตารางที่ 8 แสดงสกุลของราที่ได้ทำการตรวจสอบแล้ว

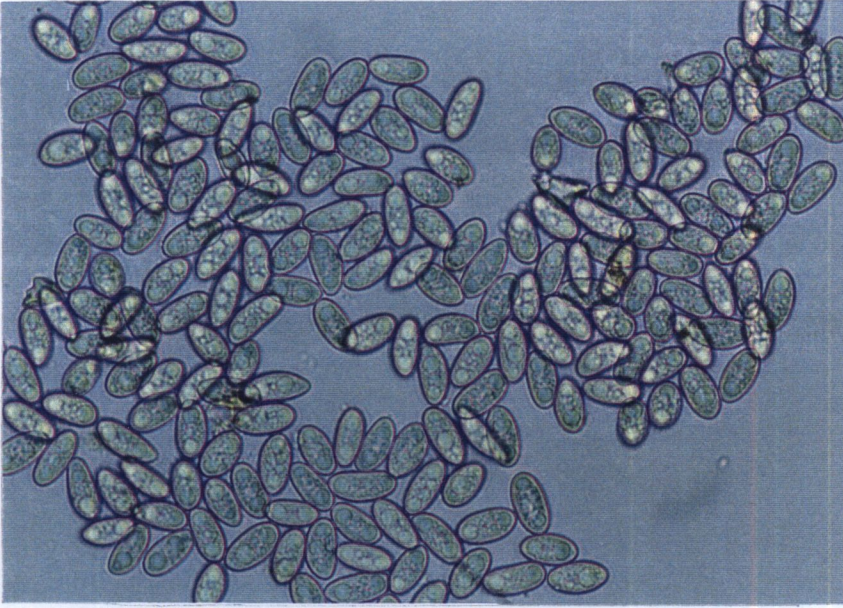
Sample No.	การเก็บตัวอย่าง	Identified fungi
4224	เก็บตัวอย่างครั้งที่ 1	<i>Haplosporella</i> sp.
4258	เก็บตัวอย่างครั้งที่ 1	<i>Torula</i> sp.
4334	เก็บตัวอย่างครั้งที่ 1	<i>Torula</i> sp.
4605	เก็บตัวอย่างครั้งที่ 1	<i>Haplosporella</i> sp.
4651	เก็บตัวอย่างครั้งที่ 1	<i>Lacellinopsis</i> sp.
5227B	เก็บตัวอย่างครั้งที่ 1	<i>Haplosporella</i> sp.
5242	เก็บตัวอย่างครั้งที่ 1	<i>Haplosporella</i> sp.
6224	เก็บตัวอย่างครั้งที่ 1	<i>Haplosporella</i> sp.
9	เก็บตัวอย่างครั้งที่ 2	<i>Coniothyrium</i> sp.
12	เก็บตัวอย่างครั้งที่ 2	<i>Coniothyrium</i> sp.
5,11	เก็บตัวอย่างครั้งที่ 2	<i>Coniothyrium</i> sp.
26	เก็บตัวอย่างครั้งที่ 2	<i>Curvularia</i> sp.
48	เก็บตัวอย่างครั้งที่ 2	<i>Sphaeronema</i> sp.
50	เก็บตัวอย่างครั้งที่ 2	<i>Torula</i> sp.
73	เก็บตัวอย่างครั้งที่ 2	<i>Torula</i> sp.
80	เก็บตัวอย่างครั้งที่ 2	<i>Pestalotia</i> sp.
85	เก็บตัวอย่างครั้งที่ 2	<i>Coniothyrium</i> sp.
86	เก็บตัวอย่างครั้งที่ 2	<i>Fusarium</i> sp.
89	เก็บตัวอย่างครั้งที่ 2	<i>Nigrospora</i> sp.
97	เก็บตัวอย่างครั้งที่ 2	<i>Pithomyces</i> sp.
101	เก็บตัวอย่างครั้งที่ 2	<i>Haplosporella</i> sp.
102	เก็บตัวอย่างครั้งที่ 2	<i>Pestalotia</i> sp.
104 B	เก็บตัวอย่างครั้งที่ 2	<i>Pestalotia</i> sp.
105B,C	เก็บตัวอย่างครั้งที่ 2	<i>Pestalotia</i> sp.



รูปที่ 7 แสดง ascospore ขณะกำลังออกของตัวอย่างหมายเลข 3 (จากการเก็บตัวอย่างครั้งที่ 3)



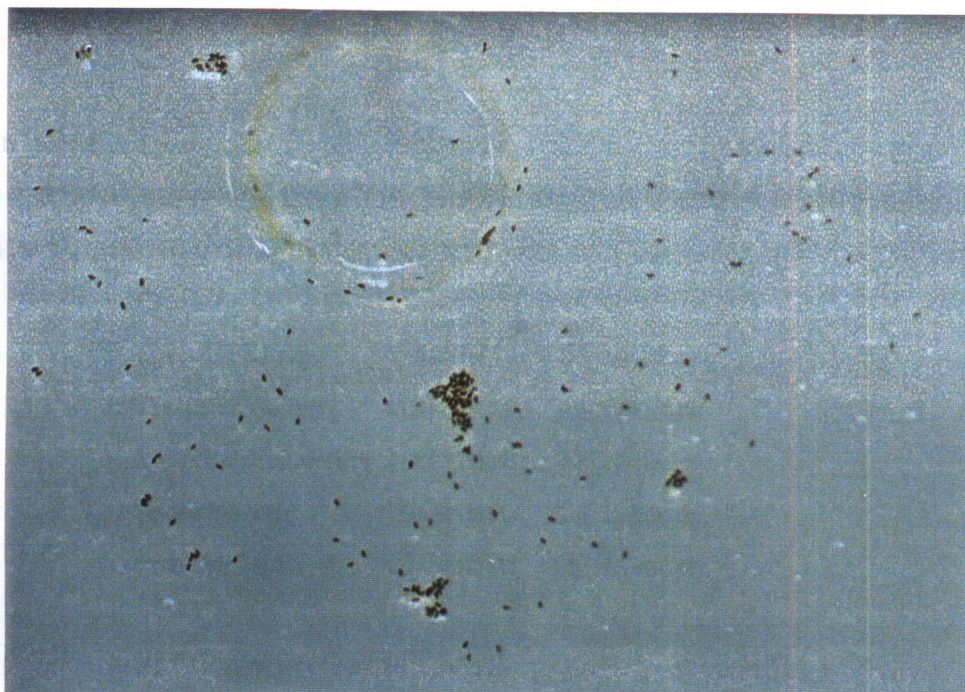
รูปที่ 8 แสดง ascospore ของตัวอย่างหมายเลข 36 (จากการเก็บตัวอย่างครั้งที่ 3) โดยวิธี ooze spore (2.7.6)



รูปที่ 9 แสดง ascospore ของตัวอย่างหมายเลข 83 (จากการเก็บตัวอย่างครั้งที่ 3) แยก
โดยวิธี ooze spore (2.7.6)



รูปที่ 10 แสดง ascospore ของตัวอย่างหมายเลข 97 (จากการเก็บตัวอย่างครั้งที่ 3) แยก
โดยวิธี ooze spore (2.7.6)



รูปที่ 11 แสดง ascospore ที่ได้จากวิธี ooze spore นำไปปล่อยลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ



รูปที่ 12 แสดงการเจริญของเชื้อหมายเลข 40 A (จากการเก็บตัวอย่างครั้งที่ 2) บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และ OMA

สรุปผลการศึกษา

สรุปผลการวิจัย

ผลจากการแยกจากตัวอย่างไลเคนที่ได้ทำการรวบรวมจำนวน 3 ครั้งได้ตัวอย่างไลเคนทั้งสิ้น 456 ตัวอย่าง สามารถแยกได้เป็นจำนวนทั้งสิ้น 393 ไอโซเลท จากวิธีต่าง ๆ ดังนี้คือ

1. Crushing	เป็นจำนวน 228 ไอโซเลท
2. Spore discharge	เป็นจำนวน 55 ไอโซเลท
3. Tissue dissecting	เป็นจำนวน 46 ไอโซเลท
4. Medulla dissecting	เป็นจำนวน 48 ไอโซเลท
5. Spore oozeing	เป็นจำนวน 15 ไอโซเลท
6. แยกจาก Isidia	เป็นจำนวน 1 ไอโซเลท

ตัวอย่างไลเคนที่นำมาทำการแยกในครั้งที่ 1 และ 2 นี้พบว่ามีไลเคนจำนวน 162 ตัวอย่างที่ไม่สามารถแยกได้ สาเหตุที่สำคัญที่ไม่สามารถแยกจากตัวอย่างเหล่านี้ได้คือความสดของตัวอย่างที่นำมาใช้แยก พบว่าหลังจากการเก็บไลเคนมาจากพื้นที่ธรรมชาติมาแล้วเกินกว่า 1 สัปดาห์การแยกเป็นไปได้ยากขึ้น

จากผลการแยกตัวอย่างราที่ได้ด้วยวิธีการ crushing นี้มีมากกว่าการแยกด้วยวิธีอื่นเนื่องจากตัวอย่างไลเคนที่ใช้ในครั้งแรกมีจำนวนมากและในการแยกจากตัวอย่างที่เก็บครั้งแรกนี้ใช้วิธีการ crushing เพียงวิธีเดียว อย่างไรก็ตามการแยกด้วยวิธี crushing นอกจากจะได้ราที่ก่อให้เกิดไลเคนแล้วยังได้ราชนิดที่เป็น lichenicolous fungi ปะปนมาด้วย ดังนั้นในการแยกครั้งต่อมาจึงได้ใช้วิธีแยกด้วย spore discharging technique เป็นลำดับแรกก่อนหากไม่ได้ผลจึงใช้วิธีอื่นตามมา

การแยก ascospore ของราที่ก่อให้เกิดไลเคนนั้นนอกจากจะใช้วิธี spore discharge แล้วการแยกด้วยวิธี spore oozeing ก็ให้ผลดีเช่นกันสามารถแยกเอา ascospore ออกมาได้เป็นจำนวนมาก

ถึงแม้ว่า ascospore จะเป็นเป้าหมายสำคัญอันดับแรกในการแยกสายพันธุ์ราจากไลเคนแต่การแยกจาก ascospore ก็มีข้อจำกัดที่สำคัญคือ ascospore มีเปอร์เซ็นต์การงอกที่ต่ำ ดังนั้นวิธีการแยกวิธีอื่น ๆ จึงจำเป็นต้องนำมาใช้ควบคู่ไปด้วย

จากไอโซเลทราที่แยกได้นี้ส่วนหนึ่งคณะผู้วิจัยได้ทำการตรวจสอบชนิดของราและสามารถตรวจสอบชนิดได้บางส่วนดังแสดงในตารางที่ 8 คาดว่าราในส่วนนี้อาจเป็น lichenicolous fungi จากการตรวจสอบพบว่าไอโซเลทราส่วนมากไม่สร้าง fruiting body หรือ mitosporic spore คณะผู้วิจัยจึงได้ทำการทดลองเพาะตัวอย่างราเหล่านี้ลงบนท่อนไม้ ผลของการศึกษานี้ยังอยู่ระหว่างการติดตามผล

ความเห็นของคณะผู้วิจัย

1. เป้าหมาย

เนื่องจากการเพาะเลี้ยงไลเคนไม่สามารถทำได้เช่นการเพาะเลี้ยงราหรือสาหร่ายตามปกติ แต่ รา หรือ สาหร่าย ที่ก่อให้เกิดไลเคนนี้สามารถแยกมาทำการเพาะเลี้ยงได้ อย่างไรก็ตาม ข้อมูลและวิธีการที่เหมาะสมในการแยกราที่ก่อให้เกิดไลเคนก็มีไม่มากนัก อีกทั้งในประเทศไทยเองก็ยังไม่เคยมีการแยกราประเภทนี้มาก่อน การแยกราจากตัวอย่างไลเคนในช่วงแรกของโครงการจึงได้ทำการแยกราด้วยวิธี crushing ต่อมาจึงได้ทำการศึกษาวิธีการแยกราด้วยเทคนิคอื่นเพิ่มเติม

2. ปัญหาและอุปสรรค

2.1. วิธีเก็บตัวอย่างไลเคนเพื่อแยกรา เนื่องจากการแยกราจากตัวอย่างไลเคนในครั้งแรกนั้นได้ใช้ตัวอย่างไลเคนที่โครงการไลเคนเก็บรวบรวมมา การเก็บตัวอย่างไลเคนนั้นใช้วิธีผึ่งตัวอย่างให้แห้ง (air dried) ณ ที่พักครั้งหนึ่งก่อนและเมื่อนำตัวอย่างกลับมายังห้องปฏิบัติการ ณ มหาวิทยาลัยรามคำแหง ได้ผึ่งตัวอย่างเหล่านี้จนแห้งสนิทแล้วจึงเก็บตัวอย่างเข้าห้อง การเก็บตัวอย่างไลเคนด้วยวิธีนี้จะลดความสดของตัวอย่างลง ทำให้มีตัวอย่างไลเคนที่ไม่สามารถแยกราได้ อย่างไรก็ตามการเก็บตัวอย่างแบบนี้จะลดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์จำพวกที่เป็นผู้ย่อยสลาย (saprophytes) การเก็บตัวอย่างแบบนี้เป็นวิธีการที่แตกต่างไปจากการแยกราจากรายงานการวิจัยอื่น เช่นการแยกราของ Crittenden (1995) หลังจากทำการผึ่งตัวอย่างแล้วจะเก็บที่ตัวอย่างไลเคนไว้ ณ อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส การแยกราก็จะทำให้เสร็จภายใน 2 สัปดาห์

ดังนั้นในการเก็บตัวอย่างในครั้งที่ 2 และ 3 หลังจากผึ่งตัวอย่าง ณ ที่พักแล้วเมื่อนำตัวอย่างไลเคนกลับมายังห้องปฏิบัติการแล้วจึงได้ทำการเก็บรักษาตัวอย่างไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อให้ตัวอย่างสด (fresh) และรีบทำการแยกราให้เร็วที่สุด

2.2. ฤดูกาลในการเก็บตัวอย่าง การเก็บตัวอย่างในครั้งแรกและครั้งที่สองนั้นได้เก็บตัวอย่างในช่วงฤดูฝน ส่วนการเก็บตัวอย่างในครั้งที่สามได้เก็บตัวอย่างในช่วงต้นฤดูหนาว ปัญหาในเรื่องของการเลือกช่วงเวลาเก็บตัวอย่งนี้ก็คือ ต้องเลือกช่วงเวลาที่เหมาะสมเพราะราที่ก่อให้เกิดไลเคนนี้ไม่สร้าง ascospore ตลอดเวลา หากตัวอย่างที่เก็บแล้วไม่พบ ascospore ก็เป็นอุปสรรคที่สำคัญที่จะนำมาใช้ในการแยกรา นอกจากนี้แล้วอายุและความสมบูรณ์ของ ascospore ก็จะมีผลต่อการงอก (germination) ด้วย พบว่า ascospore บางชนิดเช่น ใช้เวลา 5-6 สัปดาห์ในการงอก (Lawrey, 1984) ดังนั้นในการทำวิจัยต่อไปการเก็บตัวอย่างไลเคนจึงควรทำการเก็บให้ถี่ขึ้นและทำตลอดปีเพื่อให้ได้ตัวอย่างที่มีความสมบูรณ์ที่สุด

2.3. วิธีที่ใช้ในการแยกรา การแยกราในครั้งแรกใช้วิธีบด (crushing) fruiting body ซึ่งการแยกด้วยวิธีนี้จะได้ทั้ง ราที่ก่อให้เกิดไลเคน และราที่อยู่ร่วมกับไลเคน เนื่องจากราที่อยู่ร่วมกับ

ไลเคนนี้มีทั้งที่เป็น saprophyte และ parasite ราเหล่านี้จะมีการเจริญได้รวดเร็วกว่าราที่ก่อให้เกิดไลเคนทำให้มีการเจริญขึ้นมาครอบคลุมพื้นที่ก่อน การใช้วิธีแยกจาก spore discharge ซึ่งจะได้ ascospore จากราที่ก่อให้เกิดไลเคนโดยตรงจึงเป็นวิธีที่ดีกว่า อย่างไรก็ตามปัญหาที่สำคัญของการใช้วิธี spore discharge ก็คือ ascospore มักมีเปอร์เซ็นต์การงอกที่ต่ำ และเส้นใยเหล่านี้บางครั้งก็ไม่มีอาการเจริญต่อ Crittenden (1995) ได้สรุปปัญหาที่ไม่สามารถแยกได้ว่ามาจาก

1. สปอร์ไม่งอก (spore not germinate) 43 %
2. สปอร์ไม่ถูกปล่อยออกมา (spore not discharged) 30%
3. สปอร์งอกแต่ไม่มีการเจริญต่อ (spore germinate but no growth) 19%

นอกจากนี้การแยกราด้วยวิธี spore discharge นี้หากทั้งตัวอย่าง fruiting body ไว้ในจานเลี้ยงเชื้อนานเกิน 1 สัปดาห์จะพบการเจริญของราจำพวก saprophyte เช่น *Penicillium sp.* หรือ *Trichoderma sp.* ขึ้นมาครอบคลุมตัวอย่าง การแก้ปัญหานี้ Crittenden (Personel communication) ได้แนะนำให้ย้ายจานไปยังอาหารใหม่ทุก 6 ชั่วโมงและตรวจสอบสปอร์บนผิวอาหารเลี้ยงเชื้อภายในเวลา 24 ชั่วโมง เนื่องจาก fruiting body จะปล่อย ascospore ออกมาในช่วง 24 ชั่วโมงแรก

วิธีแยก ascospore อีกวิธีหนึ่งที่คณะผู้วิจัยได้ประสบความสำเร็จในการแยก ascospore ก็คือการ ooze spore วิธีนี้สามารถแยก ascospore ออกมาได้เป็นจำนวนมาก อย่างไรก็ตามวิธีนี้จะใช้ได้ผลดีกับ fruiting body ที่เป็นรูปถ้วย (disc) เท่านั้น

2.4. การตรวจสอบทางอนุกรมวิธาน เนื่องจากราที่ก่อให้เกิดไลเคนส่วนมากไม่สร้าง fruiting body และ conidia (ใน mitosporic fungi) บนอาหารเลี้ยงเชื้อเช่นในธรรมชาติ หากต้องการตรวจสอบชนิดของรานั้น จึงทำได้ยาก ขณะนี้คณะผู้วิจัยได้ทดลองเปลี่ยนอาหารเลี้ยงเชื้อ และทำการ inoculate เชื้อลงบนท่อนไม้ และกำลังติดตามผล สำหรับการสร้างไลเคนขึ้นมาใหม่นั้น (resynthesis) จากการศึกษาของโดยใช้รา *Peltigera sp.* และ *Lobaria sp.* เป็น mycobiont กับ *Nostoc sp.* เป็น photobiont พบว่าการสร้างอัลลัสที่มีขนาดใหญ่ 7 มม.และการสร้าง rhizine จะใช้เวลาานมากกว่า 2 ปี (Stocker-Worgotter, 1995)

2.5. การเก็บรักษาราที่แยกได้ การเก็บรักษาสายพันธุ์ราที่แยกได้นี้ได้ทำโดยการเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส แล้วทำการถ่ายเชื้อเป็นระยะ เช่นเดียวกันกับในรายงานอื่นๆ ยังไม่มีรายงานแสดงวิธีที่ เหมาะสมในการเก็บรักษาสายพันธุ์ราในกลุ่มนี้ จากรายงานของ Ahmadjian และจากข้อมูลเชื้อของ American Type Culture Collection (ATCC) ซึ่งเป็นศูนย์เก็บสายพันธุ์ราที่ Ahmadjian แยกได้ก็ยังใช้ วิธีถ่ายเชื้อ (subculture) รายละเอียดของสายพันธุ์ราที่เก็บรักษาไว้ที่ ATCC ดูได้จากภาคผนวก จากผลการถ่ายเชื้อจากราที่แยกได้นี้พบว่ามีราบางส่วนที่ไม่สามารถทำการถ่ายเชื้อ (subculture) ได้

ไลเคนนี้มีทั้งที่เป็น saprophyte และ parasite ราเหล่านี้จะมีการเจริญได้รวดเร็วกว่าราที่ก่อให้เกิดไลเคนทำให้มีการเจริญขึ้นมาครอบคลุมพื้นที่ก่อน การใช้วิธีแยกจาก spore discharge ซึ่งจะได้ ascospore จากราที่ก่อให้เกิดไลเคนโดยตรงจึงเป็นวิธีที่ดีกว่า อย่างไรก็ตามปัญหาที่สำคัญของการใช้วิธี spore discharge ก็คือ ascospore มักมีเปอร์เซ็นต์การงอกที่ต่ำ และเส้นใยเหล่านี้บางครั้งก็ไม่มีมีการเจริญต่อ Crittenden (1995) ได้สรุปปัญหาที่ไม่สามารถแยกได้ว่ามาจาก

1. สปอร์ไม่งอก (spore not germinate) 43 %
2. สปอร์ไม่ถูกปล่อยออกมา (spore not discharged) 30%
3. สปอร์งอกแต่ไม่มีการเจริญต่อ (spore germinate but no growth) 19%

นอกจากนี้การแยกราด้วยวิธี spore discharge นี้หากทิ้งตัวอย่าง fruiting body ไว้ในจานเลี้ยงเชื้อนานเกิน 1 สัปดาห์จะพบการเจริญของราจำพวก saprophyte เช่น *Penicillium sp.* หรือ *Trichoderma sp.* ขึ้นมาครอบคลุมตัวอย่าง การแก้ปัญหานี้ Crittenden (Personal communication) ได้แนะนำให้ย้ายจานไปยังอาหารใหม่ทุก 6 ชั่วโมงและตรวจสอบสปอร์บนผิวอาหารเลี้ยงเชื้อภายในเวลา 24 ชั่วโมง เนื่องจาก fruiting body จะปล่อย ascospore ออกมาในช่วง 24 ชั่วโมงแรก

วิธีแยก ascospore อีกวิธีหนึ่งที่คณะผู้วิจัยได้ประสบความสำเร็จในการแยก ascospore ก็คือการ ooze spore วิธีนี้สามารถแยก ascospore ออกมาได้เป็นจำนวนมาก อย่างไรก็ตามวิธีนี้จะใช้ได้ดีกับ fruiting body ที่เป็นรูปถ้วย (disc) เท่านั้น

2.4. การตรวจสอบทางอนุกรมวิธาน เนื่องจากราที่ก่อให้เกิดไลเคนส่วนมากไม่สร้าง fruiting body และ conidia (ใน mitosporic fungi) บนอาหารเลี้ยงเชื้อเช่นในธรรมชาติ หากต้องการตรวจสอบชนิดของรานั้น จึงทำได้ยาก ขณะนี้คณะผู้วิจัยได้ทดลองเปลี่ยนอาหารเลี้ยงเชื้อ และทำการ inoculate เชื้อลงบนท่อนไม้ และกำลังติดตามผล สำหรับการสร้างไลเคนขึ้นมาใหม่นั้น (resynthesis) จากการศึกษาของโดยใช้รา *Peltigera sp.* และ *Lobaria sp.* เป็น mycobiont กับ *Nostoc sp.* เป็น photobiont พบว่าการสร้างอัลลัสที่มีขนาดใหญ่ 7 มม.และการสร้าง rhizine จะใช้เวลานานมากกว่า 2 ปี (Stocker-Worgotter, 1995)

2.5. การเก็บรักษาราที่แยกได้ การเก็บรักษาสายพันธุ์ราที่แยกได้นี้ได้ทำโดยการเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส แล้วทำการถ่ายเชื้อเป็นระยะ เช่นเดียวกันกับในรายงานอื่น ๆ ยังไม่มีรายงานแสดงวิธีที่เหมาะสมในการเก็บรักษาสายพันธุ์ราในกลุ่มนี้ จากรายงานของ Ahmadjian และจากข้อมูลเชื้อของ American Type Culture Collection (ATCC) ซึ่งเป็นศูนย์เก็บสายพันธุ์ราที่ Ahmadjian แยกได้ก็ยังไม่ใช้ วิธีถ่ายเชื้อ (subculture) รายละเอียดของสายพันธุ์ราที่เก็บรักษาไว้ที่ ATCC ดูได้จากภาคผนวก จากผลการถ่ายเชื้อจากราที่แยกได้นี้พบว่ามีบางส่วนที่ไม่สามารถทำการถ่ายเชื้อ (subculture) ได้

แนวทางแก้ไขและข้อเสนอแนะ

เพื่อให้งานวิจัยการแยกราจากไลเคนในครั้งต่อไปมีความสมบูรณ์มากขึ้น การแก้ปัญหาอุปสรรคที่เกิดขึ้นอาจแก้ไขได้โดย

1. ทำการเก็บตัวอย่างไลเคนตลอดปีให้มีความถี่อย่างน้อย 5-6 ครั้งต่อปี
2. เมื่อเก็บตัวอย่างแล้วต้องทำการแยกราโดยเร็ว
3. ใช้เทคนิค single spore isolation เพื่อแยก ascospore ออกมาเป็นสปอร์เดี่ยว ๆ และติดตามการงอกของสปอร์นั้น ๆ
4. ทดสอบหาอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสม
5. ทดลองให้ราสร้างสปอร์ด้วยวิธีการต่าง ๆ เช่น
 - เติม photobiont ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ
 - เติม lichen extract ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ
 - เติม substrate ของไลเคน เช่น กิ่งไม้ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ
 - ปรับอุณหภูมิ แสง ในห้องเลี้ยงเชื้อ
 - ปรับความเป็นกรด-ด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อ
 - ฯลฯ

เอกสารอ้างอิง

- Ahmadjian, V. and M.E. Hale. 1973.** *The Lichens*. Academic Press, New York.
- Ahmadjian, V. 1993.** *The Lichen Symbiosis*. John Wiley & Sons, New York.
- Boonpragob, K., T.H. Nash III, and C.A. Fox. 1989.** Seasonal deposition patterns of acidic ions and ammonium to the lichen *Ramalina menziesii* Tayl, in southern California. *Environ.Exp.Bot.***129**:187-197.
- Boonpragob, K. and T.H. Nash III. 1990.** Seasonal variation of elemental status in the lichen *Ramalina menziesii* Tayl. from two sites in southern California: evidence for dry deposition accumulation. *Environ.Exp.Bot.***30**:415-428.
- Boonpragob, K. and T.H. Nash III. 1991.** Physiological responses of the lichen *Ramalina menziesii* Tayl. to the Los Angeles urban environment *Environ.Exp.Bot.***31**: 229-238.
- Crittenden, P.D. and N. Porter. 1991** Lichen-Forming Fungi: potential sources of novel metabolites. *Trends in Biotech.* **9**:409-414.
- Crittenden, P.D., J.C. David, D.L. Hawksworth and F.S. Campbell. 1995.** Attempted isolation and success in the culturing of a broad spectrum of lichen-forming fungi and lichenicolous fungi. *New Phytol.***130** : 267-297.
- Culberson, C.F. 1979.** *Chemical and botanical guide to lichen products*. Otto Koeltz Science Publishers, Koenigstien.
- Elix, J.A. 1994.** Parmeliaceae, Key to genera in *Flora of Australia Vol.55* Lichens-Lecanorales 2. National Library of Australia Cataloguing in Publication entry.
- Hale, M.E. 1974.** *The biology of lichens*. Edward Arnold, London.

- Hawksworth, D.L. 1983.** *A key to the lichen-forming, parasitic, parasymbiotic and saprophytic fungi occurring on lichens in the British Isles.* The British Lichen Society, London.
- Hawksworth, D.L. and D.J. Hill. 1984.** *The lichen-forming fungi.* Blackie, Glasgow.
- Hawksworth, D.L. 1988.** The Fungal Partner. In Galun, M. ed. *CRC Handbook of Lichenology vol.I.* CRC Press, Florida: 35–38.
- Hawksworth, D.L. 1994.** The recent evolution of lichenology: a science for our times. *Crypt.Bot.* 4:117–129.
- Hawksworth, D.L., P.M. Kirk, B.C. Sutton, and D.N. Pegler. 1995.** *Ainworth & Bisby's Dictionary of the Fungi 8th ed.* CABI.
- Huneck, S. and I. Yoshimura. 1996.** *Identification of Lichen substances.* Springer, Berlin.
- Lawrey, J.D. 1984.** *Biology of Lichenized fungi.* Praeger, New York.
- Lawrey, J.D. 1995.** The chemical ecology of lichen mycoparasites: a review. *Can. J. Bot.* 73(Suppl.1):S603–608.
- Lumbsch, H.T. 1997.** The taxonomic use of metabolic data in lichen forming fungi . In, *Chemical Fungal Taxonomy.* Marcel Dekker. (in press).
- Nash III, T.H. 1996.** *Lichen Biology.* Cambridge University Press, Cambridge.
- Paulson, F.L.S. 1930.** Lichens from Kaw Tao, an island in the gulf Siam. *Journal Siam Society National History Suppl.* Vol.VIII:99–101.
- Petrini, O., U. Hake, and M.M. Dreyfuss. 1990.** An analysis of fungal communities isolated from Fruticose lichens. *Mycologia.* 82(4):444–451.

- Seaward, M.R.D. 1977.** *Lichen Ecology*. Academic Press, London.
- Stocker-Wörgötter, E. 1995.** Experimental cultivation of lichens and lichen symbionts. *Can.J.Bot.* **73**(Suppl.1):S579-589.
- Vainio, E.A. 1909.** Lichenes. *Botanisk tidsskrift.* **29**:104-152.
- Vobis, G. and D.L. Hawksworth. 1981.** Conidial lichen-forming fungi. In, *Biology of Conidial Fungi*, vol I.
- Wolseley, P.A. and B. Aguirre-Hudson. 1995.** Key to Lichen Genera in Thailand with Special Reference to Epiphytic Taxa, Part I: Macrolichens. *Nat.Hist.Bull.Siam.Soc.* **43**: 303-335.
- Yamamoto, Y., R. Mizuguchi and Y. Yamada. 1985.** Tissue Cultures of *Usnea rubescens* and *Ramalina yasudae* and production of usnic acid in their cultures. *Agric. Biol. Chem.* **49**(11):3347-8.
- Yamamoto, Y., Y. Kinoshita, T. Kurokawa, I. Yoshimura, V. Ahmadjian and Y. Yamada. 1995.** Cell growth and pigment production in suspension cultures of a mycobiont from the lichen *Cladonia cristatella*. *Can J. Bot.* **73**(Suppl. 1): S590-4.
- Yoshimura, I. 1978.** Some lichens of Thailand collected by Danish botanists 1958-1968. *Bull. KochiGakuen J. College.* **9**:35-40.

ภาคผนวกที่ 1

ลำดับ(Order) ทั้งหมดของราใน Ascomycota จากการจัดของ Eriksson และ Hawksworth (1993) แบ่งเป็น 46 ลำดับและลำดับของราที่ก่อให้เกิดไลเคนซึ่งพบว่ามีจำนวน 13 ลำดับคือ

- | | |
|--|---|
| 1. Arthoniales (incl. Opegraphales) *. | 2. Caliciales*. |
| 3. Calosphaeriales. | 4. Coryneliales. |
| 5. Cyttariales. | 6. Diaporthales. |
| 7. Diatrypales. | 8. Dothideales*. |
| 9. Elaphomycetales. | 10. Erysiphales. |
| 11. Eurotiales (incl. Ascosphaerales). | 12. Gyalectales*. |
| 13. Halosphaeriales. | 14. Hypocreales. |
| 15. Laboulbenniales. | 16. Lahmiales. |
| 17. Lecanorales*. | 18. Leotiales (syn. Helotiales). |
| 19. Lichinales*. | 20. Medeolariales. |
| 21. Meliolales. | 22. Microascales. |
| 23. Neoelectales. | 24. Onygenales (syn. Gymnoascales). |
| 25. Ophiostomatales. | 26. Ostropales (incl. Graphidales)*. |
| 27. Patellariales (syn. Lecanidiales)*. | 28. Peltigerales*. |
| 29. Pertusariales*. | 30. Pezizales (incl. Glaziellales). |
| 31. Phyllachorales (syn. Polystigmatales). | 32. Pneumocystidiales. |
| 33. Protomycetales. | 34. Pyrenulales*. |
| 35. Rhytismatales. | 36. Sacchromycetales
(syn. Endomycetales). |
| 37. Schizosaccharomycetales. | 38. Sordariales. |
| 39. Spathulosporales. | 40. Taphrinales. |
| 41. Teloschistales*. | 42. Triblidiales. |
| 43. Trichosphaeriales. | 44. Trichotheliales. |
| 45. Verrucariales*. | 46. Xylariales (syn. Sphaeriales). |

* เป็นลำดับที่มี lichen forming fungi อยู่ด้วย

ภาคผนวกที่ 2

สูตรอาหารที่ใช้ในการแยกและเลี้ยงรา

1) Corn Meal Agar (CMA)

Maize	30 g
Agar	20 g
Water	1 l.

นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

2) Potato Dextrose Agar

Potato infusion	200 g
Dextrose	20 g
Agar	20 g
Water	1 l

ปอกเปลือกมันฝรั่งแล้วหั่นให้เป็นชิ้นเล็กๆ ชั่งน้ำหนักตามต้องการ ต้ม 10 นาทีกรองส่วนน้ำมาเติมส่วนผสมอื่น นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

3) Oat Meal Agar (OMA)

Powdered oatmeal	30 g
Agar	20 g
Water	1 l

นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

4) Malt Extract Agar (MEA)

Malt Extract (powder)	20 g
Peptone	1 g
Glucose	20 g
Agar	15 g
Water	1 l

นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

5 Tap Water Agar (WA)

Agar	15 g
Tap water	1 l

นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

ภาคผนวกที่ 3

ตารางที่ 9 แสดงชื่อสกุล ชนิดของไลเคน ลักษณะ ascospore และ ไอโซเลทของราที่แยกด้วยวิธีต่าง ๆ จากการเก็บตัวอย่าง ครั้งที่ 1 (วันที่ 4-10 พ.ย. 2538)

No.	Lichen Taxon	number	Type of thallus	Ascospore characteristics	Isolation method Crushing
1	<i>Anthracotheicum sp.</i>	4818	C	muriform brown	A
2	<i>Anthracotheicum sp.</i>	5262	C	muriform brown	
3	<i>Anthracotheicum sp.</i>	5267	C	muriform brown	
4	<i>Anthracotheicum sp.</i>	5965	C	muriform brown	
5	<i>Anthracotheicum sp.</i>	6175	C	muriform brown	
6	<i>Arthonia pyrrhula</i>	4313	C	transeptate hyaline	A
7	<i>Aspidothelium sp.</i>	4605	C	muriform hyaline	A
8	<i>Aspidothelium sp.</i>	4610	C	muriform hyaline	
9	<i>Aspidothelium sp.</i>	4846	C	muriform hyaline	A
10	<i>Austroblastenia sp.</i>	4486	C	transeptate hyaline	A
11	<i>Bacidia sp.</i>	5481	C	simple hyaline	A
12	<i>Biatora sp.</i>	5499	C	1-septate hyaline	A
13	<i>Buellia sp.</i>	4412	C	1-septate brown	
14	<i>Bulbothrix australiensis</i>	7331	Fo	simple hyaline	A
15	<i>Bulbothrix goebelii</i>	4236	Fo	simple hyaline	
16	<i>Bulbothrix isidiza</i>	4167	Fo	simple hyaline	A
17	<i>Bulbothrix isidiza</i>	6877	Fo	simple hyaline	
18	<i>Bulbothrix subtabacina</i>	6645	Fo	simple hyaline	A
19	<i>Bulbothrix tabacina</i>	4238	Fo	simple hyaline	
20	<i>Byssocaulon sp.</i>	5372	C	simple hyaline	
21	<i>Byssocaulon sp.</i>	7043	C	simple hyaline	
22	<i>Byssoid lichens</i>	6380	Fo	-	A
23	<i>Caloplaca sp.</i>	4269	C	1-septate hyaline	
24	<i>Caloplaca sp.</i>	4937	C	1-septate hyaline	A
25	<i>Candelariella sp.</i>	4895	C	1-septate hyaline	
26	<i>Canoparmelia pustulescens</i>	4461	Fo	simple hyaline	
27	<i>Canoparmelia pustulescens</i>	6617	Fo	simple hyaline	A

ตารางที่ 9 (ต่อ)

No.	Lichen Taxon	number	Type of thallus	Ascospore charecteristics	Isolation method Crushing
28	<i>Carbonia</i> sp.	5807	C	simple hyaline	A
29	<i>Cladonia</i> <i>cenotea</i>	7217	Sq	simple hyaline	
30	<i>Coccocarpia</i> <i>dissecta</i>	6395	Fo	simple hyaline	A
31	<i>Coccocarpia</i> <i>erythroxyli</i>	6595	Fo	simple hyaline	
32	<i>Coccocarpia</i> <i>erythroxyli</i>	6598	Fo	simple hyaline	A
33	<i>Coccocarpia</i> <i>palmicola</i>	4185	Fo	simple hyaline	
34	<i>Coccocarpia</i> <i>palmicola</i>	6405	Fo	simple hyaline	A,B
35	<i>Coccocarpia</i> <i>pellita</i>	4244	Fo	simple hyaline	
36	<i>Cryptothelium</i> sp.	5865	C	muriform hyaline	
37	<i>Cryptothelium</i> sp.	6316	C	muriform hyaline	
38	<i>Cyclographina</i> sp.	4635	C	muriform hyaline	
39	<i>Cyclographina</i> sp.	4665	C	muriform hyaline	
40	<i>Dirinaria</i> <i>applanata</i>	6770	Fo	1-septate brown	
41	<i>Dirinaria</i> <i>applanata</i>	6808	Fo	1-septate brown	A
42	<i>Dirinaria</i> <i>applanata</i>	6968	Fo	1-septate brown	A
43	<i>Dirinaria</i> <i>flava</i>	7171	Fo	1-septate brown	
44	<i>Dirinaria</i> <i>picta</i>	5951	Fo	1-septate brown	A
45	<i>Fuscidia</i> sp.	4688	C	simple hyaline	A
46	<i>Graphina</i> <i>circinalis</i>	5208	C	muriform hyaline	A
47	<i>Graphina</i> <i>mendax</i>	6301	C	muriform hyaline	A
48	<i>Graphina</i> <i>sophisticascens</i>	6393	C	muriform hyaline	A,B
49	<i>Graphina</i> <i>sophisticascens</i>	6479	C	muriform hyaline	A
50	<i>Graphina</i> <i>subnitida</i>	5082	C	muriform hyaline	A
51	<i>Graphina</i> <i>subverginialis fulvescens</i>	5842	C	muriform hyaline	A,B
52	<i>Graphina</i> <i>virginea</i>	6129	C	muriform hyaline	A,B
53	<i>Graphis</i> <i>cettidis</i>	4526	C	transeptate hyaline	A
54	<i>Graphis</i> <i>intertexta</i>	4760	C	transeptate hyaline	
55	<i>Graphis</i> <i>leucopepla</i>	5900	C	transeptate hyaline	A

ตารางที่ 9 (ต่อ)

No.	Lichen Taxon	number	Type of thallus	Ascospore characteristics	Isolation method Crushing
56	<i>Graphis leucopepla</i>	5915	C	transeptate hyaline	
57	<i>Graphis lineola</i>	5091	C	transeptate hyaline	A
58	<i>Graphis nitida</i>	5840	C	transeptate hyaline	
59	<i>Graphis pavoniana</i>	6300	C	transeptate hyaline	A
70	<i>Heterodermia appendiculata</i>	4738	Fo	1-septate brown	A,B
71	<i>Heterodermia appendiculata</i>	5000	Fo	1-septate brown	
72	<i>Heterodermia casarettiana</i>	4223	Fo	1-septate brown	A
73	<i>Heterodermia diademata</i>	4225a	Fo	1-septate brown	A
74	<i>Heterodermia flabellata</i>	4224	Fo	1-septate brown	A
75	<i>Heterodermia isidiophora</i>	7330	Fo	1-septate brown	
76	<i>Heterodermia lepidota</i>	4171	Fo	1-septate brown	A
77	<i>Heterodermia microphylla</i>	4169	Fo	1-septate brown	
78	<i>Heterodermia pseudospeciosa</i>	6879	Fo	1-septate brown	
79	<i>Heterodermia speciosa</i>	4228	Fo	1-septate brown	
80	<i>Hypotrachyna ducalis</i>	6807	Fo	simple hyaline	A
81	<i>Hypotrachyna exsecta</i>	6802	Fo	simple hyaline	A
82	<i>Hypotrachyna osseoalba</i>	4425	Fo	simple hyaline	
83	<i>Hypotrachyna proserpinensis</i>	6860	Fo	simple hyaline	
84	<i>Imshaugia aleurites</i>	4460	Fo	simple hyaline	A
85	<i>Imshaugia aleurites</i>	4467	Fo	simple hyaline	
86	<i>Imshaugia aleurites</i>	4509	Fo	simple hyaline	A
87	<i>Imshaugia aleurites</i>	4757	Fo	simple hyaline	
88	<i>Imshaugia aleurites</i>	4927	Fo	simple hyaline	
89	<i>Imshaugia aleurites</i>	5006	Fo	simple hyaline	A
90	<i>Imshaugia aleurites</i>	5542	Fo	simple hyaline	A
91	<i>Imshaugia aleurites</i>	4459a	Fo	simple hyaline	A,B
92	<i>Laurera sp.</i>	4545	C	muriform hyaline	A
93	<i>Laurera sp.</i>	4965	C	muriform hyaline	

ตารางที่ 9 (ต่อ)

No.	Lichen Taxon	number	Type of thallus	Ascospore characteristics	Isolation method Crushing
94	<i>Laurera sp.</i>	4975	C	muriform hyaline	
95	<i>Laurera sp.</i>	4977	C	muriform hyaline	A
96	<i>Laurera sp.</i>	5238	C	muriform hyaline	A
97	<i>Lecania sp.</i>	4701	C	transeptate hyaline	
98	<i>Lecania sp.</i>	4885	C	transeptate hyaline	
99	<i>Lecanora sp.</i>	4694	C	simple hyaline	A
100	<i>Lecidea sp.</i>	4698	C	simple hyaline	
101	<i>Leptogium asiaticum</i>	4186	Fo	muriform hyaline	
102	<i>Leptogium cyanescens</i>	6473	Fo	muriform hyaline	
103	<i>Leptogium rogersii</i>	5792	Fo	muriform hyaline	A,B
104	<i>Leptogium rogersii</i>	6476	Fo	muriform hyaline	
105	<i>Leptogium sp.</i>	6418	Fo	muriform hyaline	
106	<i>Letrovitia sp.</i>	6532	C	transeptate hyaline	A
107	<i>Maronina sp.</i>	5253	C	simple hyaline	
108	<i>Melanotheca sp.</i>	5214	C	transeptate brown	
109	<i>Melanotheca sp.</i>	6158	C	transeptate brown	
110	<i>Mycoporellum sp.</i>	4418	C	transeptate hyaline	A
111	<i>Mycoporellum sp.</i>	4456	C	transeptate hyaline	
112	<i>Mycoporellum sp.</i>	4540	C	transeptate hyaline	
113	<i>Mycoporellum sp.</i>	4827	C	transeptate hyaline	A
114	<i>Mycoporellum sp.</i>	5217	C	transeptate hyaline	
115	<i>Mycoporellum sp.</i>	5266	C	transeptate hyaline	
116	<i>Mycoporellum sp.</i>	5268	C	transeptate hyaline	
117	<i>Mycoporellum sp.</i>	6173	C	transeptate hyaline	
118	<i>Mycoporopsis sp.</i>	4570	C	transeptate brown	
119	<i>Mycoporum sp.</i>	4576	C	muriform brown	
120	<i>Myriotrema sp.</i>	4839	C	transeptate hyaline	
121	<i>Myriotrema sp.</i>	5365	C	transeptate hyaline	A

ตารางที่ 9 (ต่อ)

No.	Lichen Taxon	number	Type of thallus	Ascospore charecteristics	Isolation method Crushing
122	<i>Myriotrema sp.</i>	5535	C	transeptate hyaline	
123	<i>Myriotrema sp.</i>	6467	C	transeptate hyaline	
124	<i>Ocellularia sp.</i>	4489	C	transeptate hyaline	
125	<i>Ocellularia sp.</i>	4523	C	transeptate hyaline	
126	<i>Ocellularia sp.</i>	4819	C	transeptate hyaline	
127	<i>Ocellularia sp.</i>	5017	C	transeptate hyaline	A
128	<i>Ocellularia sp.</i>	5137	C	transeptate hyaline	A
129	<i>Ocellularia sp.</i>	5258	C	transeptate hyaline	
130	<i>Ocellularia sp.</i>	5362	C	transeptate hyaline	
131	<i>Ocellularia sp.</i>	5367	C	transeptate hyaline	A
132	<i>Ocellularia sp.</i>	5402	C	transeptate hyaline	
133	<i>Ocellularia sp.</i>	5478	C	transeptate hyaline	A
134	<i>Ocellularia sp.</i>	5817	C	transeptate hyaline	A
135	<i>Ochrolechia sp.</i>	5249	C	simple hyaline	A
136	<i>Paraparmelia fumaprotocetrarica</i>	4263	Fo	simple hyaline	A
137	<i>Paraparmelia fumaprotocetrarica</i>	6859	Fo	simple hyaline	A
138	<i>Paraparmelia murina</i>	4168	Fo	simple hyaline	A
139	<i>Parmelinella wallichiana</i>	4651	Fo	simple hyaline	A
140	<i>Parmotrema cooperi</i>	5409	Fo	simple hyaline	A
141	<i>Parmotrema cooperi</i>	7180	Fo	simple hyaline	A
142	<i>Parmotrema cristiferum</i>	6207	Fo	simple hyaline	
143	<i>Parmotrema grayanum</i>	4160	Fo	simple hyaline	A
144	<i>Parmotrema grayanum</i>	4258	Fo	simple hyaline	A
145	<i>Parmotrema judithiae</i>	7055	Fo	simple hyaline	A
146	<i>Parmotrema poolii</i>	7062	Fo	simple hyaline	A
147	<i>Parmotrema preasorediosum</i>	4159	Fo	simple hyaline	
148	<i>Parmotrema queenslandense</i>	6541	Fo	simple hyaline	A,B
149	<i>Parmotrema saccatilobum</i>	4756	Fo	simple hyaline	A

ตารางที่ 9 (ต่อ)

No.	Lichen Taxon	number	Type of thallus	Ascospore characteristics	Isolation method Crushing
150	<i>Parmotrema subarnoldii</i>	7056	Fo	simple hyaline	
151	<i>Parmotrema subarnoldii</i>	7063	Fo	simple hyaline	A
152	<i>Parmotrema tinctorum</i>	4154	Fo	simple hyaline	
153	<i>Parmotrema tinctorum</i>	7179	Fo	simple hyaline	
164	<i>Pertusaria sp.</i>	6322	C	simple hyaline	
165	<i>Phaeographina columbiana</i>	6500	C	muriform brown	A
166	<i>Phaeophyscia endococcinodes</i>	6884	Fo	1-septate brown	
167	<i>Phyllopsora haemophaea</i>	7327	Sq	transeptate hyaline	A,B
168	<i>Phyllopsora sp.</i>	6948	Sq	-	
169	<i>Placynthiella sp.</i>	6425	C	simple hyaline	A
170	<i>Polyblastia sp.</i>	4903	C	muriform hyaline	
171	<i>Polyblastia sp.</i>	4914	C	muriform hyaline	
172	<i>Polyblastia sp.</i>	5995	C	muriform hyaline	
173	<i>Polyblastia sp.</i>	6002	C	muriform hyaline	
174	<i>Porina sp.</i>	5151	C	transeptate hyaline	
175	<i>Pseudopyrenula sp.</i>	5852	C	transeptate hyaline	
176	<i>Pseudopyrenula sp.</i>	5855	C	transeptate hyaline	
177	<i>Pyrenula sp.</i>	4446	C	transeptate brown	
178	<i>Pyrenula sp.</i>	4556	C	transeptate brown	
179	<i>Pyrenula sp.</i>	4979	C	transeptate brown	
180	<i>Pyrenula sp.</i>	5225	C	transeptate brown	
181	<i>Pyrenula sp.</i>	5295	C	transeptate brown	
182	<i>Pyrenula sp.</i>	5823	C	transeptate brown	
183	<i>Pyrenula sp.</i>	5825	C	transeptate brown	
184	<i>Pyrenula sp.</i>	6025	C	transeptate brown	
185	<i>Pyrenula sp.</i>	6032	C	transeptate brown	
186	<i>Pyrenula sp.</i>	6490	C	transeptate brown	
187	<i>Pyrenula sp.</i>	6493	C	transeptate brown	

ตารางที่ 9 (ต่อ)

No.	Lichen Taxon	number	Type of thallus	Ascospore characteristics	Isolation method Crushing
188	<i>Pyrenula</i> sp.	6512	C	transeptate brown	
189	<i>Pyrenula</i> sp.	6942	C	transeptate brown	
190	<i>Pyrenula</i> sp.	7086	C	transeptate brown	
191	<i>Pyrenopeziza</i> sp.	4808	C	simple hyaline	
192	<i>Pyxine berteriana</i>	4993	Fo	1-septate brown	A,B
193	<i>Pyxine coccifera</i>	6766	Fo	1-septate brown	
194	<i>Pyxine endochrysin</i>	6616	Fo	1-septate brown	A
195	<i>Pyxine endochrysin</i>	6868	Fo	1-septate brown	
196	<i>Pyxine</i> sp.	6634	Fo	1-septate brown	A
197	<i>Pyxine</i> sp.	6635	Fo	1-septate brown	
198	<i>Relicinopsis rahengensis</i>	4176	Fo	simple hyaline	
199	<i>Relicinopsis rahengensis</i>	4277	Fo	simple hyaline	
200	<i>Relicinopsis rahengensis</i>	4652	Fo	simple hyaline	A
201	<i>Relicinopsis rahengensis</i>	5941	Fo	simple hyaline	
202	<i>Relicinopsis stevensiae</i>	6965	Fo	simple hyaline	A
203	<i>Rhizoplaca</i> sp.	6698	Sq	simple hyaline	
204	<i>Rhizoplaca</i> sp.	6706	Sq	simple hyaline	
205	<i>Rimelia reticulata</i>	6862	Fo	simple hyaline	A
206	<i>Rimelia reticulata</i>	7182	Fo	simple hyaline	A
207	<i>Sticta</i> sp.	4184	Fo	transeptate hyaline	A,B
208	<i>Thelidium</i> sp.	5072	C	transeptate hyaline	
209	<i>Thelidium</i> sp.	5138	C	transeptate hyaline	A,B
210	<i>Thelidium</i> sp.	7071	C	transeptate hyaline	
211	<i>Thelidium</i> sp.	7342	C	transeptate hyaline	
212	<i>Tomasella</i> sp.	6686	C	Transeptate hyaline	
213	<i>Trapeliopsis</i> sp.	7356	Sq	simple hyaline	
214	<i>Tylothallia</i> sp.	5242	C	simple yhaline	A,B
215	<i>Usnea gigas</i>	70443	Fr	simple hyaline	

ตารางที่ 9 (ต่อ)

No.	Lichen Taxon	number	Type of thallus	Ascospore charecteristics	Isolation method Crushing
216	<i>Usnea gigas</i>	704513	Fr	simple hyaline	A
217	<i>Usnea gigas</i>	704515	Fr	simple hyaline	
218	<i>Usnea perthispidella</i>	7113b	Fr	simple hyaline	
219	<i>Usnea sp.</i>	6605	Fr	simple hyaline	A
220	<i>Verrucaria sp.</i>	5829	C	simple hyaline	
221	<i>Xanthoparmelia exillma</i>	6640	Fo	simple hyaline	A
222	<i>Xanthoparmelia sp.</i>	4229	Fo	simple hyaline	A
223	<i>Xanthoparmelia sp.</i>	6592	Fo	simple hyaline	A
224	<i>Xanthoparmelia sp.</i>	6655	Fo	simple hyaline	A
225	<i>Xanthoparmelia sp.</i>	6773	Fo		
226	<i>Unidentified sp.</i>	4195	Fo	-	A
227	<i>Unidentified sp.</i>	4206	Fo	-	A
228	<i>Unidentified sp.</i>	4209	Fo	-	
229	<i>Unidentified sp.</i>	4262	Fo	-	A,B
230	<i>Unidentified sp.</i>	4505	C	-	
231	<i>Unidentified sp.</i>	5831	C	-	
232	<i>Unidentified sp.</i>	6646	Fo	-	
233	<i>Unidentified sp.</i>	6661	Fo	-	A
234	<i>Unidentified sp.</i>	6797	Fo	-	
235	<i>Unidentified sp.</i>	6856	Sq	-	
236	<i>Unidentified sp.</i>	7293	Fo	-	
237	<i>Unidentified sp.</i>	7294	Fo	-	
238	<i>Unidentified sp.</i>	7295	Fo	-	
239	<i>Unidentified sp.</i>	7321	Sq	-	
240	<i>Unidentified sp.</i>		C	-	A

ตารางที่ 10 แสดงชื่อสกุล ชนิดของไลเคน ลักษณะ ascospore และ ไอโซเลทของราที่แยกด้วยวิธีต่างๆ จากการเก็บตัวอย่าง ครั้งที่ 2 (วันที่ 8-12 พ.ค. 2539)

Lichen Taxon	Sample No.	Repeat No.	No.	Type	Ascospore Characteristics	Nonculture	Isolation Method			Subculture failure
							Medulla	Spore eject	Crushing	
<i>Aspidothelium</i> sp.	61		1	C	muriform hyaline	/				
<i>Bacidia</i> sp.	104		1	C	transeptate hyaline		C	B	A	C
<i>Biatora</i> sp.	2		1	C	1-septate hyaline		A,B			
<i>Biatora</i> sp.	81	82,83,84	4	C	1-septate hyaline			A		
<i>Biatora</i> sp.	82		-	C	1-septate hyaline		A			A
<i>Biatora</i> sp.	83		-	C	1-septate hyaline	/				
<i>Biatora</i> sp.	84		-	C	1-septate hyaline	/				
<i>Biotora</i> sp.	8		1	C	1-septate hyaline		B	A		
<i>Buellia</i> sp.	7		1	C	1-septate brown			A		
<i>Buellia</i> sp.	12		1	C	1-septate brown		B,C,D,G	E,F,H,I	A	
<i>Buellia</i> sp.	22		1	C	1-septate brown	/				
<i>Buellia</i> sp.	71		4	C	1-septate brown	/				
<i>Buellia</i> sp.	72	71,73,74	-	C	1-septate brown			A		
<i>Buellia</i> sp.	73		-	C	1-septate brown			B		
<i>Buellia</i> sp.	74		-	C	1-septate brown			C		
<i>Buellia</i> sp.	85		1	C	1-septate brown		A			A
<i>Bulbothrix isidiza</i>	48	49	2	F	simple hyaline	/				

Lichen Taxon	Sample No.	Repeat No.	No.	Type	Ascospore Characteristics	Nonculture	Isolation Method			Subculture failure
							Medulla	Spore eject	Crushing	
<i>Bulbothrix isidiza</i>	49		-	F	simple hyaline		A			
<i>Bulbothrix subtabacina</i>	39		1	F	simple hyaline		A			
<i>Candelariella sp.</i>	77	78, 79, 94	4	C	simple hyaline			A		A
<i>Candelariella sp.</i>	78		-	C	simple hyaline	/				
<i>Candelariella sp.</i>	79		-	C	simple hyaline		A			
<i>Candelariella sp.</i>	94		-	C	simple hyaline	/				
<i>Coccocarpia palmicola</i>	87		1	F	transeptate hyaline	/				
<i>Coccocarpia pellita</i>	95		1	F	transeptate hyaline		A			
<i>Heterodermia lepidota</i>	16		1	F	1-septate, brown		B		A	B
<i>Laurera sp.</i>	65		1	C	muriform hyaline	/				
<i>Lecania sp.</i>	13	14, 15	3	C	simple hyaline		A			A
<i>Lecania sp.</i>	14		-	C	simple hyaline	/				
<i>Lecania sp.</i>	15		-	C	simple hyaline			A		
<i>Lecania sp.</i>	51	52, 53, 60	4	C	simple hyaline	/				
<i>Lecania sp.</i>	52		-	C	simple hyaline	/				
<i>Lecania sp.</i>	53		-	C	simple hyaline		D	B, C	A	C
<i>Lecania sp.</i>	60		-	C	simple hyaline	/				
<i>Lecania sp.</i>	92	93	2	C	simple hyaline			A		A
<i>Lecania sp.</i>	93		-	C	simple hyaline	/				
<i>Lecanora sp.</i>	3		1	C	simple hyaline		B	A		
<i>Leptogium sp.</i>	98	99	2	F	muriform hyaline	/				

Lichen Taxon	Sample No.	Repeat No.	No.	Type	Ascospore Characteristics	Nonculture	Isolation Method			Subculture failure
							Medulla	Spore eject	Crushing	
<i>Bulbothrix isidiza</i>	49		-	F	simple hyaline		A			
<i>Bulbothrix subtabacina</i>	39		1	F	simple hyaline		A			
<i>Candelariella sp.</i>	77	78, 79, 94	4	C	simple hyaline			A		A
<i>Candelariella sp.</i>	78		-	C	simple hyaline	/				
<i>Candelariella sp.</i>	79		-	C	simple hyaline		A			
<i>Candelariella sp.</i>	94		-	C	simple hyaline	/				
<i>Coccocarpia palmicola</i>	87		1	F	transeptate hyaline	/				
<i>Coccocarpia pellita</i>	95		1	F	transeptate hyaline		A			
<i>Heterodermia lepidota</i>	16		1	F	1-septate, brown		B		A	B
<i>Laurera sp.</i>	65		1	C	muriform hyaline	/				
<i>Lecania sp.</i>	13	14, 15	3	C	simple hyaline		A			A
<i>Lecania sp.</i>	14		-	C	simple hyaline	/				
<i>Lecania sp.</i>	15		-	C	simple hyaline			A		
<i>Lecania sp.</i>	51	52, 53, 60	4	C	simple hyaline	/				
<i>Lecania sp.</i>	52		-	C	simple hyaline	/				
<i>Lecania sp.</i>	53		-	C	simple hyaline		D	B, C	A	C
<i>Lecania sp.</i>	60		-	C	simple hyaline	/				
<i>Lecania sp.</i>	92	93	2	C	simple hyaline			A		A
<i>Lecania sp.</i>	93		-	C	simple hyaline	/				
<i>Lecanora sp.</i>	3		1	C	simple hyaline		B	A		
<i>Leptogium sp.</i>	98	99	2	F	muriform hyaline	/				

Lichen Taxon	Sample No.	Repeat No.	No.	Type	Ascospore Characteristics	Nonculture	Isolation Method			Subculture failure
							Medulla	Spore eject	Crushing	
<i>Leptogium</i> sp.	99		-	F	muriform hyaline	/				
<i>Letroutia</i> sp.	102	103	2	C	muriform hyaline		B	A		B
<i>Letroutia</i> sp.	103		-	C	muriform hyaline	/				
<i>Maronina</i> sp.	35	36	2	C	simple hyaline		A			A
<i>Maronina</i> sp.	36		-	C	simple hyaline		A			
<i>Myriotrema</i> sp.	68	69,70	3	C	muriform hyaline			A		A
<i>Myriotrema</i> sp.	69		-	C	muriform hyaline	/				
<i>Myriotrema</i> sp.	70		-	C	muriform hyaline	/				
<i>Ocellularia</i> sp.	86		1	C	transeptate hyaline			A		
<i>Ocellularia</i> sp.	88	89,90,91	4	C	transeptate hyaline	/				
<i>Ocellularia</i> sp.	89		-	C	transeptate hyaline		A			
<i>Ocellularia</i> sp.	90		-	C	transeptate hyaline	/				
<i>Ocellularia</i> sp.	91		-	C	transeptate hyaline	/				
<i>Ocellularia</i> sp.	101		1	C	transeptate hyaline		B	A		B
<i>Parmotrema poolii</i>	17		1	F	simple hyaline	/				
<i>Parmotrema queenslandense</i>	34		1	F	simple hyaline	/				
<i>Parmotrema queenslandense</i>	80		1	F	simple hyaline		A			
<i>Parmotrema</i> sp.	32		1	F	simple hyaline		A			A
<i>Parmotrema</i> sp.	62	63	2	C	simple hyaline	/				
<i>Parmotrema</i> sp.	63		-	C	simple hyaline	/				
<i>Parmotrema subrugatum</i>	96		1	F	simple hyaline	/				

Lichen Taxon	Sample No.	Repeat No.	No.	Type	Ascospore Characteristics	Nonculture	Isolation Method			Subculture failure
							Medulla	Spore eject	Crushing	
<i>Pertusaria</i> sp.	9		1	C	simple hyaline				A	
<i>Pertusaria</i> sp.	18		1	C	simple hyaline		C		A,B	C
<i>Pertusaria</i> sp.	19		1	C	simple hyaline	/				
<i>Pertusaria</i> sp.	50		1	C	simple hyaline			A,B		
<i>Pertusaria</i> sp.	64		1	C	simple hyaline	/				
<i>Phaeophysia endococinodes</i>	47		1	F	1-septate brown		A,B			A,B
<i>Phyllopsora haemophaea</i>	97		1	F	simple hyaline		A			
<i>Polyblastia</i> sp.	66		1	C	muriform hyaline		A	B		A,B
<i>Polyblastia</i> sp.	100		1	C	muriform hyaline			A		
<i>Protoblastenia</i> sp.	24	25, 27, 28, 30	5	C	simple hyaline			B	A	
<i>Protoblastenia</i> sp.	25		-	C	simple hyaline	/				
<i>Protoblastenia</i> sp.	27		-	C	simple hyaline		A			
<i>Protoblastenia</i> sp.	28		-	C	simple hyaline				A	
<i>Protoblastenia</i> sp.	30		-	C	simple hyaline			A,B		
<i>Protoblastenia</i> sp.	54	55, 56, 57, 58, 59	6	C	simple hyaline	/				
<i>Protoblastenia</i> sp.	55		-	C	simple hyaline	/				
<i>Protoblastenia</i> sp.	56		-	C	simple hyaline	/				
<i>Protoblastenia</i> sp.	57		-	C	simple hyaline	/				
<i>Protoblastenia</i> sp.	58		-	C	simple hyaline	/				
<i>Protoblastenia</i> sp.	59		-	C	simple hyaline			A,B		
<i>Pyrenula</i> sp.	105		1	C	transeptate brown			A,B		

ตารางที่ 10 (ต่อ)

Lichen Taxon	Sample No.	Repeat No.	No.	Type	Ascospore Characteristics	Nonculture	Isolation Method			Subculture failure
							Medulla	Spore eject	Crushing	
<i>Pygidium sp.</i>	20	21,23	3	C	1-septate brown-black	/				
<i>Pygidium sp.</i>	21		-	C	1-septate brown-black		A			A
<i>Pygidium sp.</i>	23		-	C	1-septate brown-black	/				
<i>Pyxine coccifera</i>	26	29	2	F	1-septate brown		A,B	C		
<i>Pyxine coccifera</i>	29		-	F	1-septate brown	/				
<i>Pyxine coccifera</i>	33		1	F	1-septate brown		A			A
<i>Pyxine endochrysin</i>	31		1	F	1-septate brown	/				
<i>Pyxine endochrysin</i>	40	45	2	F	1-septate brown		A,B			
<i>Pyxine endochrysin</i>	45		-	F	1-septate brown	/				
<i>Relicainopsis stevensiae</i>	38		1	F	simple hyaline			D=unk	C	
<i>Sturtonia sp.</i>	67		1	C		/				
<i>Thelenella sp.</i>	4		1	C			A	B		B
<i>Tylothallia sp.</i>	5		1	C	simple hyaline		A			
<i>Tylothallia sp.</i>	6		1	C	simple hyaline	/				
<i>Tylothallia sp.</i>	11		1	C	simple hyaline		C	D,F=unk	A,B	
<i>Tylothallia sp.</i>	75	76	2	C	simple hyaline	/				
<i>Tylothallia sp.</i>	76		-	C	simple hyaline			A		
<i>Xanthoparmelia hyposalazinica</i>	1	10	2	F	simple hyaline		B	A		C=isidia
<i>Xanthoparmelia hyposalazinica</i>	10		-	F	simple hyaline		A			
<i>Xanthoparmelia sp.</i>	41		1	F	simple hyaline		A			
<i>Xanthoparmelia sp.</i>	42		1	F	simple hyaline	/				

ตารางที่ 10 (ต่อ)

Lichen Taxon	Sample No.	Repeat No.	No.	Type	Ascospore Characteristics	Nonculture	Isolation Method			Subculture failure
							Medulla	Spore eject	Crushing	
<i>Xanthoparmelia</i> sp.	46		1	F	simple hyaline	/				
Unidentified sp.	37		1	F			A			A
Unidentified sp.	43		1	Sq		/				
Unidentified sp.	44		1	F			A	B,C		

ตารางที่ 11 แสดงข้อมูลชนิดของไลเคน ลักษณะ ascospore และ ไอโซเลทของราที่แยกด้วยวิธีต่างๆ จากการเก็บตัวอย่าง ครั้งที่ 3
 (วันที่ 8-12 พ.ค. 2539)

Lichen Taxon	Type	Sample	Ascospore Characteristics	Isolation Method				Subculture failure
				Spore Eject	Crushing	Medulla	Tissue	Ooze
<i>Biatora sp.</i>	C	19	1-septate hyaline	A				
<i>Biatora sp.</i>	C	25	1-septate hyaline	A				
<i>Biatora sp.</i>	C	73	1-septate brown	-	-	-	-	-
<i>Cladonia capitellata</i>	Sq	77	simple hyaline				A,B,C	
<i>Cladonia crispata</i>	Sq	76	simple hyaline				A,B,C	
<i>Cladonia floerkeana</i>	Sq	75	simple hyaline		D,E		A,B,C	
<i>Cladonia staufferi</i>	Sq	78	simple hyaline				A,B	
<i>Coccocarpia adnata</i>	Fo	63	simple hyaline	-	-	-	-	-
<i>Coccocarpia adnata</i>	Fo	64	simple hyaline	-	-	-	-	-
<i>Coccocarpia adnata</i>	Fo	65	simple hyaline		A			A
<i>Coccocarpia adnata</i>	Fo	66	simple hyaline		A,B			
<i>Coccocarpia adnata</i>	Fo	67	simple hyaline	-	-	-	-	-
<i>Coccocarpia dissecta</i>	Fo	1	simple hyaline				A,B	
<i>Coccocarpia dissecta</i>	Fo	2	simple hyaline				A,B	
<i>Coccocarpia pellita</i>	Fo	27	simple hyaline				A,B	
<i>Coccocarpia pellita</i>	Fo	28	simple hyaline				A,B	
<i>Cyphelium sp.</i>	C	62	1-septate brown	-	-	-	-	-
<i>Graphis eulectra</i>	C	32	transeptate hyaline		A,B,C			

Lichen Taxon	Type	Sample	Ascospore Characteristics	Isolation Method					Subculture failure
				Spore Eject	Crushing	Medulla	Tissue	Ooze	
<i>Graphis eulectra</i>	C	33	transeptate hyaline		A,B				
<i>Graphis eulectra</i>	C	34	transeptate hyaline		A,B				
<i>Graphis eulectra</i>	C	35	transeptate hyaline		A				
<i>Graphis scripta limitata</i>	C	11	transeptate hyaline		A				
<i>Graphis scripta limitata</i>	C	12	transeptate hyaline		A,B				
<i>Heterodermia lepidota</i>	Fo	41	1-septate brown		A,B				
<i>Heterodermia lepidota</i>	Fo	42	1-septate brown		A				A
<i>Heterodermia lepidota</i>	Fo	43	1-septate brown		A,B				
<i>Heterodermia lepidota</i>	Fo	44	1-septate brown		A				
<i>Heterodermia lepidota</i>	Fo	45	1-septate brown		A,B				
<i>Heterodermia lepidota</i>	Fo	95	1-septate brown		A,B,C,D			E,F	
<i>Heterodermia lepidota</i>	Fo	96	1-septate brown					A	A
<i>Heterodermia lepidota</i>	Fo	97	1-septate brown		A,B,D			C,E,F,G,H	
<i>Heterodermia lepidota</i>	Fo	98	1-septate brown		A				
<i>Heterodermia lepidota</i>	Fo	99	1-septate brown		A				A
<i>Heterodermia lepidota</i>	Fo	100	1-septate brown		A				
<i>Heterodermia lepidota</i>	Fo	101	1-septate brown		A				
<i>Laurera sp.</i>	C	57	muriform hyaline	-	-	-	-	-	-
<i>Laurera sp.</i>	C	58	muriform hyaline		A				A
<i>Lecania sp.</i>	C	23	1-septate hyaline		A				A
<i>Lecania sp.</i>	C	24	1-septate hyaline	C	A,B				
<i>Lecanora sp.</i>	C	14	simple hyaline	A					
<i>Lecanora sp.</i>	C	15	simple hyaline	A					

Lichen Taxon	Type	Sample	Ascospore Characteristics	Isolation Method					Subculture failure
				Spore Eject	Crushing	Medulla	Tissue	Ooze	
<i>Lecanora</i> sp.	C	16	simple hyaline	B,A	-				
<i>Lecanora</i> sp.	C	71	simple hyaline	-	-	-	-	-	
<i>Lecanora</i> sp.	C	103	simple hyaline	-	-	-	-	-	-
<i>Lecidea</i> sp.	C	10	simple hyaline	B	A				-
<i>Leptogium californicum</i>	Fo	26	muriform hyaline				A,B		
<i>Leptogium coralloideum</i>	Fo	17	muriform hyaline	D			A,B,C		
<i>Parmotrema grayanum</i>	Fo	92	simple hyaline	-	-	-	-	-	-
<i>Parmotrema cooperi</i>	Fo	110	simple hyaline	-	-	-	-	-	-
<i>Parmotrema</i> sp.	Fo	31	simple hyaline		A,B				
<i>Parmotrema</i> sp.	Fo	36	simple hyaline		F		A,B,C,D,E	G,H	
<i>Parmotrema</i> sp.	Fo	37	simple hyaline		A				A
<i>Parmotrema</i> sp.	Fo	38	simple hyaline			A			
<i>Parmotrema</i> sp.	Fo	39	simple hyaline	-	-	-	-	-	-
<i>Parmotrema</i> sp.	Fo	40	simple hyaline		A				A
<i>Parmotrema</i> sp.	Fo	49	simple hyaline		A				
<i>Parmotrema</i> sp.	Fo	59	simple hyaline	-	-	-	-	-	-
<i>Parmotrema</i> sp.	Fo	80	simple hyaline		A				
<i>Parmotrema</i> sp.	Fo	81	simple hyaline		A				
<i>Parmotrema</i> sp.	Fo	82	simple hyaline						
<i>Parmotrema</i> sp.	Fo	83	simple hyaline		A,B,C			D,E,F	
<i>Parmotrema</i> sp.	Fo	84	simple hyaline						
<i>Parmotrema</i> sp.	Fo	85	simple hyaline	-	-	-	-	-	-
<i>Parmotrema</i> sp.	Fo	86	simple hyaline					A,B	

ตารางที่ 11 (ต่อ)

Lichen Taxon	Type	Sample	Ascospore Characteristics	Isolation Method					Subculture failure
				Spore Eject	Crushing	Medulla	Tissue	Ooze	
<i>Lecanora sp.</i>	C	16	simple hyaline	B,A					
<i>Lecanora sp.</i>	C	71	simple hyaline	-	-	-	-	-	-
<i>Lecanora sp.</i>	C	103	simple hyaline	-	-	-	-	-	-
<i>Lecidea sp.</i>	C	10	simple hyaline	B	A				
<i>Leptogium californicum</i>	Fo	26	muriform hyaline				A,B		
<i>Leptogium coralloideum</i>	Fo	17	muriform hyaline	D			A,B,C		
<i>Parmotrema grayanum</i>	Fo	92	simple hyaline	-	-	-	-	-	-
<i>Parmotrema cooperi</i>	Fo	110	simple hyaline	-	-	-	-	-	-
<i>Parmotrema sp.</i>	Fo	31	simple hyaline		A,B				
<i>Parmotrema sp.</i>	Fo	36	simple hyaline		F		A,B,C,D,E	G,H	
<i>Parmotrema sp.</i>	Fo	37	simple hyaline		A				A
<i>Parmotrema sp.</i>	Fo	38	simple hyaline			A			
<i>Parmotrema sp.</i>	Fo	39	simple hyaline	-	-	-	-	-	-
<i>Parmotrema sp.</i>	Fo	40	simple hyaline		A				A
<i>Parmotrema sp.</i>	Fo	49	simple hyaline		A				
<i>Parmotrema sp.</i>	Fo	59	simple hyaline	-	-	-	-	-	-
<i>Parmotrema sp.</i>	Fo	80	simple hyaline		A				
<i>Parmotrema sp.</i>	Fo	81	simple hyaline		A				
<i>Parmotrema sp.</i>	Fo	82	simple hyaline						
<i>Parmotrema sp.</i>	Fo	83	simple hyaline		A,B,C			D,E,F	
<i>Parmotrema sp.</i>	Fo	84	simple hyaline						
<i>Parmotrema sp.</i>	Fo	85	simple hyaline	-	-	-	-	-	-
<i>Parmotrema sp.</i>	Fo	86	simple hyaline					A,B	

Lichen Taxon	Type	Sample	Ascospore Characteristics	Isolation Method					Subculture failure
				Spore Eject *	Crushing	Medulla	Tissue	Ooze	
<i>Schistoschoron sp.</i>	C	51	transeptate brown		A,B				
<i>Schistoschoron sp.</i>	C	52	transeptate brown		A				
<i>Schistoschoron sp.</i>	C	53	transeptate brown		A				
<i>Schistoschoron sp.</i>	C	54	transeptate brown		A,B				
<i>Schistoschoron sp.</i>	C	55	transeptate brown		A				
<i>Usnea bicolorata</i>	Fr	79	simple hyaline				A,B		
<i>Usnea complanata</i>	Fr	94	simple hyaline				A,B		
<i>Usnea complanata</i>	Fr	106	simple hyaline				A,B,C,D		
<i>Usnea leptosa</i>	Fr	105	simple hyaline				A,B		B
<i>Usnea solediosula</i>	Fr	107	simple hyaline				A,B,C,D,E		
<i>Usnea solediosula</i>	Fr	108	simple hyaline				A,B		
<i>Usnea solediosula</i>	Fr	111	simple hyaline						
<i>Xanthoparmelia boonahensis</i>	Fo	46	simple hyaline		A,B				
<i>Xanthoparmelia boonahensis</i>	Fo	47	simple hyaline		A,B				
<i>Xanthoparmelia boonahensis</i>	Fo	48	simple hyaline	-	-	-	-	-	-
<i>Xanthoparmelia hymii</i>	Fo	68	simple hyaline		A				
<i>Xanthoparmelia sp.</i>	Fo	74	simple hyaline		A				A
Unidentified sp.	C	18			A				A
Unidentified sp.	C	21			A				A
Unidentified sp.	C	22			A,B				A
Unidentified sp.	Fo	50		-	-	-	-	-	-
Unidentified sp.	Sq	60			A,B				
Unidentified sp.	Sq	61			A				

ตารางที่ 11 (ต่อ)

Lichen Taxon	Type	Sample	Ascospore Characteristics	Isolation Method					Subculture failure
				Spore Eject	Crushing	Medulla	Tissue	Ooze	
<i>Parmotrema</i> sp.	Fo	87	simple hyaline		A				
<i>Parmotrema</i> sp.	Fo	88	simple hyaline		A				
<i>Parmotrema</i> sp.	Fo	89	simple hyaline	-	-	-	-	-	-
<i>Parmotrema</i> sp.	Fo	90	simple hyaline	-	-	-	-	-	-
<i>Parmotrema</i> sp.	Fo	91	simple hyaline		A				
<i>Parmotrema</i> sp.	Fo	93	simple hyaline	-	-	-	-	-	-
<i>Parmotrema subarnoldii</i>	Fo	29	simple hyaline			A			
<i>Parmotrema subarnoldii</i>	Fo	30	simple hyaline			A			A
<i>Parmotrema tinctorum</i>	Fo	109	simple hyaline	-	-	-	-	-	-
<i>Phaeographina caesiopruiosa</i>	C	20	1-septate hyaline		A				
<i>Placynthiella</i> sp.	C	4	simple hyaline	B	A				
<i>Placynthiella</i> sp.	C	5	simple hyaline		A				A
<i>Placynthiella</i> sp.	C	6	simple hyaline		A				A
<i>Placynthiella</i> sp.	C	7	simple hyaline	A					
<i>Placynthiella</i> sp.	C	8	simple hyaline	B	A				
<i>Placynthiella</i> sp.	C	13	simple hyaline	A					
<i>Porina</i> sp.	C	9	transeptate hyaline		A ₁ B ₁ C				
<i>Pyrenula</i> sp.	C	3	transeptate hyaline		A				
<i>Pyxine berteriana</i>	Fo	104	1-septate brown		A ₁ B				
<i>Pyxine coccifera</i>	Fo	72	1-septate brown		A ₁ B				A
<i>Pyxine obscurascens</i>	Fo	69	1-septate brown		A ₁ B				
<i>Relicinaopsis rahengensis</i>	Fo	56	simple hyaline		A				A
<i>Rimelia reticulata</i>	Fo	102	simple hyaline	A					A

ตารางที่ 11 (ต่อ)

Lichen Taxon	Type	Sample	Ascospore Characteristics	Isolation Method					Subculture failure
				Spore Eject *	Crushing	Medulla	Tissue	Ooze	
Unidentified sp.		70		-	-	-	-	-	-

คำอธิบายตารางที่ 9, 10 และ 11
Lichen Taxon คือ ชื่อและสกุลของไลเคน
Sample No. คือหมายเลขตัวอย่างที่ใช้แยก
Ascospore Characteristics แสดงลักษณะ ascospore ที่พบ
Repeat No. คือตัวอย่างไลเคนที่ชื่อสกุลซ้ำกัน
No. คือจำนวนชื่อและสกุลไลเคนที่ซ้ำกัน
Type ชนิดของไลเคน C = Crustose lichen, F or Fo = Foliose lichen, Fr = fruticose lichen, Sq = Squamulose lichen
Noneulture หมายถึงตัวอย่างที่ไม่สามารถแยกเราได้
Isolation method แสดงไอโซเลทที่แยกด้วยวิธีต่าง ๆ ตามวิธีในข้อ 2.7 ตามลำดับตัวอักษร, - แสดงว่าเป็นตัวอย่างที่ไม่ได้ทำการแยก
Subculture failure หมายถึงตัวอย่างที่แยกแล้วไม่สามารถ subculture ต่อได้

ภาคผนวกที่ 4

รายชื่อของราที่ก่อให้เกิดไลเคน ที่ได้รวบรวมไว้ ณ

American Type Culture Collection (ATCC)

.HEADLINE

Acarospora fuscata (Schrad.) Arnaud
ATCC 18249

.TEXT

V. Ahmadjian strain Auburn 1. Polyspore isolate. Lichen symbiont.
Growth Conditions: Medium 382 18-20C
Shipped: Test tube allow 2 months for delivery.
Price Code: W

.HEADLINE

Acarospora smaragdula (Wahlenberg : Acharius) Massee
ATCC 18250

.TEXT

V. Ahmadjian strain Auburn 7. Polyspore isolate. Lichen symbiont.
Growth Conditions: Medium 382 18-20C
Shipped: Test tube allow 2 months for delivery.
Price Code: W

.HEADLINE

Anaptychia ciliaris (Linnaeus) Korber
ATCC 18251

.TEXT

V. Ahmadjian Sw.37. Polyspore isolate. Lichen symbiont.
Growth Conditions: Medium 382 18-20C
Shipped: Test tube, allow 3 months for delivery.
Price Code: W

.HEADLINE

Anthracotheceum albescens (Nylander) Muller-Argov
ATCC 18252

.TEXT

V. Ahmadjian HAW.39. Polyspore isolate. Lichen symbiont.
Growth Conditions: Medium 382 18-21C
Shipped: Test tube, allow 2 months for delivery.
Price Code: W

.HEADLINE

Arthonia cinnabarina (De Candolle) Wallroth
ATCC 18253

.TEXT

V. Ahmadjian HAW.71. Polyspore isolate. Lichen symbiont.
Growth Conditions: Medium 382 18-21C
Shipped: Test tube, allow 2 months for delivery.
Price Code: W

.HEADLINE

Bacidia incompta (Borrer ex Hooker) Anzi
ATCC 18254

.TEXT

V. Ahmadjian HAW.34. Polyspore isolate. Lichen symbiont.
Growth Conditions: Medium 382 18C
Shipped: Test tube, allow 2 months for delivery.

.HEADLINE

Backusella circina Ellis et Hesselatine

ATCC 18878

.TEXT

J.J. Ellis. [NRRL 2446] Florida soil consisting mostly of lichen.

Type culture (Mycologia 61: 863-872, 1969). Plus strain.

Growth Conditions: Medium 336 24C

Shipped: Freeze-dried.

Price Code: C

.HEADLINE

Baeomyces roseus Persoon

ATCC 18255

.TEXT

V. Ahmadjian. Polyspore isolate. Lichen symbiont.

Growth Conditions: Medium 382 18C

Shipped: Test tube, allow 2 months for delivery.

Price Code: W

.HEADLINE

Buellia punctata var. *polyspora* (Willey) Vainio

ATCC 18256

.TEXT

V. Ahmadjian. Polyspore isolate. Lichen symbiont.

Growth Conditions: Medium 306 24C

Shipped: Test tube, allow 2 months for delivery.

Price Code: W

.HEADLINE

Buellia stillingiana J. Steiner

ATCC 18257

.TEXT

V. Ahmadjian. Polyspore isolate. Lichen symbiont.

Growth Conditions: Medium 382 18C

Shipped: Test tube, allow 2 months for delivery.

Price Code: W

.HEADLINE

Caloplaca aurantiaca (Lightfoot) Fries

ATCC 18258

.TEXT

V. Ahmadjian Sw.268. Polyspore isolate. Lichen symbiont.

Growth Conditions: Medium 382 18C

Shipped: Test tube, allow 2 months for delivery.

Price Code: W

.HEADLINE

Candelariella vitellina (Ehrhart) Muller-Argov

ATCC 18268

.TEXT

V. Ahmadjian. Polyspore isolate. Lichen symbiont.

Growth Conditions: Medium 382 18C

Shipped: Test tube, allow 2 months for delivery.

Price Code: W

.HEADLINE

Cetraria islandica (Linnaeus) Acharius
ATCC 18269

.TEXT

V. Ahmadjian. Polyspore isolate. Lichen symbiont.
Growth Conditions: Medium 382 18C
Shipped: Test tube, allow 2 months for delivery.
Price Code: W

.HEADLINE

Cladonia bellidiflora (Acharius) Schaerer
ATCC 18270

.TEXT

V. Ahmadjian Sw.232. Polyspore isolate. Lichen symbiont.
Growth Conditions: Medium 382 18C
Shipped: Test tube, allow 2 months for delivery.
Price Code: W

.HEADLINE

Cladonia cristatella Tuckerman
ATCC 18271

.TEXT

V. Ahmadjian. Polyspore isolate. Lichen symbiont.
Growth Conditions: Medium 382 18C
Shipped: Test tube, allow 2 months for delivery.
Price Code: W

.HEADLINE

Cladonia gracilis (Linnaeus) Willdenow
ATCC 18272

.TEXT

V. Ahmadjian Sw.9. Polyspore isolate. Lichen symbiont.
Growth Conditions: Medium 382 18C
Shipped: Test tube, allow 2 months for delivery.
Price Code: W

.HEADLINE

Cladonia nemoxya (Acharius) Nylander
ATCC 18273

.TEXT

V. Ahmadjian. Polyspore isolate. Lichen symbiont.
Growth Conditions: Medium 382 18C
Shipped: Test tube, allow 2 months for delivery.
Price Code: W

.HEADLINE

Cladonia piedmontensis Merrill
ATCC 18274

.TEXT

V. Ahmadjian. Polyspore isolate. Lichen symbiont.
Growth Conditions: Medium 382 18C
Shipped: Test tube, allow 2 months for delivery.
Price Code: W

.HEADLINE

Cladonia rangiferina Wiggers
ATCC 18275

.TEXT

V. Ahmadjian Sw.252. Polyspore isolate. Lichen symbiont.
Growth Conditions: Medium 382 18C
Shipped: Test tube, allow 2 months for delivery.
Price Code: W

.HEADLINE

Cladonia subtenuis (des Abbayes) Evans
ATCC 18276

.TEXT

V. Ahmadjian. Polyspore isolate. Lichen symbiont.
Growth Conditions: Medium 382 18C
Shipped: Test tube, allow 2 months for delivery.
Price Code: W

.HEADLINE

Dermatocarpon fluviatile (G. Weber) T. Fries
ATCC 18277

.TEXT

V. Ahmadjian. Polyspore isolate. Lichen symbiont.
Growth Conditions: Medium 382 18C
Shipped: Test tube, allow 2 months for delivery.
Price Code: W

.HEADLINE

Graphis tenella Acharius
ATCC 18290

.TEXT

V. Ahmadjian HAW.65. Polyspore isolate. Lichen symbiont.
Growth Conditions: Medium 382 18C
Shipped: Test tube, allow 2 months for delivery.
Price Code: W

.HEADLINE

Lecanora cinerea (Linnaeus) Sommerfelt
ATCC 18292

.TEXT

V. Ahmadjian. Polyspore isolate. Lichen symbiont.
Growth Conditions: Medium 382 18C
Shipped: Test tube, allow 2 months for delivery.
Price Code: W

.HEADLINE

Lecanora dispersa (Persoon) Sommerfelt
ATCC 18293

.TEXT

V. Ahmadjian. Polyspore isolate. Lichen symbiont.
Growth Conditions: Medium 382 18C
Shipped: Test tube, allow 2 months for delivery.

.HEADLINE

Lecanora rubina (Villars) Acharius

ATCC 18294

.TEXT

V. Ahmadjian. Polyspore isolate. Lichen symbiont.

Growth Conditions: Medium 382 18C

Shipped: Test tube, allow 2 months for delivery.

Price Code: W

.HEADLINE

Lecidea crustulata (Acharius) Sprengel

ATCC 18297

.TEXT

V. Ahmadjian. Polyspore isolate. Lichen symbiont.

Growth Conditions: Medium 382 18C

Shipped: Test tube, allow 2 months for delivery.

Price Code: W

.HEADLINE

Lecidea erratica Korber

ATCC 18299

.TEXT

V. Ahmadjian SW.71. Polyspore isolate. Lichen symbiont.

Growth Conditions: Medium 382 18C

Shipped: Test tube, allow 2 months for delivery.

Price Code: W

.HEADLINE

Lecidea sp.

ATCC 18296

.TEXT

V. Ahmadjian. Polyspore isolate. Lichen symbiont.

Growth Conditions: Medium 382 18C

Shipped: Test tube, allow 2 months for delivery.

Price Code: W

.HEADLINE

Microthelia albidella Muller-Argov

ATCC 18340

.TEXT

V. Ahmadjian HAW.64. Polyspore isolate. Lichen symbiont.

Growth Conditions: Medium 382 18C

Shipped: Test tube, allow 2 months for delivery.

Price Code: W

.HEADLINE

Opegrapha lichenoides Persoon

ATCC 18341

.TEXT

V. Ahmadjian Sw.78. Polyspore isolate. Lichen symbiont.

Growth Conditions: Medium 382 18C

Shipped: Test tube, allow 2 months for delivery.

.HEADLINE

Parmelia centrifuga (Linnaeus) Acharius

ATCC 18342

.TEXT

V. Ahmadjian Sw.161. Polyspore isolate. Lichen symbiont.

Growth Conditions: Medium 382 18C

Shipped: Test tube, allow 2 months for delivery.

Price Code: W

.HEADLINE

Parmelia conspersa (Acharius) Acharius

ATCC 18343

.TEXT

V. Ahmadjian. Polyspore isolate. Lichen symbiont.

Growth Conditions: Medium 382 18C

Shipped: Test tube, allow 2 months for delivery.

Price Code: W

.HEADLINE

Physcia millegrana Degelius

ATCC 18346

.TEXT

V. Ahmadjian. Polyspore isolate. Lichen symbiont.

Growth Conditions: Medium 382 18C

Shipped: Test tube, allow 2 months for delivery.

Price Code: W

.HEADLINE

Physcia stellaris (Linnaeus) Nylander

ATCC 18347

.TEXT

V. Ahmadjian. Polyspore isolate. Lichen symbiont.

Growth Conditions: Medium 382 18C

Shipped: Test tube, allow 2 months for delivery.

Price Code: W

.HEADLINE

Porina sandwichensis Magnus

ATCC 18348

.TEXT

V. Ahmadjian HAW.67. Oahu, HI; polyspore isolate. Lichen symbiont.

Growth Conditions: Medium 382 18C

Shipped: Test tube, allow 2 months for delivery.

Price Code: W

Revised: May 1994

.HEADLINE

Pyrenula nitida (Weigelt) Acharius

ATCC 18369

.TEXT

V. Ahmadjian. Polyspore isolate. Lichen symbiont.

Growth Conditions: Medium 382 18C

Shipped: Test tube, allow 2 months for delivery.
Price Code: W

.HEADLINE

Ramalina americana Magnus
ATCC 18370

.TEXT

V. Ahmadjian. Brookefield, MA; polypore isolate. Lichen symbiont.

Growth Conditions: Medium 382 18C

Shipped: Test tube, allow 2 months for delivery.

Price Code: W

Revised: May 1994

.HEADLINE

Sarcogyne simplex Nylander
ATCC 18372

.TEXT

V. Ahmadjian. Polypore isolate. Lichen symbiont.

Growth Conditions: Medium 382 18C

Shipped: Test tube, allow 2 months for delivery.

Price Code: W

.HEADLINE

Stereocaulon vulcani (Borg) Acharius
ATCC 18374

.TEXT

V. Ahmadjian HAW.202. Hawaii. Polypore isolate. Lichen symbiont.

Growth Conditions: Medium 382 18C

Shipped: Test tube, allow 2 months for delivery.

Price Code: W

Revised: April 1994

.HEADLINE

Usnea florida (Linnaeus) Wiggers
ATCC 18376

.TEXT

V. Ahmadjian. Polypore isolate. Lichen symbiont.

Growth Conditions: Medium 382 18C

Shipped: Test tube, allow 2 months for delivery.

Price Code: W

.HEADLINE

Xanthoria parietina (Linnaeus) Fries
ATCC 18377

.TEXT

V. Ahmadjian. Polypore isolate. Lichen symbiont.

Growth Conditions: Medium 382 18C

Shipped: Test tube, allow 2 months for delivery.

Price Code: W