การทดสอบฤทธิ์ต่อต้านจุลชีพจากสารสกัดหยาบเอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีทซึ่งคัดแยกจากพืชสมุนไพรไทย

ANTIMICROBIAL ACTIVITY FROM CRUDE EXTRACT OF ENDOPHYTIC ACTINOMYCETES ISOLATED FROM THAI MEDICINAL PLANTS

กัญญาวีร์ รุ่งรัตนกุล

กาญจน์สุภา แสนคาร

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปีการศึกษา 2560

ANTIMICROBIAL ACTIVITY FROM CRUDE EXTRACT OF ENDOPHYTIC ACTINOMYCETES ISOLATED FROM THAI MEDICINAL PLANTS

KANYAVEE RUNGRATANAKUL

KANSUPHA SAENKARN

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF

THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE

(INDUSTRIAL MICROBIOLOGY)

DEPARTMENT OF BIOLOGY , FACULTY OF SCIENCE

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ACADEMIC YEAR 2017

หัวข้อโครงงานพิเศษ การทดสอบฤทธิ์ต่อต้านจุลชีพจากสารสกัดหยาบเอนโดไฟติก แอคติโนมัยสีทซึ่งคัดแยกจากพืชสมุนไพรไทย

Antimicrobial Activity from Crude Extract of Endophytic Actinomycetes Isolated from Thai Medicinal Plants

ชื่อนักศึกษา นางสาวกัญญาวีร์ รุ่งรัตนกุล รหัสนักศึกษา 57050797

นางสาวกาญจน์สุภา แสนคาร รหัสนักศึกษา 57050799

ปริญญา วิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)

ภาควิชา ชีววิทยา

ปีการศึกษา 2560

อาจารย์ที่ปรึกษา ดร.วิภาวี เดชติศักดิ์

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง(สจล.) อนุมัติให้โครงงานพิเศษเล่มนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม) ประจำปีการศึกษา 2560

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
รศ.ดร.จิตติ ท่าไว ประธานกรรมการ	
ผศ.ดร.โชคชัย กิตติวงศ์วัฒนา กรรมการ	
ดร.วิภาวี เดชติศักดิ์ กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา	

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ การทดสอบฤทธิ์ต่อต้านจุลชีพจากสารสกัดหยาบเอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีทซึ่งคัดแยกจากพืชสมุนไพรไทย

ชื่อนักศึกษา นางสาวกัญญาวีร์ รุ่งรัตนกุล รหัสนักศึกษา 57050797

นางสาวกาญจน์สุภา แสนคาร รหัสนักศึกษา 57050799

ปริญญา วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม

ภาควิชา ชีววิทยา

คณะ วิทยาศาสตร์

ปีการศึกษา 2560

อาจารย์ที่ปรึกษา ดร.วิภาวี เดชติศักดิ์

บทคัดย่อ

การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อคัดแยกเชื้อเอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีทจากกระเทียม และทำการทดสอบฤทธิ์ต้านจุลชีพเบื้องต้นของเชื้อเอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีทต่อเชื้อก่อโรค 7 ชนิด ได้แก่ *Escherichia coli* ATCC25922, *Staphylococcus aureus* ATCC25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC28753, *Bacillus subtilis* ATCC6633, Methicillin resistance *Staphylococcus aureus* (MRSA), *Candida albicans* ATCC10231 and *Micrococcus luteus* ATCC25923 หลังจากฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธี Surface sterilization ผู้วิจัยพบว่าสามารถคัดแยกเชื้อเอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีทจากกระเทียมได้ทั้งหมด 65 ไอโซเลท หลังจากนั้นจึงทำการจัดกลุ่มเชื้อเอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีทได้ 5 กลุ่ม โดยดูจากผลฤทธิ์ต้านจุลชีพเบื้องต้นและลักษณะทางสัณฐานวิทยา จากนั้นนำตัวแทนในแต่ละกลุ่มมาทดสอบฤทธิ์ต้านจุลชีพของสารสกัดหยาบจากเอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีทโดยวิธี agar disc diffusion และพบว่ามีเพียง 3 จาก 5 ไอโซเลท ที่สามารถยับยั้งเชื้อก่อโรคบางชนิดได้ ได้แก่ ไอโซเลท R63 แสดงบริเวณยับยั้งเชื้อ *C. albicans* และ *M.luteus* 7 และ 6 มิลลิเมตร ที่ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบที่ 500 µg/ml ตามลำดับ ไอโซเลท L5 แสดงบริเวณยับยั้งเชื้อ MRSA 8 มิลลิเมตร ที่ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบที่ 1000 µg/ml และไอโซเลท R50 แสดงบริเวณยับยั้งเชื้อ *S.aureus* 7 มิลลิเมตร ที่ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบที่ 500 µg/ml แสดงบริเวณยับยั้งเชื้อ MRSA 8 มิลลิเมตร ที่ความเข้มข้น 1000 µg/ml และแสดงบริเวณยับยั้งเชื้อ *M.luteus* 7 มิลลิเมตร ที่ความเข้มข้น 500 µg/ml จากการศึกษาครั้งนี้สรุปได้ว่า เชื้อเอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีทจากกระเทียม มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกเป็นส่วนใหญ่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำสำคัญ : เอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีท, การทดสอบฤทธิ์เบื้องต้น , กระเทียม , Agar disc diffusion ฤทธิ์ต้านจุลชีพ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title	Antimicrobial activity from crude extract of endophytic actinomycetes isolated from Thai medicinal plants
Students	Miss. Kanyavee Rungratanakul Student ID 57050797
	Miss. Kansupha Saenkarn Student ID 57050799
Degree	Bachelor of Science (Industrial Microbiology)
Department	Biology
Faculty	Science
Academic Year	2017
Advisor	Dr. Wipawee Dejtisakdi

Abstract

The objective of this study is to isolate endophytic actinomycetes from *Allium sativum* and do primary antimicrobial activity screening of those endophytic actinomycetes against to 7 pathogens, *Escherichia coli* ATCC25922, *Staphylococcus aureus* ATCC25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC28753, *Bacillus subtilis* ATCC6633, Methicillin resistance *Staphylococcus aureus* (MRSA), *Candida albicans* ATCC10231 and *Micrococcus luteus* ATCC25923. After surface sterilization, we isolated endophytic actinomycetes and got a total of 65 isolates of endophytic actinomycetes from *Allium sativum*. After that we were grouping those endophytic actinomycetes into 5 groups by using primary screening of antimicrobial activity and morphology results. We then used a representative in each group to test antimicrobial activity by using agar disc diffusion with endophytic actinomycetes crude extracts and found that only 3 out of 5 isolates were able to inhibit some pathogens. To illustrate, R63 was able to inhibit *C. albicans* and *M. luteus* with the concentration of crude extract at 500 µg/ml by showing the inhibition zone at 7 mm and 6 mm, respectively, L5 was able to inhibit MRSA with the concentration of crude extract at 1000 µg/ml by showing the inhibition zone at 8 mm and R50 was able to inhibit *S. aureus* with the concentration of crude extract at 500 µg/ml by showing the inhibition zone at 7 mm, MRSA with the concentration of crude extract at 1000 µg/ml by showing the inhibition zone at 8 mm and *M. luteus* with the concentration of crude extract at 500 µg/ml by showing the

เอกสารนี้เป็นทรัพย์สินของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ห้ามนำไปใช้ในการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น

inhibition zone at 7 mm. From this study, we concluded that some endophytic actinomycetes isolated from *Allium* plant could inhibit some gram-positive bacteria.

Keywords : Endophytic Actinomycetes , Primary screening , *Allium sativum* , Agar disc diffusion , Antimicrobial activity

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

การศึกษาโครงงานพิเศษนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดีเนื่องจากได้รับการสนับสนุนและช่วยเหลือจากบุคลากรหลายๆฝ่าย ที่ได้มีความกรุณาชี้แนะแนวทางให้คำแนะนำต่างๆ รวมทั้งยังช่วยเหลือแก้ไขและตรวจทานโครงงานพิเศษฉบับนี้ให้เสร็จสมบูรณ์ ตลอดจนอำนวยความสะดวกในการให้ยืมเครื่องมือ อุปกรณ์ในการทำการทดลองต่างๆ ซึ่งสะดวกและเป็นประโยชน์ในการทำงานในครั้งนี้

ขอขอบพระคุณอาจารย์ที่ปรึกษา ดร.วิภาวี เดชติศักดิ์ ที่ให้คำปรึกษาที่เป็นประโยชน์ต่อการศึกษาโครงงานพิเศษนี้ รวมถึงการแนะนำและช่วยแก้ไขปัญหาที่เกิดขึ้นในระหว่างการทำโครงงาน รวมทั้งได้ตรวจทานและแก้ไขโครงงานพิเศษเล่มนี้ให้ถูกต้องและสมบูรณ์ และขอขอบคุณ รศ.ดร.จิตติ ท่าไว ประธานกรรมการ และ ผศ.ดร.โชคชัย กิตติวงศ์วัฒนา กรรมการ ที่สละเวลามาตรวจสอบพิจารณาโครงงานพิเศษ รวมถึงให้คำปรึกษาและคำแนะนำที่เป็นประโยชน์เพิ่มเติมในการปฏิบัติงาน

ขอขอบพระคุณอาจารย์ทุกท่านที่ได้ให้ความรู้ที่สามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการทำโครงงานพิเศษนี้ และขอขอบคุณเจ้าหน้าที่นักวิทยาศาสตร์ห้องปฏิบัติการอาคารวิทย์เก่าและเจ้าหน้าที่ดูแลอาคาร ที่ให้ความอนุเคราะห์ช่วยเหลือในการเบิกสารเคมี อุปกรณ์ และเครื่องมือการทดลอง รวมทั้งการขอใช้สถานที่ในการทำงานวิจัยครั้งนี้

ขอขอบพระคุณบิดา มารดา และครอบครัว ที่ให้โอกาสได้มาศึกษาเล่าเรียน ทั้งยังคอยสนับสนุนเป็นแรงผลักดันและเป็นกำลังใจที่สำคัญเสมอมา และขอขอบคุณเพื่อนๆรวมถึงบุคคลอื่นๆที่มิได้กล่าว ณ ที่นี้ ที่เป็นกำลังใจและให้ความช่วยเหลือตลอดมา จนทำให้โครงงานพิเศษนี้สำเร็จสมบูรณ์ไปได้ด้วยดี

กัญญาวีร์ รุ่งรัตนกุล

กาญจน์สุภา แสนคาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....ค
กิตติกรรมประกาศ.....จ
สารบัญ.....ฉ
สารบัญตาราง.....ฌ
สารบัญรูป.....ฎ
บทที่ 1 บทนำ.....1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของงานวิจัย.....1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย.....2
1.3 ขอบเขตของการดำเนินงาน.....3
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....3
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....4
2.1 แอคติโนมัยสีท.....4
2.1.1 ลักษณะโคโลนีของแอคติโนมัยสีท.....5
2.1.2 ลักษณะเส้นใยของแอคติโนมัยสีท.....6
2.1.3 สปอร์ของแอคติโนมัยสีท.....7
2.1.4 ลักษณะการเจริญของแอคติโนมัยสีท.....11
2.1.5 สภาวะการเจริญของแอคติโนมัยสีท.....12
2.1.6 เอนโดไฟติคแอคติโนมัยสีท.....13
2.1.7 สเตรปโตมัยซีส.....14
2.1.8 นิเวศวิทยาของ Streptomycetes.....14
2.1.9 บทบาทและความสำคัญของแอคติโนมัยสีท.....16
2.2 พืชสมุนไพรไทย.....19

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

2.2.1 ต้นกระเทียม..19
2.2.1.1 ลักษณะทางพฤษศาสตร์ของกระเทียม..19
2.2.1.2 สรรพคุณและประโยชน์ของกระเทียม..20
2.2.2 ยี่หร่า..21
2.2.2.1 ลักษณะทางพฤษศาสตร์ของยี่หร่า..22
2.2.2.2 สรรพคุณและประโยชน์ของยี่หร่า..22
2.2.3 ฟ้าทะลายโจร..23
2.2.3.1 ลักษณะทางพฤษศาสตร์ของฟ้าทะลายโจร..24
2.2.3.2 สรรพคุณและประโยชน์ของฟ้าทะลายโจร..24
2.3 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง..26
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย..29
3.1 สารเคมี..29
3.1.1 สารเคมีสำหรับฟอกฆ่าเชื้อ..29
3.1.2 สารเคมีที่ใช้ในการทดสอบฤทธิ์ต้านจุลชีพ..29
3.2 อาหารเลี้ยงเชื้อ..29
3.3 พืชสมุนไพร..29
3.4 เชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ..29
3.5 อุปกรณ์และเครื่องมือต่างๆ..30
3.6 ขั้นตอนในการดำเนินงาน..30
3.6.1 การเตรียมตัวอย่างพืช..30
3.6.2 การฟอกฆ่าเชื้อพืชตัวอย่าง..30
3.6.3 การบ่มและการคัดแยกเชื้อเอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีท..31
3.6.4 การทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ โดยวิธี Primary screening..32
3.6.5 การศึกษาลักษณะทางฟีโนไทป์และจัดจำแนกกลุ่มของเชื้อ เอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีท..33

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.6.6 การเพาะเลี้ยงเชื้อเอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีทที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อทดสอบเพื่อนำไปสกัดให้ได้สารสกัดหยาบ....34
3.6.7 การทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์โดยวิธี Agar disc diffusion....34
บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล....36
4.1 ผลการคัดแยกเชื้อเอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีทจากพืชสมุนไพรตัวอย่าง....36
4.2 ผลการทดสอบความสามารถเบื้องต้นในการยับยั้งการเจริญของเชื้อทดสอบ....38
4.3 ผลการศึกษาลักษณะทางฟีโนไทป์ของเอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีท....54
4.4 ความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ที่นำมาใช้ทดสอบโดยวิธี Agar disc diffusion....68
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ....73
เอกสารอ้างอิง....75
ภาคผนวก
ภาคผนวก ก....80
ภาคผนวก ข....81
ภาคผนวก ค....82
ภาคผนวก ง....92

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

4.1 แสดงจำนวนไอโซเลทที่งหมดของเอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีทที่แยกได้จากพืชสมุนไพร....36
4.2 แสดงผลการทดสอบเชื้อเอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีทเบื้องต้นของฟ้าทะลายโจร กลุ่มที่ 1....38
4.3 แสดงผลการทดสอบเชื้อเอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีทเบื้องต้นของฟ้าทะลายโจร กลุ่มที่ 2....39
4.4 แสดงผลการทดสอบเชื้อเอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีทเบื้องต้นของฟ้าทะลายโจร กลุ่มที่ 3....40
4.5 แสดงผลการทดสอบเชื้อเอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีทเบื้องต้นของฟ้าทะลายโจร กลุ่มที่ 4....41
4.6 แสดงผลการทดสอบเชื้อเอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีทเบื้องต้นของยี่หร่ากลุ่มที่ 5....42
4.7 แสดงผลการทดสอบเชื้อเอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีทเบื้องต้นของยี่หร่ากลุ่มที่ 6....43
4.8 แสดงผลการทดสอบเชื้อเอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีทเบื้องต้นของยี่หร่ากลุ่มที่ 7....44
4.9 แสดงผลการทดสอบเชื้อเอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีทเบื้องต้นของยี่หร่ากลุ่มที่ 8....45
4.10 แสดงความสามารถเบื้องต้นของเอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีทจากยี่หราและฟ้าทะลายโจรต่อการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ....46
4.11 แสดงผลการทดสอบเชื้อเอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีทเบื้องต้นของกระเทียมกลุ่มที่ 1....47
4.12 แสดงผลการทดสอบเชื้อเอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีทเบื้องต้นของกระเทียมกลุ่มที่ 2....49
4.13 แสดงผลการทดสอบเชื้อเอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีทเบื้องต้นของกระเทียมกลุ่มที่ 3....50
4.14 แสดงผลการทดสอบเชื้อเอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีทเบื้องต้นของกระเทียมกลุ่มที่ 4....51
4.15 แสดงผลการทดสอบเชื้อเอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีทเบื้องต้นของกระเทียมกลุ่มที่ 5....52
4.16 แสดงความสามารถเบื้องต้นของเอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีทจากกระเทียมต่อการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ....53
4.17 แสดงบริเวณการยับยั้งเชื้อทดสอบของสารสกัดหยาบไอโซเลท R63....68

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ **หน้า**

4.18 แสดงบริเวณการยับยั้งเชื้อทดสอบของสารสกัดหยาบไอโซเลท L5.....69

4.19 แสดงบริเวณการยับยั้งเชื้อทดสอบของสารสกัดหยาบไอโซเลท R50.....70

4.20 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของเชื้อเอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีท
ต่อการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบทั้ง 7 ชนิด ด้วยวิธี Agar disc diffusion.....71

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่ หน้า

2.1 แสดงลักษณะโคโลนีของแอคติโนมัยสีท....4
2.2 ขั้นตอนการสร้างโคโลนีของแอคติโนแบคทีเรียบนอาหารแข็ง....5
2.3 การสร้างสปอร์เดี่ยวของแอคติโนมัยสีท....8
2.4 ลักษณะสปอร์เป็นสายคู่และสายสั้น....9
2.5 รูปทรงของอับสปอร์ที่เจริญบนสายใยอาหาร....10
2.6 รูปทรงของอับสปอร์ที่เจริญบนสายใยอากาศ....11
2.7 แสดงลักษณะของต้นและหัวกระเทียม....19
2.8 แสดงลักษณะของใบยี่หร่า....21
2.9 แสดงลักษณะของใบฟ้าทะลายโจร....23
3.1 แสดงวิธีการคัดแยกเชื้อเอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีท....31
3.2 แสดงวิธีการ cross streak เพื่อแยกเชื้อแอคติโนมัยสีทที่เป็นโคโลนีเดี่ยวให้บริสุทธิ์....32
3.3 แสดงวิธีการ Primary screening....33
4.1 แสดงการเกิดบริเวณการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบของไอโซเลท APR 2.1....38
4.2 แสดงการเกิดบริเวณการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบของไอโซเลท APR 2.15....39
4.3 แสดงการเกิดบริเวณการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบของไอโซเลท APR 2.12....40
4.4 แสดงการเกิดบริเวณการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบของไอโซเลท APR 2.16....41
4.5 แสดงการเกิดบริเวณการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบของไอโซเลท CMR 1.35....42
4.6 แสดงการเกิดบริเวณการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบของไอโซเลท CMR 1.58....43
4.7 แสดงการเกิดบริเวณการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบของไอโซเลท CMR 1.38....44
4.8 แสดงการเกิดบริเวณการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบของไอโซเลท CMR 1.42....45
4.9 แสดงการเกิดบริเวณการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบของไอโซเลท R63....48
4.10 แสดงการเกิดบริเวณการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบของไอโซเลท R39....49
4.11 แสดงการเกิดบริเวณการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบของไอโซเลท R5....50
4.12 แสดงการเกิดบริเวณการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบของไอโซเลท L5....51
4.13 แสดงการเกิดบริเวณการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบของไอโซเลท R50....52

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่ หน้า

4.14 แสดงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของไอโซเลท APR 2.1.....55
4.15 แสดงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของไอโซเลท APR 2.15.....56
4.16 แสดงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของไอโซเลท APR 2.12.....57
4.17 แสดงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของไอโซเลท APR 2.16.....58
4.18 แสดงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของไอโซเลท CMR 1.35.....59
4.19 แสดงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของไอโซเลท CMR 1.58.....60
4.20 แสดงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของไอโซเลท CMR 1.38.....61
4.21 แสดงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของไอโซเลท CMR 1.42.....62
4.22 แสดงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของไอโซเลท R63.....63
4.23 แสดงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของไอโซเลท R39.....64
4.24 แสดงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของไอโซเลท R5.....65
4.25 แสดงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของไอโซเลท L5.....66
4.26 แสดงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของไอโซเลท R50.....67
4.27 แสดงบริเวณการยับยั้งเชื้อทดสอบของสารสกัดหยาบไอโซเลท R63.....68
4.28 แสดงบริเวณการยับยั้งเชื้อทดสอบของสารสกัดหยาบไอโซเลท L5.....69
4.29 แสดงบริเวณการยับยั้งเชื้อทดสอบของสารสกัดหยาบไอโซเลท R50.....70

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของงานวิจัย

แอคติโนมัยสีท (actinomycete) เป็นแบคทีเรียแกรมบวก จัดอยู่ในอันดับ *Actinomycetales* ประกอบด้วย 8 วงศ์ ได้แก่ *Actinomycertaceae, Mycobacteriaceae, Frankiaceae, Actinoplanaceae, Dermatophilaceae, Micromonosporaceae, Streptomycetaceae* และ *Nocardiaceae* (Kalakoutshi and Agre, 1976)ลักษณะเฉพาะคือ มีการสร้างเส้นใย (hyphae) ทั้งเส้นใยใต้ผิวอาหาร (substrate mycelium) และเส้นใยเหนือผิวอาหาร (aerial mycelium) ได้ ในจีโนมของแอคติโนแบคทีเรียจะมีปริมาณของเบสกัวนีนกับไซโตซีน (G+C) สูงประมาณ 55 – 78 โมลเปอร์เซนต์ อีกทั้งพบว่าเชื้อกลุ่มนี้ส่วนมากสามารถสร้างรงควัตถุสีต่างๆได้ เช่น ขาว เทา เขียว เหลือง ส้ม แดง น้ำตาล ชมพู ม่วง และสีดำ (สุจิตกัลยา, 2560) โดยส่วนใหญ่เป็นพวกที่ต้องการออกซิเจนในการเจริญ มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่หลากหลาย ทั้งเป็นทรงกลม ท่อน และเป็นเส้นสายคล้ายเชื้อราที่มีการแตกแขนง และมีการแตกหักของเส้นใยเพื่อสร้างสปอร์ ซึ่งมีสมบัติเป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพหลายชนิด เช่น สารปฏิชีวนะต่อต้านแบคทีเรีย เชื้อรา เป็นสารต่อต้านมะเร็ง สารกดระบบภูมิคุ้มกัน สารฆ่าแมลง และสารปราบวัชพืช เป็นต้น (Goodfellow *et al.*, 1988)

ประเทศไทยนับว่าเป็นเป็นประเทศที่มีความหลากหลายของพืชสมุนไพร ในการศึกษาครั้งนี้จึงได้ทำการทดสอบฤทธิ์เบื้องต้นของไอโซเลทเชื้อเอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีทที่ได้จากพืชสมุนไพร 2 ชนิด คือ ฟ้าทะลายโจร *(Andrographis paniculata)* และยี่หร่า (*Cuminum cyminum*) และคัดแยกเชื้อเอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีทจาก กระเทียม (*Allium sativum*) ซึ่งกระเทียมมีสรรพคุณในการช่วยฆ่าเชื้อในลำไส้ รักษาอาการท้องเสีย ท้องร่วง แก้โรคผิวหนัง รักษากลาก เกลื้อน และช่วยป้องกันการติดเชื้อ ต้านแผลอักเสบ (วิลาวัลย์, 2535) มีรายงานการวิจัยศึกษาฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคในคนจากสารสกัดกระเทียม หอมแดง และพริกแห้งคั่ว พบว่าสารสกัดหยาบจากกระเทียมความเข้มข้นเพียง 20% ทำให้เกิดโซนใสใน *B. subtilis*, *B. cereus* และ *S. aureus* มากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดชนิดอื่น ชี้ให้เห็นว่าสารสกัดจากกระเทียมมีประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรียทั้ง 3 ชนิดได้ดี (สุนิดา และคณะ, 2557) สารออกฤทธิ์ที่สำคัญของกระเทียมส่วนใหญ่อยู่ในรูปน้ำมันหอมระเหย มีสารอินทรีย์กำมะถันเป็นองค์ประกอบจึงทำให้มีกลิ่นฉุนเฉพาะตัว ได้แก่ diallyl disulphide และ allylpropyl disulphide ซึ่งมีฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้หลายชนิดอย่างมี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประสิทธิภาพ คือ มีฤทธิ์เป็นยาปฏิชีวนะ นอกจากนี้ยังมีไกลโคซายด์ allyin (Sallyl-L-cystein sulfoxide) เมื่อนำมาสับหรือตำให้เซลล์กระเทียมแตกหรือฉีกขาด เอนไซม์ allinase จะเปลี่ยน allyin ให้เป็น allicin ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นน้ำมันไม่มีสีที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียแกรมลบหลายตัวได้ดีกว่า allyin เช่น *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus vulgaris*, *Corynebacterium diptheriae*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Shigella dysenteriae* นอกจากนี้ยังมีฤทธิ์ต้านไวรัสและพยาธิบางชนิด เมื่อนำกระเทียมไปหมักกับน้ำมันพืชจะได้อนุพันธ์ของ allicin ได้แก่ ajoene ที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโต ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย เชื้อรา และยับยั้งการสร้างสารพิษ aflatoxin ได้ (วิศิษณ์, มปป.; Ankri and Mirelman, 1999; Yoshida *et.al*., 1987; Cortes-Jorge, 2000)

ดังนั้น ในการศึกษาครั้งนี้จึงได้ทำการคัดแยกเชื้อเอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีทหลังจากฟอกฆ่าเชื้อ ด้วยวิธี Surface Sterilization และคัดแยกเชื้อบนอาหาร Starch casein agar โดยวิธี spread plate จากนั้นเมื่อได้เชื้อเอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีทบริสุทธิ์แล้วจึงนำไปทดสอบฤทธิ์เบื้องต้น ด้วยวิธี Primary screening โดยนำไปทดสอบฤทธิ์ต่อต้านเชื้อกับจุลินทรีย์ทดสอบทั้งหมด 7 ชนิด ได้แก่ *Escherichia coli* ATCC25922, *Staphylococcus aureus* ATCC25923 , *Pseudomonas aeruginosa* ATCC28753, *Bacillus subtilis* ATCC6633, Methicillin resistance *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* ATCC10231 และ *Micrococcus luteus* ATCC25923 ซึ่งผู้วิจัยคาดหวังว่าจะได้สายพันธุ์ของเอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีทใหม่ๆ ที่สามารถนำไปต่อยอดในการผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ เพื่อใช้ประโยชน์ทางด้านการแพทย์และอุตสาหกรรมยาต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1.2.1 เพื่อคัดแยกเชื้อเอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีทจากต้นกระเทียม (*Allium sativum*)

1.2.2 เพื่อศึกษาคุณสมบัติฤทธิ์ทางชีวภาพของเชื้อเอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีทที่มีความสามารถในการต้านการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบก่อโรคทั้งหมด 7 ตัว คือ *Escherichia coli* ATCC25922, *Staphylococcus aureus* ATCC25923 , *Pseudomonas aeruginosa* ATCC28753, *Bacillus subtilis* ATCC6633, Methicillin resistance *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* ATCC10231 และ *Micrococcus luteus* ATCC25923

1.2.3 เพื่อศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาเบื้องต้นของเชื้อเอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีท

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

คัดแยกเชื้อเอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีทจาก ต้นกระเทียม (*Allium sativum*) โดยการนำตัวอย่างพืชมา ใช้ส่วนประกอบของพืช คือ ราก ลำต้น และใบ จากนั้นทำการฟอกฆ่าเชื้อที่บริเวณพื้นผิว (Surface sterilization) ด้วยการล้างด้วยน้ำประปา เพื่อชะล้างคราบดินออก และทำการฟอกฆ่าเชื้อ จากนั้นนำส่วนของพืชมาบดและนำสารละลายมา spread ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ ต่อมา 3-5 วันจึงทำการคัดแยกเชื้อเอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีทจนได้โคโลนีเดี่ยวโดยทำให้บริสุทธิ์ จากนั้นเลี้ยงเชื้อให้บริสุทธิ์บนอาหาร ISP2 เพื่อทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์เบื้องต้น (Primary screen) ของเชื้อเอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีทที่มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบได้ และทำการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพจากสารสกัดหยาบของเชื้อเอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีทด้วยวิธี Agar disc diffusion โดยใช้เชื้อทดสอบทั้ง 7 ชนิด ได้แก่ *Bacillus subtilis* ATCC6633 , *Escherichia coli* ATCC25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Candida albicans* ATCC10231, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 28753, *Micrococcus luteus* ATCC25923 และ Methicillin resistance *Staphylococcus aureus* (MRSA)

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 เรียนรู้เทคนิคการคัดแยกเชื้อเอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีทจากตัวอย่างพืช เช่น การฟอกฆ่าเชื้อ การแยกเชื้อให้บริสุทธิ์ เทคนิค spread plate รวมถึงเทคนิคการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อและการเลี้ยงเชื้อแอคติโนมัยสีท

1.4.2 ทราบถึงฤทธิ์ทางชีวภาพของเชื้อเอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีทที่แยกได้จากตัวอย่างพืช ที่มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคทั้งหมด 7 ชนิดจากการนำมาทำการทดสอบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

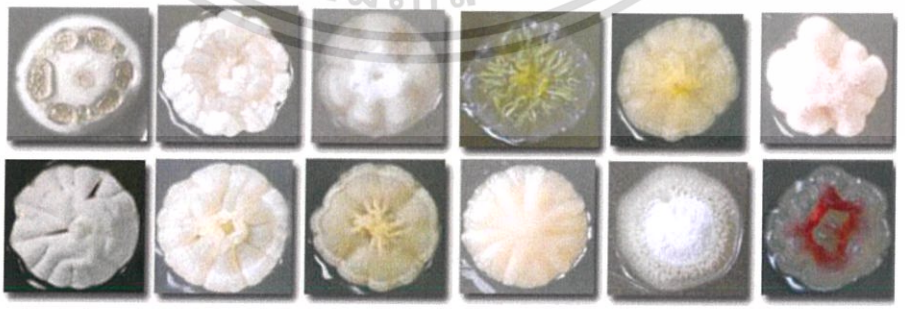
บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 แอคติโนมัยสีท (Actinomycetes)

แอคติโนมัยสีทเป็นแบคทีเรียแกรมบวก จัดอยู่ในคลาส *Actinobateria* ในซับคลาส *Actinobacteridae* และถูกจัดไว้อยู่ในอันดับ *Actinomycetales* ปัจจุบันมีสมาชิกมากกว่า 40 วงศ์ และมากกว่า 200 สกุล แอคติโนมัยสีทแตกต่างจากแบคทีเรียแกรมบวกทั่วไป คือ มีปริมาณของเบสกัวนีนและไซโตซีนสูง ประมาณ 57-75 mol% (Dhananjeyan, Selvan and Dhanapal, 2010; Naikpatil and Rathod, 2011)

แอคติโนมัยสีทมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาคล้ายเชื้อรา คือมี mycelium แตกกิ่งก้านและสามารถสร้างสปอร์ไม่อาศัยเพศที่เรียกว่า conidiospore หรือ conidia และ sporangiospore อยู่ใน sporangium ลักษณะที่แตกต่างจากราที่สำคัญของแอคติโนมัยสีท คือ ไม่มีเยื่อหุ้มนิวเคลียสซึ่งจัดเป็นเซลล์โปรคาริโอต และขนาดของเส้นใยมีขนาดเล็กกว่ารา ซึ่งมีเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5-1.0 ไมโครเมตร ลักษณะของโคโลนีที่พบบนอาหารเลี้ยงเชื้อพบว่า โคโลนีเกาะแน่นและมีลักษณะจมอยู่ในอาหาร โคโลนีคล้ายผงหรือฝุ่นแป้ง หยาบ ขุรขระคล้ายหนังสัตว์ บางชนิดอาจมีการสร้างรงควัตถุสีต่างๆ ส่วนการเจริญของเส้นใยสามารถเจริญไปเป็นเส้นใยที่สัมผัสกับอากาศเรียกว่า aerial mycelium และมีส่วนที่เป็นเส้นใยเจริญลงไปในอาหารเลี้ยงเชื้อเรียกว่า substrate mycelium ช่วงระยะเวลาที่ใช้ในการเจริญหรือช่วงอายุจะยาวนานกว่าแบคทีเรียมาก แอคติโนมัยสีทจึงเจริญได้อย่างช้า ๆ อันเป็นลักษณะสำคัญประการหนึ่งของแอคติโนมัยสีท จากลักษณะทางสัณฐานวิทยาสามารถนำมาใช้เป็นลักษณะสำคัญในการจำแนกหมวดหมู่ของแอคติโนมัยสีทได้ (Martin, 1961)



รูปที่ 2.1 แสดงลักษณะโคโลนีของแอคติโนมัยสีท

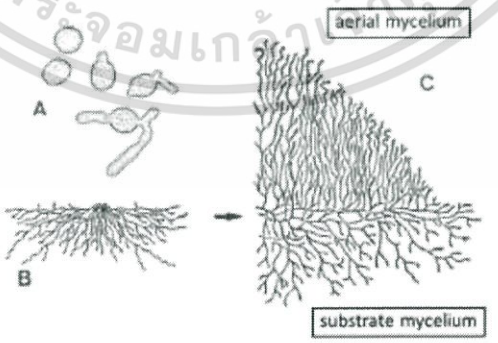
ที่มา : http://muou.sc.mahidol.ac.th/research_th_wpstrep.html

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.1 ลักษณะโคโลนีของแอคติโนมัยสีท

โคโลนีของแอคติโนมัยสีทเกิดจากการรวมกันของกลุ่มเส้นใย มีลักษณะแตกต่างจากโคโลนีของแบคทีเรีย เนื่องจากโคโลนีของแบคทีเรียเกิดจากเซลล์เดียวหรือกลุ่มเซลล์ที่มีลักษณะเหมือนกัน แต่โคโลนีของแอคติโนมัยสีทเกิดจากการรวมกันของเส้นใยเป็นกลุ่มเส้นใยที่มีความหนาแน่น การเจริญของโคโลนีเริ่มจากการที่หัวเชื้อเจริญในปริมาณที่พอเหมาะบนอาหารเลี้ยงเชื้อ หัวเชื้ออาจมาจากสปอร์เดี่ยว อับสปอร์ ส่วนที่แตกหักของเส้นใยหรือจากส่วนของโคโลนีที่มีอายุมากและจะพัฒนาเป็นสายใยอาหาร เมื่อสายใยอาหารเจริญเต็มที่ในแนวตั้งจะแทงผ่านอาหารขึ้นมาเป็นสายใยอากาศ และจะมีการเปลี่ยนแปลงลักษณะของโคโลนี เช่น การสร้างสปอร์ เส้นใยจะเริ่มแบ่งตัวเริ่มจากการสร้างผนังกั้นภายใน โดยทั่วไปเส้นใยมีผนังกั้นชั้นเดียวเพื่อความคงตัวและสร้างเป็นเส้นใยแข็ง ความแตกต่างของสายใยอาหารและสายใยอากาศจึงนำมาใช้เป็นหลักในการแยกชนิดของโคโลนี เช่น กรณีของ *Streptomyces* มีทั้งสายใยอาหารและสายใยอากาศเป็นโครงสร้างหลักของโคโลนี ใน *Micromonospora* และ *Actinoplanes* ไม่มีสายใยอากาศ และยังพบว่า *Sporichthya* จะมีวงชีวิตที่สมบูรณ์เมื่อมีการสร้างสายใยอากาศสั้นๆ

โคโลนีของแอคติโนมัยสีทอาจฟู (Raised) หรือเรียบแบน (Flat) บางครั้งปกคลุมด้วยชั้นมีลักษณะ คล้ายหนัง (Leather) ลักษณะอาจมีตั้งแต่นุ่มมาก เหนียว จนถึงแข็งมาก สีของโคโลนี เช่น ขาว เหลือง ส้ม ชมพู แดง ม่วง ฟ้า เขียว น้ำตาล และดำ พื้นผิวของโคโลนีมีลักษณะเรียบ (Smooth) นูน (Ridged) ขรุขระ (Rough) เป็นรอยย่น (Wrinkled) เป็นเม็ดเล็ก (Granular) เป็นผง (Powder) หรือเป็นเกล็ด (Squamous) ขนาดของโคโลนีขึ้นอยู่กับ สปีชีส์ อายุ และสภาวะในการเจริญเติบโต เส้นผ่าศูนย์กลางของโคโลนีมีความแตกต่างตั้งแต่หน่วยมิลลิเมตรจนถึงเซนติเมตร (สายพิณ, 2550)



รูปที่ 2.2 ขั้นตอนการสร้างโคโลนีของแอคติโนแบคทีเรียบนอาหารแข็ง

A: อับสปอร์มีการพัฒนาเป็นเส้นใย B: สายใยอาหารเจริญแทงผ่านลงไปในอาหาร (substrate mycelium) C: เส้นใยเจริญเหนืออาหารและมีการสร้างสปอร์ (aerial mycelium)

ที่มา: Atlas of Actinomycetes (1997)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.2 ลักษณะเส้นใย (Mycelium) ของแอคติโนมัยสีท

โคโลนีของแอคติโนมัยสีทจะมีสายใย 2 แบบ คือ สายใยอาหาร (Substrate mycelium) และสายใยอากาศ (Aerial mycelium) ซึ่งจะแสดงลักษณะและหน้าที่ทางชีววิทยาที่แตกต่างกัน โดยทั่วไปแอคติโนมัยสีทจะมีการสร้างสายใยทั้ง 2 แบบ แต่บางชนิดสร้างเฉพาะสายใยอาหารปกติ ไม่พบผนังกั้นเซลล์ภายในสายใย อาจพบได้ในช่วงแรกของกระบวนการแตกหักเป็นชิ้น (Fragmentation) ของสายใย โครงสร้างภายในสายใยที่แสดงว่าแอคติโนมัยสีทเป็นโปรคาริโอต ประกอบด้วย ผนังเซลล์ซึ่งหนาประมาณ 10-20 นาโนเมตร ภายในเยื่อหุ้มเซลล์ ประกอบด้วยไซโทพลาสซึม ซึ่งมีบริเวณของสายดีเอ็นเอ ไรโบโซม และสารต่างๆที่สะสมภายในเซลล์ เช่น Polyphosphates, Lipids หรือ Polysaccharides มีเยื่อหุ้มเซลล์ห่อหุ้มไซโตพลาสซึม และเยื่อหุ้มเซลล์บางส่วนบริเวณที่ติดกับผนังเซลล์สามารถพัฒนาไปเป็น Mesosomes ได้

สายใยอาหาร (Substrate mycelium) คือ สายใยที่สร้างขึ้นช่วงเป็น Vegetative cell เจริญอยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อโดยจะมีขนาดและรูปร่างแตกต่างกัน ช่วงแรกสีของสายใยจะเป็นสีขาวขุ่น แต่เมื่อเจริญเต็มที่แล้วจะกลายเป็นสีแดง ส้ม เขียว เหลือง ชมพู หรือน้ำตาล และเมื่อเพาะเลี้ยงต่อจะเจริญอย่างรวดเร็วภายใน 2-6 ชั่วโมง โดยจะมีการสร้างท่อเจริญ (Germ tube) หนึ่งท่อหรือหลายท่อ ซึ่งจะเจริญต่อเป็นสายใยที่ยาวขึ้นและพัฒนาเป็นสายใยที่ซับซ้อนขึ้น พบเส้นผ่าศูนย์กลางของสายใยนี้ได้ตั้งแต่ 0.2-0.8 ไมโครเมตร บางชนิดสายใยมีลักษณะโค้งและแตกแขนง โครงสร้างมีความแตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับสภาวะการเจริญของเชื้อ ส่วนประกอบของอาหารที่ใช้เลี้ยง โดยเฉพาะอุณหภูมิและสารเคมี เมื่อเชื้อมีอายุมากสายใยชนิดนี้จะมีการแตกหักเป็นชิ้นส่วนสั้นๆ และบางชนิดอาจมีการแตกหักอย่างรวดเร็ว โดยเฉพาะเมื่ออยู่ในอุณหภูมิสูงและเจริญอยู่ในสภาวะที่เป็นของเหลว (สายพิณ, 2550)

สายใยอากาศ (Aerial mycelium) คือ สายใยที่สร้างขึ้นบนสายใยอาหาร พบมากในแอคติโนมัยสีทส่วนใหญ่ โดยเฉพาะสกุล *Streptomyces* ลักษณะของสายใยอากาศจะแตกต่างกันตามชนิดของแอคติโนมัยสีท สภาวะของการเลี้ยงเชื้อ และส่วนประกอบอาหารเลี้ยงเชื้อ มีเส้นผ่าศูนย์กลางตั้งแต่ 1-1.4 ไมโครเมตร การเจริญของสายใยอากาศจะเริ่มจากการแตกหน่อ (Sprout) หรือแตกแขนง (Branching) ส่วนของเส้นใยอาหารจะเจริญขึ้นด้านบนสัมผัสกับอากาศและเกิดการแบ่งตัว (Subdivision) เพื่อเจริญเป็นเซลล์ที่จะพัฒนาไปเป็นสปอร์ต่อไป สายใยชนิดนี้จะมีลักษณะสั้น โค้ง ยาว หรือตรง และมีการแตกแขนงจำนวนมาก สายใยอากาศจะเจริญปกคลุมทั้งโคโลนี จะเห็นคล้ายฝุ่นซอล์กอยู่บนสายใยอาหาร แอคติโนมัยสีทบางกลุ่มสร้างสายใยอากาศที่มีลักษณะวงแหวนเมื่อมอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากด้านบนของโคโลนี ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อปรากฏการณ์นี้คือการแพร่ของสารเคมีบางชนิด ความเข้มของแสงอุณหภูมิ และความชื้น (สายพิณ, 2550)

2.1.3 สปอร์ของแอคติโนมัยสีท

2.1.3.1 ลักษณะการสร้างสปอร์ของแอคติโนมัยสีท สามารถแบ่งออกเป็น 2 แบบ คือ

1) Endogenous formation เป็นสปอร์ที่มีคุณสมบัติทนความร้อนได้ดีอยู่ภายใน Cytoplasm ของเส้นใยเดิม (Parent hyphae) และส่วนมากพบในพวก Themophilic actinomycetes เช่น Thermoactinomyces และ Actinobifida

2) Exogenous formation แอคติโนมัยสีทส่วนใหญ่สร้างสปอร์แบบ Exogenous โดยเฉพาะ *Streptomyces* spp.

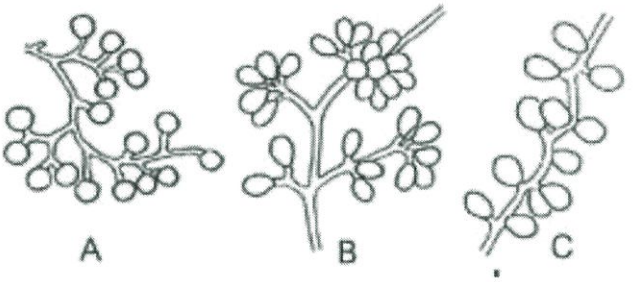
การสร้างสปอร์ของแอคติโนมัยสีท มีหน้าที่ในการสืบพันธุ์และแสดงถึงความแตกต่างของชนิด สปอร์ที่มีรูปร่างหลากหลาย เช่น กลม (Globose) รูปไข่ (Ovoid) รูปแท่ง (Rod) และมีผิวสปอร์หลายรูปแบบ เช่น เรียบ (Smooth) ขรุขระ (Irregular rough) รอยนูนเป็นร่องขนาน (Parallel rugose) ปุ่ม (Warty) ตุ่มยาว (Tuberculate) หนาม (Spiny) และเป็นขน (Hairy)

2.1.3.2 ลักษณะการสร้างสปอร์ประเภทต่างๆ

การสร้างสปอร์ประเภทต่างๆแบ่งได้ 3 ประเภท ตามลักษณะโครงสร้างภายนอก คือ สปอร์เดี่ยว สายสปอร์ และการสร้างสปอร์ภายในอับสปอร์ (ศิราภรณ์, 2550)

1) กลุ่มที่สร้างสปอร์เดี่ยว (Monosporus) พบในหลายสกุล เช่น *Micromonospora* ก้านชูสปอร์ (Sporophores) จะเกิดขึ้นบนสายใยอาหาร มีการสร้างสปอร์ติดอยู่กับก้านชูสปอร์สั้นๆและแยกออกมาเดี่ยวๆ การสร้างสปอร์จะเริ่มจากส่วนปลายสุดของเส้นใยและมีการพองตัวออก จากนั้นมีการสร้างผนังกั้นระหว่างก้านชูสปอร์ และสร้างผนังสปอร์หนาขึ้น ปลายสุดของก้านชูสปอร์อาจมีการแตกแขนงหรือไม่แตกแขนง การแตกแขนงของปลายก้านชูสปอร์จะทำให้ *Thermomonospora* ที่สร้างสปอร์เดี่ยวตรงบริเวณปลายก้านชูสปอร์มีสปอร์อยู่รวมกันเป็นกลุ่มและอาจสร้างสปอร์บนเส้นใยอาหารด้วย *Saccharomonospora* มีการสร้างสปอร์เดี่ยวรูปไข่ที่ปลายสายใยอากาศ มีก้านชูสปอร์สั้นและไม่แตกแขนง อาจเรียกสปอร์เดี่ยวทั้งสามสกุลข้างต้นว่า Aleuriospores เพราะสปอร์เกิดจากปลายเส้นใยมีการโป่งออก (สายพิณ, 2550)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.3 การสร้างสปอร์เดี่ยวของแอคติโนมัยสีท

A: Micromonospora B: Thermomonospora C: Saccharomonospora

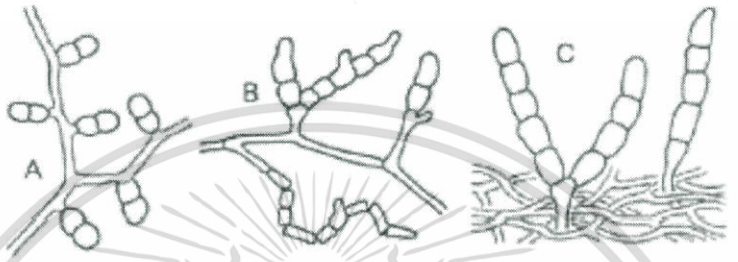
ที่มา: ศิราภรณ์ (2550)

2) กลุ่มที่สร้างสปอร์เป็นสาย การสร้างเป็นสายเกิดจากเส้นใยมีการแบ่งตัวเป็น Segments ตามขวาง แต่ละ Segments สามารถพัฒนาเป็นสปอร์ได้ ในแอคติโนมัยสีทมีการสร้างสปอร์แบบนี้เป็นส่วนมาก สามารถแบ่งเป็นกลุ่มได้โดยดูจากความยาวของสายอากาศสปอร์ หรือจำนวนสปอร์ คือ สปอร์คู่ (Bisporous) สปอร์สายยาว (Polysporous) และสปอร์สายสั้น (Oligosporous) สปอร์คู่ประกอบด้วย คู่ของสปอร์ที่ต่อกันตามยาว พบในสกุล *Microbispora* ซึ่งพบได้ยาก มีลักษณะเป็นคู่ทรงรี มีเส้นผ่าศูนย์กลางมากกว่า 2 ไมโครเมตร อาจเกิดขึ้นบนสายใยอากาศโดยตรงหรือบนก้านชูสปอร์สั้นๆ ลักษณะสปอร์ของ *Microbispora* เริ่มจากการสร้างเส้นใยอากาศ และแตกหน่อออกด้านข้างเป็นกิ่งสั้นๆ จากนั้นส่วนที่เป็นกิ่งมีการพองออกและสร้างผนังกั้นตรงกลาง แอคติโนมัยสีทที่สร้างสปอร์แบบ Bisporous ไม่ได้พบเฉพาะในสกุล *Microbispora* เท่านั้น ยังสามารถพบใน *Actinomadura rugatobispora*, *Actinomadura echinospora* และสกุล *Actinobispora* (สายพิณ, 2550)

สปอร์สายสั้นส่วนมากพบ 7-20 สปอร์ต่อสาย บางสปีชีส์มีสปอร์มากถึง 30 สปอร์ เช่น *Saccharopolyspora ectivirgula* สร้างสปอร์ต่อกันเป็นสาย มีจำนวนสปอร์น้อยกว่า 5 สปอร์บนก้านชูสปอร์ที่อยู่บริเวณด้านข้าง *Nocardia brevicatena* สร้างสปอร์สายสั้นๆ บนสายใยอากาศและสายใยอาหาร โดยมีจำนวนสปอร์ 2-7 สปอร์อยู่บนก้านชูสปอร์ สายสปอร์อาจมีการแตกแขนงและมีการแตกหักของเส้นใยอาหาร และปลายของเส้นใยในสกุล *Actinomadura* สร้างสปอร์สายสั้นๆ บนสายใยอากาศ จำนวนสปอร์บนสายใยอากาศมีตั้งแต่ 4 สปอร์ ถึง 20 สปอร์ สายสปอร์อาจมีลักษณะตรง (Straight) เป็นวงเปิด (Open loop) เป็นขอ (Hooked) หรือเป็นเกลียว (Spiral) ที่ซ้อนกัน เช่น *Actinomadurapusilla* สร้างสายสปอร์เป็นเกลียวพันกันแน่น *Streptoverticillum* มีลักษณะเฉพาะคือ สร้างก้านชูสปอร์เป็นวงรอบเส้นใย แกนสายสปอร์สั้นอาจมีลักษณะบิดเป็นเกลียวซ้อนติดกัน หรือโค้งงอ (ศิราภรณ์, 2550) และเส้นใยแกนที่มีสายสปอร์จะมีการบิดตัว สกุล *Sporichthya*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

polymorpha สร้างสปอร์สายสั้นบนสายใยอากาศ *Macrospora*, *Microcelobosporia* และ *Elytrosporangium* จะมีการสร้างสปอร์ขนาดใหญ่ในสายสปอร์สั้นๆ อยู่บนสายใยอาหาร ซึ่งสปอร์มีลักษณะเป็นรูปแท่งจนถึงรูปกลม *Catellatospora* สายสปอร์มีลักษณะตรงจนถึงโค้งงอ มีจำนวนสปอร์ 5-30 สปอร์ อยู่บนปลายก้านชูสปอร์ที่แทงขึ้นมาจากอาหาร ก้านชูสปอร์มีขนาดสั้นและอาจแตกแขนงหรือไม่แตกแขนง (สายพิณ, 2550)



รูปที่ 2.4 ลักษณะสปอร์เป็นสายคู่และสายสั้น

A: การสร้างแบบ disporous ของ *Microbispora*

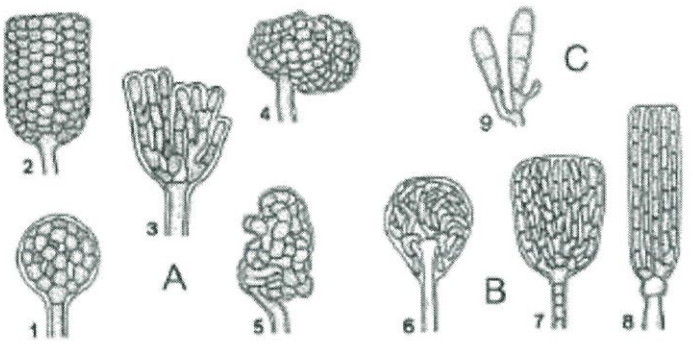
B และ C: การสร้างสปอร์ oligosporous ของ *Nocardia brevicatena* และ *Catellatospora* ตามลำดับ

ที่มา: สายพิณ (2550)

3) กลุ่มที่สร้างสปอร์ในอับสปอร์ มีหลายสกุลที่สร้างสปอร์ในอับสปอร์ภายในอับสปอร์มีสปอร์อยู่มากมายสามารถแบ่งกลุ่มการสร้างอับสปอร์ได้เป็น 2 กลุ่ม คือ

1) กลุ่มที่สร้างอับสปอร์บนสายใยอาหาร ประกอบด้วยสกุล *Actinoplans* อับสปอร์มีลักษณะทรงกลม หรือเกือบกลมจนไปถึงไม่เป็นรูปทรงที่แน่นอน มีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 5 – 15 ไมโคเมตร และอยู่บนสายใยอาหารโดยตรง มีสปอร์ต่อกันเป็นสายและแตกแขนงขดกันเป็นก้อนอยู่ภายในผนังห่อหุ้ม สปีชีส์ *Ampullariella* ในสกุล *Atinoplans* สร้างอับสปอร์มีรูปร่างแตกต่างกันไป คือ รูปทรงกระบอก ทรงขวด เป็นต้น ขนาดของอับสปอร์เฉลี่ยกว้าง 10 ไมโครเมตร ยาว 5 ไมโครเมตร สปอร์เป็นรูปแท่งต่อกันเป็นสาย อีกสกุลที่มีการสร้างสปอร์ในอับสปอร์คือ *Pilimelia* อับสปอร์สร้างขึ้นบนผิวของอาหาร มีรูปทรงกระบอก ทรงกลม ขนาดประมาณ 10 – 15 ไมโครเมตร สปอร์เป็นรูปแท่ง มีการเรียงตัวกันเป็นแถวขนานกันหรือวกวนไม่เป็นระเบียบ นอกจากนี้ยังมีอีกสกุลคือ *Dactylosporangium* สกุลนี้มีจานวนสปอร์แบบ Oliosporous คือมีสปอร์ประมาณ 2 – 5 สปอร์ อยู่ในอับสปอร์ที่มีรูปร่างคล้ายนิ้วมือ (ศิราภรณ์, 2550)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.5 รูปทรงของอับสปอร์ที่เจริญบนสายใยอาหาร

A: สกุล *Actinoplanes* : 1. ทรงกลม 2. ทรงกระบอก 3. เป็นพู 4. กึ่งทรงกลม 5. ไม่เป็นรูปทรง

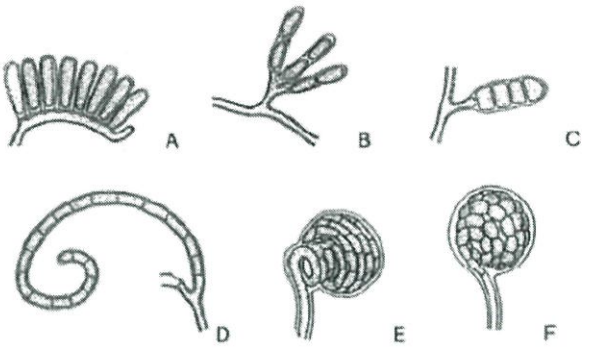
B: สกุล *Pilimelia* : 6. ทรงรี 7. รูปทรงระฆัง 8. ทรงกระบอก

C: สกุล *Dactylosporangium* : 9. รูปทรงกระบอก

ที่มา: ศิราภรณ์ (2550)

2) กลุ่มที่มีการสร้างอับสปอร์บนสายใยอากาศ ประกอบด้วยสกุล *Planomonospora* มีอับสปอร์รูปทรงกระบอก ภายในทรงกระบอกมีเพียง 1 สปอร์ สกุล *Planobispora* มีสปอร์คู่ต่อกันอยู่ในอับสปอร์ สกุล *Planotetraspora* มีอับสปอร์ทรงกระบอกยาว ภายในมี 4 สปอร์ ต่อกันเป็นหนึ่งแถว สกุล *Planoplyspora* มีสปอร์จำนวนมากภายในสปอร์อับสปอร์ เมื่อโตเต็มที่อับสปอร์จะเป็นแผ่นแบบยาวประมาณ 30 ไมโครเมตร มีสปอร์จำนวนมหาศาลต่อกันเป็นแถวเดี่ยวอยู่ภายในสกุล *Streptosporangium* ส่วนมากอับสปอร์เป็นทรงกลม มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 10 ไมโครเมตร มีการสร้างผนังกั้นเป็นสปอร์เดี่ยวๆต่อกันเป็นเส้นใยยาวขดเป็นวงอยู่ในภายในอับสปอร์ ในปัจจุบัน สกุล *Kutzneria* ได้ถูกแยกออกจากสกุล *Streptosporangium* มีอับสปอร์ลูกกลมขนาดใหญ่ เส้นผ่านศูนย์กลางมากกว่า 48 ไมโครเมตร และมีผนังอับสปอร์บาง อยู่บนก้านชูสปอร์ สกุล *Spirllospora* มีอับสปอร์เรียงตัวเป็นสายแตกแขนง หรือเป็นวงสปอร์เป็นรูปแท่งและโค้งงอ (ศิราภรณ์, 2550)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.6 รูปทรงของอับสปอร์ที่เจริญบนสายใยอากาศ

A: *Planomospora* : monosporous, รูปกระบอง

B: สกุล *Planobispora* : disporous, ทรงกระบอก

C: สกุล *Planotatraspora* : tetrasporous, ทรงกระบอก

D: สกุล *Planopolyspora* : polysporous, รูปทรงคล้ายท่อ

E: สกุล *Spirllspora* : polysporous,ทรงกลม

F: สกุล *Streptosporangium* : polysporous,ทรงกลม

ที่มา: ศิราภรณ์ (2550)

2.1.1.4 ลักษณะการเจริญของแอคติโนมัยสีท

ลักษณะการเจริญของเชื้อบนอาหารแข็ง (Surface culture) และในอาหารเหลว (Submerged culture) มีลักษณะต่างกัน คือ การเจริญในอาหารเหลว เซลล์จะเจริญจับกันเป็นกลุ่มของเส้นใยที่เรียกว่า Pellets แต่สำหรับเชื้อบางชนิด เช่น *Norcadia coralline* เมื่อเจริญในอาหารเหลวที่มีการเขย่าให้อากาศ เชื้อจะมีลักษณะเป็นรูปแท่ง (Rod) มีการแบ่งเซลล์แบบ Binary fission และแบบ Fragmentation เมื่อหยุดการเจริญ ในขณะที่การเจริญบนอาหารแข็งที่มีส่วนประกอบของอาหารเช่นเดียวกับในอาหารเหลว เชื้อเจริญแบบสร้างเส้นใย (Filamentous form) ในลักษณะที่ยึดติดแน่นกับผิวหน้าอาหารวุ้น และมี Fragmentation ของเส้นใย เมื่อมีอายุมากขึ้น โดยทั่วไปลักษณะการเจริญของเชื้อบนอาหารแข็งจะมีลักษณะของโคโลนีที่แตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับชนิดของเชื้อ สามารถพบได้ 3 แบบ (วราภรณ์, 2551) คือ

1) โคโลนีแบบหยาบหรือโคโลนีแบบเรียบยึดกับผิวหน้าอาหารอย่างหลวมๆ เป็นการสร้าง Aerial mycelium ปกคลุมบนผิวหน้าอาหาร มักพบในแอคติโนมัยสีทที่มีการเจริญในระยะ Transient mycelia มีการเจริญของ Mycelia ที่ไม่แน่นอน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2) โคโลนีไม่มี Substrate mycelium มี Aerial mycelium ที่ยึดเกาะกับอาหารด้วยส่วนที่ยึดเกาะพิเศษที่เรียกว่า Holdfast

3) โคโลนีมีลักษณะเกาะกันแน่นคล้ายแผ่นหนัง Aerial mycelium ค่อนข้างโป่งและยึดกับ Substrate ด้วยเส้นใยที่แทงลงไปในอาหาร โดยเส้นใยที่อยู่เหนืออาหารเรียกกว่า Aerial mycelium และเส้นใยที่อยู่ภายใต้อาหาร เรียกว่า Substrate mycelium สำหรับในอาหารเหลวเรียกเส้นใยที่อยู่บนผิวอาหารว่า Generative mycelium และเส้นใยที่อยู่ในอาหารว่า Vegetative mycelium

การสร้างเซลล์สืบพันธุ์ของแอคติโนมัยสีทโดยทั่วไปพบได้ 2 แบบ คือ แบบ Mycelium fragmentation และแบบ Sporulation ในพวก *Streptomyces* spp. จะมีการสร้างเซลล์ที่มีลักษณะพิเศษตามความยาว Aerial conidia เกิดจากการขยายตัวของเซลล์ และมีผนังหนาขึ้น เรียกว่า Chlamydospore หรือ Arthrospore มักพบแบบเดี่ยวๆ (Single spore) หรือต่อกันเป็นสายโซ่ (Chain) ในพวก *Actinoplanes armenicus* สามารถสร้างสปอร์ได้ 2 แบบ คือ สปอร์แบบมี Flagella เรียกว่า Zoospore ที่สามารถเคลื่อนที่ได้ และสร้างสปอร์แบบ Streptomyces type คือ สร้าง Arthrospore บน Aerial mycelium ในการสร้างสปอร์แบบใดนั้นมักขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อมที่เชื้อเจริญอยู่ เชื้อ *Kitasatoa* spp. และ *Pilimalia* spp. มักจะพบมีการสร้างสปอร์ที่สามารถเคลื่อนที่ได้ภายใน Vesicle และแบบเคลื่อนที่ไม่ได้มีลักษณะต่อกันเป็นสายโซ่ใน *Micromonospora* spp. สร้างสปอร์แบบ Chlamydopore เป็นคู่ที่มีตำแหน่งปลายเส้นใยตรงบริเวณ Intercalary และบริเวณ Interminat (ชนิกานต์, 2544)

2.1.4 สภาวะการเจริญของแอคติโนมัยสีท

แอคติโนมัยสีทเจริญได้ในสภาพแวดล้อมที่แตกต่างกันพอสมควร คือ นอกจากจะพบในดินแล้ว ยังสามารถพบในปุ๋ยหมักที่มีอุณหภูมิสูง ในโคลนตม ทะเลสาบ ปกติแอคติโนมัยสีทมักจะเจริญอยู่บริเวณผิวดินหรือในดินที่ไม่ลึกไปกว่า 4 เซนติเมตร ในดินที่มีสภาพที่เป็นด่างจะพบแอคติโนมัยสีทในอัตราส่วนที่สูงขึ้น เช่น ในดินด่างทั่วๆไปจะพบประมาณร้อยละ 10-70 ของจุลินทรีย์ในดินทั้งหมด แต่ดินที่มีค่าความเป็นกรดด่าง 6.5-8 จะมีแอคติโนมัยสีทสูงถึงร้อยละ 95 ของจุลินทรีย์ในดินทั้งหมด แอคติโนมัยสีทสามารถทนความแห้งแล้งได้ดี จึงทำให้สามารถพบแอคติโนมัยสีทเป็นอัตราส่วนที่สูงขึ้นในสภาพดินแห้ง มักพบในดินเขตร้อนมากกว่าเขตอบอุ่น สภาพที่เหมาะแก่การเจริญของแอคติโนมัยสีท ได้แก่ บริเวณทุ่งหญ้าธรรมชาติ ทุ่งหญ้าเลี้ยงสัตว์ แต่ในดินที่ทำการเกษตรจะพบน้อย และจะไม่ค่อยพบในดินที่ค่อนข้างเป็นกรด แอคติโนมัยสีทจะสร้างสปอร์ได้ แต่ลักษณะของสปอร์แอคติโนมัยซีทไม่สามารถทนทานต่อสภาพแวดล้อมได้ สปอร์แอคติโนมัยซีทสามารถทนความร้อนได้มากกว่าเซลล์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปกติเพียงเล็กน้อยเท่านั้น จากลักษณะการเจริญที่ช้ากว่าแบคทีเรีย และเชื้อรา ทำให้แอคติมัยสีทไม่สามารถที่จะแข่งขันกับจุลินทรีย์ 2 ชนิดดังกล่าว แต่แอคติโนมัยซีทมีความสามารถพิเศษในการย่อยสลายสารประกอบที่ย่อยสลายยาก จึงพบว่าการเจริญมักจะเพิ่มจำนวนมากขึ้นหลังจากที่จุลินทรีย์ชนิดอื่นๆ เจริญลดลงแล้ว จากสภาพดังกล่าวทำให้สภาพที่เหมาะสมกับแอคติโนมัยสีท อยู่ในลักษณะที่ไม่ค่อยพบจุลินทรีย์ชนิดอื่นเจริญได้ เช่น ดินที่ค่อนข้างเป็นด่าง แห้งแล้ง และอุณหภูมิสูง (นฤมล, 2550)

2.1.5 เอนโดไฟติคแอคติโนมัยสีท (Endophytic actinomycetes)

นักวิทยาศาสตร์ได้ให้คำจำกัดความของคำว่า เอนโดไฟท์ (endophyte) ว่าคือ "สิ่งมีชีวิตประเภทรา แบคทีเรีย รวมทั้งแอคติโนมัยสีทที่อาศัยอยู่ภายในหรือระหว่างเนื้อเยื่อพืชทั้งพืชน้ำและพืชบกที่แข็งแรงโดยไม่ก่อให้เกิดโรค ซึ่งอาจอยู่อาศัยทั้งชีวิตหรือเพียงบางช่วงชีวิตก็ได้"(De Barry, 1866) "เอนโดไฟติคแบคทีเรียเป็นแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ภายในเนื้อเยื่อพืชชนิดต่างๆ โดยไม่ก่ออันตรายให้แก่พืชหรือก่อให้เกิดโรคแก่พืชดังกล่าว" (Hallmann *et al*., 1997)

เชื้อแบคทีเรียเอนโดไฟท์เป็นจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ในเนื้อเยื่อพืช (plant tissue) ทั้งพืชน้ำและพืชบก โดยมีช่วงหนึ่งของวงจรชีวิตอาศัยอยู่ในเนื้อเยื่อพืช อาจอยู่ในส่วนราก ลำต้น กิ่ง หรือใบ สามารถอาศัยร่วมกับพืชได้หลายรูปแบบ ความสัมพันธ์ระหว่างเอนโดไฟท์กับพืชมีหลายแบบ เช่น การอยู่ร่วมกันแบบ mutualism neutral symbiotic หรือ antagonistic pathogen โดยเอนโดไฟท์เป็นตัวควบคุมทางชีวภาพ และเป็นแหล่ง metabolite ในทางการแพทย์ การป้องกันโรคให้กับพืช อีกทั้งยังเป็นต้นแบบในการศึกษาถึงความสัมพันธ์ต่างๆในธรรมชาติ บางชนิดนอกจากจะผลิตสาร primary metabolite แล้ว ยังสามารถผลิตสาร secondary metabolite ในกลุ่มของสารปฏิชีวนะ ซึ่งมีคุณสมบัติต้านการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรค เช่น ต้านแบคทีเรียและเชื้อราที่ก่อโรคในคน สัตว์ หรือพืช (Brunner and Pertrini, 1992 ; Tian *et al*., 2004 ; Hasegawa *et al*., 2006) เอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีทสามารถย่อยสลายโลหะหนักและอินทรีย์สารในพืชและน้ำได้ดี จึงเป็นตัวที่ช่วยทำให้มลพิษลดลง (Germaine *et al*., 2006)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.6 สเตรปโตมัยซีส (*Streptomycetes*)

สเตรปโตมัยซีส เป็นแบคทีเรียแกรมบวกและเป็นแอโรบิกแบคทีเรีย (aerobic) ซึ่งเป็นแอคติโนมัยซีสที่มีการสร้างสปอร์ มีการจัดจำแนกสายพันธุ์ที่แตกต่างกันขึ้นอยู่กับลักษณะทางสัณฐานวิทยาและองค์ประกอบทางเคมีของผนังเซลล์ สเตรปโตมัยซีสมีปริมาณ G+C content สูง ผนังเซลล์ประกอบด้วย LL-diaminopimelic acid (LL-DAP) และไม่พบน้ำตาลในผนังเซลล์ (Anderson and Elizabeth, 2001) สเตรปโตมัยซีสมีเส้นใยแตกแขนง สามารถสร้างทั้งเส้นใยอาหารและเส้นใยอากาศ (Locci, 1989; Lee *et al.*, 2005)

เส้นใย มีขนาด 0.5-2.0 ไมโครเมตร สามารถแตกกิ่งแขนงได้มากแต่ไม่แตกหักเป็นท่อน เส้นใยอากาศที่เจริญเต็มที่จะสร้างสปอร์ตั้งแต่ 3 ถึงหลายสปอร์ต่อกันเป็นสายโซ่ มีไม่มากที่สร้างสปอร์ต่อกันเป็นสายสั้นๆที่เส้นใยอาหาร บางชนิดอาจสร้างโครงสร้างที่คล้ายพิคนิเดีย สเคลอโรเทีย อับสปอร์และซินนีมาตาได้ สามารถสร้างสปอร์ที่ไม่เคลื่อนที่ สร้างโคโลนีได้หลายแบบซึ่งอาจเป็นชนิด discrete, lichenoid หรือโคโลนีคล้ายหนังสัตว์ ทั้งเส้นใยใต้ผิวอาหารและเส้นใยเหนือผิวอาหาร สามารถสร้างรงควัตถุได้หลายสีและอาจมีรงควัตถุที่สามารถแพร่ลงในอาหารได้ด้วย บางสายพันธุ์สามารถสร้างสารแอนติไบโอติกได้ 1 ชนิดหรือมากกว่า ต้องการอากาศ ติดสีแกรมบวกแต่ไม่ติดสี acid fast สร้างเอนไซม์ catalase สามารถรีดิวซ์ NO_3^- ให้เป็น NO_2 ได้ และสามารถสลายอะดีนีน เจลาติน ไฮแซนธีน แอลไทโรซีน เคซีน เอสคิวลิน และแป้ง อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญอยู่ระหว่าง 25-35 องศาเซลเซียส แต่บางชนิดสามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิต่ำหรือสูงกว่านี้ pHที่เหมาะสมอยู่ระหว่าง 6.5-8.0 ไม่มีกรดไมโคลิก พบอยู่ทั่วไปในดิน น้อยที่จะก่อให้เกิดโทษในคนและสัตว์ แต่บางชนิดก็อาจก่อให้เกิดโรคในพืชได้ (รัตนาภรณ์, 2548)

2.1.7 นิเวศวิทยาของ Streptomycetes

สเตรปโตมัยซีทเป็นแอคติโนมัยซีสกลุ่มที่มีการแพร่กระจายทั่วไปในแหล่งที่อยู่บนบกและในน้ำ ส่วนมากเป็นแซพโพรไฟท์ (ผู้ย่อยสลายอินทรียสาร) แต่บางชนิดก็เป็นพาราไซต์ในพืชและสัตว์

สปอร์ของสเตรปโตมัยซีทสามารถทนทานอยู่ในสิ่งแวดล้อมได้ดีกว่าเส้นใย เนื่องจากมีผนังเซลล์ที่หนากว่าและไม่ชอบน้ำ (hydrophobic) มากกว่า และยังมีเยื่อหุ้มชั้นนอกของผนังสปอร์อีกชั้นหนึ่ง นอกจากนี้ผิวสปอร์ของสเตรปโตมัยซีทโดยมากแล้วมีประจุเป็นลบ ยกเว้นเมื่ออยู่ในสภาวะที่ pH ค่อนข้างต่ำ และโดยทั่วไปแล้วสปอร์จะทนทานต่อความร้อนได้ดีกว่าเส้นใย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แม้ว่าสเตรปโตมัยซีทจะถูกจัดให้เป็นพวก strict aerobes แต่มันสามารถเจริญได้ในดินที่ปราศจากเชื้อที่มีความเข้มข้นของออกซิเจนต่ำๆได้ แต่ต้องมีปริมาณ CO_2 ไม่เกิน 10% ในดินที่แห้ง

จะมีสเตรปโตมัยซีทน้อยและปริมาณจะลดลงเห็นได้ชัดเมื่อแรงตึงผิวของความชื้นในดินมีค่าสูงกว่า pH 4.0

แอคติโนมัยซีสในกลุ่มสเตรปโตมัยซีท ต้องการน้ำสำหรับการเจริญและไม่สามารถเจริญได้ในสภาวะที่มีความดันออสโมซิสสูงๆได้ การเจริญในดินจึงค่อนข้างมีความจำกัด ในการเลี้ยงบนจานอาหารจะไม่สามารถเจริญได้ถ้าความชื้นน้อยเกินไป สเตรปโตมัยซีทหลายชนิดสามารถดำรงชีวิตในสภาวะที่แห้งมากๆได้โดยการอาศัยอาร์โธรสปอร์ที่ทนทานต่อสภาพที่แห้งและขาดน้ำได้ โดยทั่วไปแล้วสเตรปโตมัยซีทเป็นพวก obligate aerobes ดังนั้นในการเลี้ยงจึงต้องเลี้ยงในที่ที่มีอากาศ และมักชอบเจริญในอาหารที่มีค่าของ pH ที่เป็นกลาง จะมีบางชนิดเท่านั้นที่สามารถเจริญได้ที่ pH เป็นกรด เช่น pH 4.3 ซึ่งมักแยกได้จากดินที่เป็นกรด สเตรปโตมัยซีทที่ชอบความเป็นด่างจะมีน้อย แต่ก็มีรายงานว่าพบบ้างประมาณ 20 สายพันธุ์ที่ชอบเจริญที่ค่า pH อยู่ระหว่าง 9.0-9.5 ซึ่งแยกได้จากดินในประเทศญี่ปุ่นโดย Mikami *et al* (Williams, Goodfellow and Alderson, 1989)

ในห้องทดลอง สเตรปโตมัยซีทสามารถสร้างเอนไซม์ได้ดี และในธรรมชาติก็มีบทบาทสำคัญ สามารถย่อยสลายซากพืชและซากสิ่งมีชีวิตต่างๆได้ดี มันสามารถย่อยสลายเซลลูโลสและลิกนินที่เป็นองค์ประกอบของลิกโนเซลลูโลส (lignocellulose) สเตรปโตมัยซีทหลายชนิดสามารถย่อยสลายลิกโนเซลลูโลสของหญ้า ไม้เนื้ออ่อน และไม้เนื้อแข็ง รวมทั้งสามารถย่อยสลายไคติน เฮมิเซลลูโลส (hemicellulose) เคอราติน เปคติน รวมทั้งผนังเซลล์ของรา ยาฆ่าวัชพืชพลาสติก สารพวกโพลีฟีนอลิก แทนนิน และกรดฮิวมิค นอกจากนี้ ยังสามารถสร้างเมลานินซึ่งเป็นรงควัตถุคล้ายๆกรดฮิวมิค ซึ่งอาจช่วยให้มีการสร้างฮิวมิคในดินด้วย

ด้วยคุณสมบัติที่สามารถสร้างปฏิชีวนะยับยั้งเชื้อราได้ สเตรปโตมัยซีทที่อาศัยอยู่บริเวณรอบรากพืชจึงสามารถปกป้องรากพืชให้ปลอดภัยจากการทำลายของเชื้อราได้ แต่ก็ยังมีข้อมูลที่ตรงข้ามว่ามีหลักฐานว่าสเตรปโตมัยซีทนั้นไม่สร้างสารปฏิชีวนะเมื่ออยู่ในดินตามธรรมชาติ แต่ก็ยังมีหลักฐานว่าสเตรปโตมัยซีทมีส่วนช่วยควบคุมโรคเชื้อราได้ เมื่อนำเมล็ดพืชหรือต้นอ่อนมาเติมด้วยเชื้อสเตรปโตมัยซีทลงไปก่อนที่จะนำไปปลูก (Sing and Mehrotra,1980; Rothrock and Gotlieb,1981 อ้างใน Williams, Goodfellow and Alderson, 1989)

ในสเตรปโตมัยซีทพบว่ามีการสร้างสารจีออสมิน (tran-1, 10-dimethy-tran-9decalol) และสารเมธิล-ไอโซบอร์นีออล (methylisoborneol) ซึ่งเป็นสารสร้างกลิ่นคล้ายกลิ่นดินอับชื้น (earthly tastes) และสารประกอบเหล่านี้จะไม่ถูกสร้างขึ้นในสปอร์ แต่จะเป็นสารเมตาโบไลท์อันดับสองที่ถูกสร้างขึ้นเมื่อเส้นใยมีการเจริญแล้ว ดังนั้นหลังจากฝนตกใหม่ๆ จึงมักจะได้กลิ่นอับชื้นที่สเตรปโตมัยซีทเหล่านี้ที่อยู่ในดินสร้างขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โรคพืชที่เกิดจากแบคทีเรียในกลุ่มสเตรปโตมัยซีทมักได้แก่โรคที่เกิดกับมันฝรั่ง (potato scab) และโรคที่เกิดกับรากพืช ซึ่งมีสาเหตุมาจาก *Streptomyces scabies* ซึ่งลักษณะอาการมี 2 แบบใหญ่ๆ คือ ถ้าเป็น normol scab จะทำให้หัวมันฝรั่งมีรอยแตกลึก และถ้าเป็น russet scab จะทำให้ผิวมันฝรั่งมีรอยขรุขระเป็นสีน้ำตาลแดง และพบว่ามันฝรั่งที่มีผิวเปียกชื้นมักเกิดโรค russet scab และโรค scab ของมันฝรั่งมักเกิดขึ้นมากในดินที่แห้งและเป็นกลางจนถึงดินที่ข้นข้างเป็นด่าง แต่ถ้าเป็น russet scab ก็มักพบในดินที่เปียกชื้นกว่า และเชื่อว่าโรค scab เกิดจาก สเตรปโตมัยซีทมากกว่า 1 ชนิด

2.1.8 บทบาทและความสำคัญของแอคติโนมัยสีท

บทบาทส่วนใหญ่ของแอคติโนมัยสีทมักเกิดจากเชื้อในสกุล *Streptomyces* เนื่องจากเป็นกลุ่มที่เจริญเติบโตได้รวดเร็ว และมีปริมาณมากในธรรมชาติ แต่อย่างไรก็ตามแอคติโนมัยสีทที่หายากก็ยังเป็นกลุ่มที่น่าสนใจ เนื่องจากเป็นกลุ่มที่ความสามารถหลากหลาย สำหรับบทบาทของแอคติโนมัยสีทมีดังนี้ (ศรีสกุล, 2552)

1) การย่อยสลายอินทรียวัตถุ

เชื้อแอคติโนมัยสีทในธรรมชาติซึ่งส่วนใหญ่มีถิ่นที่อยู่อาศัยในดินมีความสามารถในการย่อยสลายองค์ประกอบของอินทรียวัตถุ โดยเฉพาะอย่างยิ่งส่วนประกอบของพืชและสัตว์ที่ทนทานต่อการย่อยสลาย ในช่วงที่มีอินทรียวัตถุในดินมากจะมีพวกแบคทีเรีย และเชื้อราอยู่มาก ส่วนแอคติโนมัยสีทจะเจริญตามมาภายหลัง เพราะแอคติโนมัยสีทจะเจริญเติบโตได้ช้า และเจริญเติบโตได้ดีก็ต่อเมื่อจุลินทรีย์ที่เป็นคู่แข่งได้ลดปริมาณลงแล้ว คือ ในช่วงที่มีสารประกอบที่มีโมเลกุลขนาดใหญ่ที่ทนทานต่อการย่อยสลายอยู่มาก แอคติโนมัยสีทที่มีหลายชนิดและหลายสายพันธุ์จะช่วยย่อยสลายสารพวกกรดอินทรีย์ น้ำตาลชนิดต่างๆ แป้ง ไขมัน และโปรตีน (Alexander, 1977)

2) การย่อยสลายเซลลูโลส

องค์ประกอบส่วนใหญ่ของพืชที่มีโครงสร้างเป็นน้ำตาลกลูโคสที่เรียงต่อกันเป็นสายยาวด้วยพันธะ β-1,4-glucosidiclinkages ภายในสายประกอบด้วยน้ำตาลกลูโคสตั้งแต่ 1,400 จนถึง 10,000 โมเลกุลแล้วแต่ชนิดของพืช เชื้อแอคติโนมัยสีทที่สามารถย่อยสลายเซลลูโลสพบเป็นเชื้อในสกุล *Streptomyces* มากที่สุด และเชื้อแอคติโนมัยสีทชนิดอื่นๆ ได้แก่ *Micromonospora, Streptosporangium, Nocardia* และ *Microbispora* นอกจากนี้ยังมีเชื้อแอคติโนมัยสีทที่สามารถย่อยสลายเซลลูโลสได้ดีที่อุณหภูมิสูง ได้แก่ เชื้อในสกุล *Thermomonospora* และ *Streptomycetes* ที่เจริญที่อุณหภูมิสูง (กนกกร, 2548)

เอกสารนี้มีลิขสิทธิ์ ห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3) การย่อยสลายเฮมิเซลลูโลส

เฮมิเซลลูโลสเป็นองค์ประกอบหลักอีกอย่างหนึ่งของพืชโดยสามารถแบ่งประเภทได้ตามชนิดของน้ำตาล แอคติโนมัยสีทที่ย่อยสลายเฮมิเซลลูโลสมีด้วยกันหลายชนิด แต่ชนิดที่มีบทบาทมากที่สุด คือ ในสกุล *Streptomyces* ได้แก่ *Micromonospora, Streptosporangium, Nocardia* และ *Microbispora* เป็นต้น (Alexander, 1977)

4) การย่อยสลายลิกนิน

เป็นองค์ประกอบของผนังเซลล์พืช โดยต่ออยู่กับสายของน้ำตาลทำให้ผนังเซลล์ของพืชแข็งแรงทนทานต่อการย่อยสลาย การย่อยสลายลิกนินในธรรมชาติส่วนใหญ่เป็นกิจกรรมของเชื้อรา โดยเฉพาะเห็ดชนิดต่างๆแต่ก็มีเชื้อแอคติโนมัยสีทบางชนิดที่สามารถย่อยได้ ได้แก่ สกุล *Streptomyces* และ *Micromonospora* (มัลลิกา, 2550)

5) การย่อยสลายไคติน

เป็นสารอินทรีย์ที่พบได้ทั่วไป โครงสร้างประกอบด้วย N-acetylglucosamine ต่อกันเป็นสายยาว ในธรรมชาติพบว่า 90% ของไคติน จะถูกย่อยสลายโดยแอคติโนมัยสีท ที่มีบทบาทในการย่อยสลายไคตินมากที่สุด คือ เชื้อในสกุล *Streptomyces* และ *Micromonospora* ตามลำดับ และความสามารถในการย่อยสลายไคติน ของเชื้อแอคติโนมัยสีทนี้ยังถูกนำมาใช้ในการควบคุมเชื้อราที่เป็นสาเหตุของโรคพืชอีกด้วย (กนกกร, 2548)

6) การย่อยสลายแป้ง

เป็นองค์ประกอบที่พบได้ทั่วไปในพืช โครงสร้างของแป้งประกอบไปด้วยน้ำตาลกลูโคสที่ต่อกันเป็นสายยาวด้วยพันธะ α-1,4-glucosidic linkages และ α-1,6-glucosidic linkages เชื้อแอคติโนมัยสีทส่วนใหญ่สามารถใช้แป้งเป็นแหล่งคาร์บอนได้โดยเชื้อแอคติโนมัยสีทที่พบว่าสามารถย่อยสลายแป้งได้ดี ได้แก่ *Streptomyces, Nocardia* และ *Micromonospora* เป็นต้น (ศรีสกุล, 2552)

7) การย่อยสลายโปรตีน

เป็นโครงสร้างหลักของสัตว์และพืชโครงสร้างของโปรตีน ประกอบด้วยกรดอะมิโนเรียงต่อกันเป็นสายยาว จุลินทรีย์ส่วนใหญ่สามารถย่อยสลายโปรตีนเพื่อใช้เป็นแหล่งไนโตรเจนได้ รวมทั้งเชื้อแอคติโนมัยสีทด้วย โดยเฉพาะเชื้อ *Streptomyces* ส่วนการย่อยสลายสารอินทรีย์ชนิดอื่นๆ ได้แก่ พาราฟิน ฟีนอล สเตอรอยส์ และไพริมีดีน พบว่าเป็นกิจกรรมของเชื้อแอคติโนมัยสีทในสกุล *Nocardia* มากกว่าชนิดอื่นๆ ส่วนเชื้อสกุล *Micromonospora* มีบทบาทในการย่อยสลาย ไคติน เซลลูโลส กลูโคไซส์ เพ็นโตแซน และลิกนิน (จีรพรรณ์, 2550)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

8) ความสามารถผลิตเอนไซม์ที่มีความสำคัญในอุตสาหกรรม

แอคติโนมัยสีทสามารถผลิตเอนไซม์ที่ย่อยสลายสารอินทรีย์โมเลกุลขนาดใหญ่ที่มีความสำคัญทางอุตสาหกรรม เชื้อที่สร้างเอนไซม์ย่อยสลายเซลลูโลส และไซแลน คือ *Streptomyces* และ *Thermomospora* ส่วนเชื้อที่สร้างเอนไซม์ในการย่อยสลายไคติน ได้แก่ *S.griseus, S.antibioticus* และ *Amycolatopces orientalis* (นฤมล, 2550)

9) ความสามารถในการตรึงไนโตรเจนและฟอสเฟตในรูปที่พืชสามารถนำไปใช้

แอคติโนมัยสีทบางชนิดสามารถตรึงไนโตรเจนในอากาศได้ เช่น สกุล *Nocardia* และยังมีแอคติโนมัยสีทที่อาศัยอยู่ร่วมกับพืชแล้วสามารถตรึงไนโตรเจนในอากาศได้ คือ *Frankia* นอกจากนี้ยังมีรายงานถึงความสามารถของ *Streptosporangium* ที่แยกได้จากดินที่เป็นกรดในการละลายหินฟอสเฟตให้อยู่ในรูปที่พืชสามารถนำไปใช้ได้ โดยเชื้อในกลุ่มนี้สามารถผลิตกรดโดยการย่อยสลายเซลลูโลส ซึ่งสามารถสลายหินฟอสเฟตได้ (ชนิกานต์, 2544)

10) ความสามารถในการผลิตสารปฏิชีวนะการสร้าง Secondary metabolite ที่สำคัญของแอคติโนมัยสีท คือ สารปฏิชีวนะ พบว่าเชื้อมีการสร้างสารขึ้นในช่วง Stationary phase ของการเจริญ โดยสารที่สร้างขึ้นนี้ไม่มีบทบาทต่อการเจริญของเซลล์ จัดเป็นสารที่มีคุณสมบัติพิเศษจำเพาะต่อเชื้อบางชนิดเท่านั้น ดังนั้นจึงพบว่ามีเชื้อบางกลุ่มเท่านั้นที่สามารถสร้างสารปฏิชีวนะได้โดยมักจะสร้างในรูปแบบของสารประกอบที่มีลักษณะคล้ายคลึงกัน สามารถจัดจำแนกเป็นกลุ่มตามลักษณะที่คล้ายกันออกเป็น Family หรือ Species ในการเลี้ยงเชื้อเพื่อสร้างสารปฏิชีวนะนั้นสามารถเลี้ยงได้ทั้งในอาหารเหลวและอาหารแข็ง โดยสารปฏิชีวนะที่สร้างขึ้นอาจมีคุณสมบัติสามารถละลายน้ำได้ (Water soluble antibiotic) หรืออาจละลายน้ำไม่ได้ (Water soluble antibiotic) เช่น สารปฏิชีวนะในกลุ่ม Serine จัดเป็น Water soluble antibiotic โดยมักพบในรูปของผลึกสะสมที่บริเวณผิวของเซลล์หรือในอาหารเลี้ยงเชื้อ คุณสมบัติที่ปรากฏมักขึ้นอยู่กับชนิดของเชื้อ และสภาพแวดล้อมที่เชื้อเจริญ สำหรับบทบาทและหน้าที่ที่แท้จริงของสารปฏิชีวนะยังไม่เป็นที่เข้าใจอย่างแน่ชัด มีข้อเสนอมากมายเกี่ยวกับบทบาท และหน้าที่ของสารปฏิชีวนะ (สายพิณ, 2550)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 พืชสมุนไพรไทย

2.2.1 ต้นกระเทียม

รูปที่ 2.7 แสดงลักษณะของต้นและหัวกระเทียม

ที่มา : https://medthai.com

ชื่อสามัญ : Garlic

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Allium sativum* L. จัดอยู่ในวงศ์พลับพลึง (Amaryllidaceae) และอยู่ในวงศ์ย่อย Alliaceae

ชื่อท้องถิ่น : โดยทั่วไปโดยเฉพาะภาคกลางจะเรียกกันว่า กระเทียม แต่มีภาษาท้องถิ่นของแต่ละภาคด้วย เช่น ในแถบภาคเหนือจะเรียกว่า หอมเตียม ภาคอีสาน เรียกว่า หอมขาว,กระเทียมขาว (อุดรธานี) ภาคใต้ เรียกว่า หัวเทียม,เทียม กะเหรี่ยงแถวแม่ฮ่องสอนก็จะเรียกว่า ปะเช้วา

ส่วนที่ใช้ : ราก ลำต้น ใบ

2.2.1.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

1) รากกระเทียม

เป็นรากฝอย แผ่กระจายหาอาหารบริเวณผิวดินและลึกไม่เกิน 10-12 นิ้ว เป็นพืชล้มลุกประเภทใบเลี้ยงเดี่ยว หัว (bulb) ในดิน แต่ละหัวประกอบด้วยกลีบ (เป็นใบสะสมอาหาร) หลายกลีบเรียงซ้อนกันเป็นชั้นๆ บางพันธุ์แต่ละหัวมีเพียงกลีบเดียว เรียกว่า กระเทียมโทน แต่ละกลีบมีเปลือกหรือกาบ (sheathing leaf) หุ้มโดยรอบและสามารถแยกออกจากหัวเป็นอิสระได้ แต่ละกลีบสามารถนำไปปลูกได้หนึ่งต้นหรือหนึ่งหัวเป็นอย่างน้อย มีหลายสีแตกต่างกันไปตามพันธุ์ เช่น ขาว ชมพูหรือม่วง รูปทรงของหัวมีหลายแบบตั้งแต่ทรงกลมแป้น กลมรี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กลมสูงและขนาดของหัวแตกต่างกันไปตามพันธุ์และสภาพพื้นที่ที่ปลูก เมื่อกระเทียมแก่จะมีแกนแข็ง (ก้านช่อดอก : peducle) เจริญงอกออกมาจากส่วนกลางของหัว

2) ใบกระเทียม

มีรูปร่างแคบ ลักษณะแบนยาวประมาณ 1-1.5 ฟุต กว้างประมาณ 1-2.5 ซม. ปลายใบแหลม จำนวนประมาณ 14-16 ใบต่อต้น

3) ดอกกระเทียม

เป็นช่อ (umbel) ก้านช่อดอกยาว ดอกติดเป็นกระจุกที่ปลายก้านช่อที่มีลักษณะกลม ประกอบด้วยดอกหลายดอก มีกาบหุ้ม (bract) เป็นจะงอยยาว กลีบดอกมี 6 กลีบ ยาวประมาณ 6 มม. กลีบดอกมีรูปร่างยาวแหลม สีขาวแต้มสีม่วงหรือสีขาวอมชมพู ก้านดอกยาวเล็ก อับเรณู (anther) หันออกไปทางด้านนอกของดอก

4) หัวกระเทียม

จะจมอยู่ใต้ดิน มีลักษณะกลม มีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 2-5 ซม. และในหนึ่งหัวจะมีกลีบเล็กๆอยู่หลายกลีบ โดยจะมีเยื่อบางๆสีขาวหรือสีขาวชมพูคอยหุ้มอยู่หลายชั้น ส่วนสายพันธุ์ที่มีหัวเดียวและกลีบเดียว จะเรียกสายพันธุ์นั้นว่า กระเทียมโทน ถ้าแกะเยื่อออกจะพบเนื้อกระเทียมมีสีเนื้อหรือครีม ซึ่งส่วนนี้จะมีกลิ่นฉุนและรสเผ็ด ซึ่งส่วนใหญ่นิยมนำไปประกอบอาหาร

5) เมล็ดกระเทียม

สามารถขยายพันธุ์ได้เช่นเดียวกับกลีบกระเทียม ปกติการปลูกกระเทียมในประเทศมักจะไม่รอให้ออกดอกหรือติดผลหรือเมล็ด

2.2.1.2 สรรพคุณและประโยชน์ของกระเทียม

1) ช่วยลดระดับคอเลสเตอรอลและน้ำตาลในเลือด แก้อาการวิงเวียนศีรษะ อาการมึนงง ปวดศีรษะ

2) ช่วยในเรื่องระบบสืบพันธุ์และระบบทางเดินปัสสาวะ เพราะมีสารที่ช่วยควบคุมฮอร์โมนทั้งหญิงและชาย ช่วยทำให้มดลูกบีบตัว เพิ่มพละกำลังให้มีเรี่ยวแรง

3) ช่วยรักษาโรคความดันโลหิต ป้องกันการเกิดโรคหัวใจ ลดความเสี่ยงของหัวใจล้มเหลวเฉียบพลัน

4) ช่วยบรรเทาอาการไอ น้ำมูกไหล ป้องกันหวัด รักษาโรคไข้หวัดและไข้หวัดใหญ่ รักษาอาการเยื่อบุจมูกอักเสบและไซนัส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น และห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5) ช่วยระงับกลิ่นปาก ขับเหงื่อ ขับเสมหะ ขับปัสสาวะ ขับลม

6) ช่วยควบคุมโรคกระเพาะ ด้วยสารที่ช่วยยับยั้งไม่ให้น้ำย่อยอาหารมาย่อยแผลในกระเพาะ

7) ช่วยรักษาอาการจุกเสียดแน่นท้อง ท้องอืด ท้องเฟ้อ

8) ช่วยในการขับพยาธิได้หลายชนิด เช่น พยาธิแส้ม้า พยาธิเส้นด้าย พยาธิเข็มหมุด พยาธิไส้เดือน

9) ช่วยรักษากลาก เกลื้อน ฆ่าเชื้อรา เชื้อแบคทีเรียต่าง ๆ รวมถึงเชื้อราตามหนังศีรษะและบริเวณเล็บ

10) บรรเทาอาการปวดข้อและปวดเมื่อยตามร่างกาย แก้อาการเคล็ดขัดยอกและเท้าแพลง เพราะมีสารที่ช่วยเพิ่มการไหลเวียนของเลือดมายังบริเวณที่นวดยาได้ดีมากขึ้น

11) นำมาใช้เพื่อช่วยปรุงรสชาติของอาหาร ไม่ว่าจะใช้ผัด แกง ทอด ยำ ต้มยำ หรือน้ำพริกต่าง ๆ

12) กระเทียมเป็นเครื่องสมุนไพรที่อุดมไปด้วยวิตามินและแร่ธาตุหลายชนิด และยังเป็นพืชที่ธาตุซีลีเนียมสูงกว่าพืชชนิดอื่น ๆ อีกทั้งยังมีสารอะดีโนซีน (Adenosine) ซึ่งเป็นกรดนิวคลีอิกที่เป็นตัวสร้าง DNA และ RNA ของเซลล์ในร่างกาย

13) มีการนำกระเทียมไปแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ อย่างหลากหลาย เช่น กระเทียมเสริมอาหาร กระเทียมสกัดผง สารสกัดน้ำมันกระเทียม กระเทียมดอง เป็นต้น

2.2.2 ยี่หร่า

รูปที่ 2.8 แสดงลักษณะของใบยี่หร่า

ที่มา : https://medthai.com

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชื่อสามัญ : Tree basil, Clove basil, Shrubby basil, African basil, Wild basil, Kawawya, Caraway friut, Caraway seed, Kummel, Caraway

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Ocimum gratissimum* L. จัดอยู่ในวงศ์กะเพรา (Lamiaceae)

ชื่อท้องถิ่นอื่น ๆ : ยี่หร่า กะเพราญวณ (กรุงเทพมหานคร), จันทร์หอม เนียม (เชียงใหม่), จันทร์ขี้ไก่ เนียมต้น (แม่ฮ่องสอน), สะหลีดี (กะเหรี่ยง-แม่ฮ่องสอน), หอมป้อม (ภาคเหนือ), โหระพาช้าง กะเพราควาย (ภาคกลาง), หร่า (ภาคใต้) เป็นต้น

2.2.1.2 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

1) ต้นยี่หร่า

เป็นไม้พุ่มเตี้ย มีความสูงประมาณ 50-80 เซนติเมตร ลำต้นมีสีน้ำตาลแก่ แตกกิ่งก้านสาขาขนาดเล็ก กิ่งก้านไม่ใหญ่ ในช่วงปีแรกและปีที่สองจึงออกดอกออกผล ขยายพันธุ์ด้วยวิธีการเพาะเมล็ดและการปักชำกิ่ง เจริญเติบโตได้ดีในดินร่วนซุยและมีความชื้นปานกลางในสภาพกลางแจ้ง

2) ใบยี่หร่า

เป็นใบเดี่ยวออกตรงข้ามกันเป็นคู่ ๆ ลักษณะของเป็นรูปกลมรี โคนใบสอบ ปลายใบแหลม ขอบใบหยักเป็นฟันเลื่อย ใบสีเขียวสด ผิวใบสากมือ ใบยี่หร่ามีกลิ่นหอมเฉพาะตัว มีรสร้อน จึงช่วยดับกลิ่นคาวจากอาหารจำพวกเนื้อสัตว์เนื้อปลาได้เป็นอย่างดี

3) ดอกยี่หร่า

ออกดอกเป็นช่อที่บริเวณปลายยอด ช่อดอกนั้นจัดเป็นแบบ Spike-like raceme ดอกจะบานจากล่างไปหาปลายช่อ โดยแต่ละช่อจะประกอบไปด้วยดอกย่อยขนาดเล็กประมาณ 50-100 ดอก

4) ผล หรือ เมล็ดยี่หร่า

มีลักษณะเป็นรูปกลมรี แต่ละผลมีขนาดประมาณ 1 มิลลิเมตร เมื่อยังอ่อนจะเป็นสีเขียว แต่พอสุกหรือแก่แล้วจะกลายเป็นสีดำหรือสีน้ำตาลอ่อน ภายในผลมีเมล็ดขนาดเล็กจำนวนมาก ซึ่งผลจะนิยมนำมาตากแห้งหรือนำไปอบแห้ง เพื่อใช้ทำเป็นเครื่องเทศที่ใช้ประกอบอาหารเพื่อช่วยเพิ่มกลิ่นหอมให้อาหารน่ารับประทานมากยิ่งขึ้น และยังช่วยดับกลิ่นคาวได้ดีเหมือนกับใบ

2.2.2.2 สรรพคุณและประโยชน์ของยี่หร่า

1) สามารถช่วยยับยั้งหรือช่วยชะลอการขยายตัวของเซลล์มะเร็ง บำรุงธาตุในร่างกาย

2) ใบยี่หร่าอุดมไปด้วยวิตามินซีและธาตุแคลเซียม ซึ่งมีสรรพคุณในการช่วยขับเหงื่อซึ่งเป็นของเสียออกจากร่างกาย ช่วยแก้อาการคลื่นไส้ แก้โรคเบื่ออาหาร แก้อาการปวดท้องเนื่องจากอาหาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไม่ย่อย ช่วยแก้อาการท้องอืด ท้องเฟ้อ อาการปวดท้อง ช่วยในการขับลมในลำไส้ และยังใช้เป็นเครื่องปรุงหรือเป็นส่วนประกอบในอาหารบางชนิด เช่น แกง ซุป ต้มยำ เป็นต้น และยังช่วยดับกลิ่นคาวของเนื้อสัตว์ได้เป็นอย่างดี

3) เมล็ดช่วยในการถนอมอาหารประเภทเนื้อสัตว์ ด้วยการนำมาป่นหรือตำผสมในเนื้อสัตว์เวลาหมัก เนื่องจากน้ำมันหอมระเหยนั้นมีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ จึงช่วยป้องกันอาหารไม่ให้เกิดการบูดเน่าเสียเร็วขึ้น และยังช่วยป้องกันกลิ่นเหม็นอับของเนื้อสัตว์เวลาหมักก่อนนำไปตากแห้ง

4) น้ำมันหอมระเหยจากยี่หร่ามีฤทธิ์ช่วยระงับอาการหดเกร็งของลำไส้ และมีฤทธิ์ทำให้กล้ามเนื้อมดลูกคลายตัว ซึ่งจะช่วยลดอาการปวดประจำเดือนในสตรีได้

5) อาหารไทยบางชนิดนิยมใช้ยี่หร่าในการช่วยปรุงแต่งกลิ่นอาหาร ด้วยการคั่วเมล็ดมาโขลกผสมกับเครื่องแกง ทำเป็นแกงเผ็ด แกงเขียวหวาน แกงกะหรี่ เป็นต้น

2.2.3 ฟ้าทะลายโจร

รูปที่ 2.9 แสดงลักษณะของใบฟ้าทะลายโจร

ที่มา : http://www.thaihealth.or.th

ชื่อสามัญ : Kariyat

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Andrographis paniculata* (Burm.f.) จัดอยู่ในวงศ์เหงือกปลาหมอ (Acanthaceae)

ชื่อท้องถิ่นอื่น ๆ : ฟ้าทะลาย ฟ้าทะลายโจร น้ำลายพังพอน (กรุงเทพมหานคร), สามสิบดี เขตตาย ยายคลุม (ร้อยเอ็ด), หญ้ากันงู (สงขลา), ฟ้าสะท้าน (พัทลุง), เมฆทะลาย (ยะลา), ฟ้าสาง (พนัสนิคม), ขุนโจรห้าร้อย (ภาคกลาง), ซวนซิน เหลียง เจ็กเกี่ยงสี่ คีปังฮี โซ่วเซ่า (จีน) เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.3.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

1) ต้นฟ้าทะลายโจร

จัดเป็นพืชล้มลุกที่มีความสูงประมาณ 30-70 เซนติเมตร หรือประมาณ 1-2 ศอก ลำต้นเป็นสี่เหลี่ยม แตกกิ่งมาก ทุกส่วนของต้นมีรสขม กิ่งเป็นใบสีเหลี่ยม สามารถพบได้ทั่วไปในประเทศไทย ลาว กัมพูชา มาเลเซีย อินโดนีเซีย เวียดนาม จีน และหมู่เกาะในทะเลแคริบเบียน

2) ใบฟ้าทะลายโจร

ลักษณะเป็นใบเดี่ยว แผ่นใบสีเขียวเข้มเป็นมัน ลักษณะของใบรียาว ปลายใบแหลม

3) ดอกฟ้าทะลายโจร

ออกดอกเป็นช่อที่ปลายกิ่งและตามซอกใบ ดอกมีขนาดเล็กสีขาว มีดอกย่อย กลีบดอกมีสีขาวโคนกลีบติดกัน ปลายแยกเป็น 2 ปาก ปากบนมี 3 กลีบ (มีเส้นสีม่วงแดงพาดอยู่) ส่วนปากล่างมี 2 กลีบ

4) ผลฟ้าทะลายโจร

ลักษณะเป็นฝัก ฝักจะคล้ายกับฝักต้อยติ่ง (หรือเป๊าะแป๊ะ) ฝักอ่อนมีสีเขียว เมื่อแก่ฝักจะเป็นสีน้ำตาลและแตกได้ ภายในฝักมีเมล็ดสีน้ำตาลอ่อนจำนวนมาก

2.2.3.2 สรรพคุณและประโยชน์ของฟ้าทะลายโจร

สมุนไพรฟ้าทะลายโจร มีสารสำคัญที่ออกฤทธิ์ทางยาสมุนไพรอยู่ 3 สารด้วยกัน โดยเป็นสารในกลุ่ม Lactone ซึ่งก็คือ สารแอดโดรกราโฟไลด์ (Andrographolide), สารนีโอแอนโดรกราโฟไลด์ (Neo-Andrographolide), และสาร 14-ดีอ๊อกซี่แอนโดรกราโฟไลด์ (14-deoxy-andrographolide) โดยส่วนที่นำมาใช้เป็นยาสมุนไพรได้แก่ ใบสด ใบแห้ง และทั้งต้น โดยใบจะเก็บมาใช้ได้เมื่อต้นมีอายุได้ราว 3-5 เดือน

1) ช่วยต่อต้านอนุมูลอิสระในร่างกาย ช่วยกระตุ้นการสร้างภูมิคุ้มกันในร่างกาย ต่อต้านสิ่งแปลกปลอมที่เข้ามาในร่างกาย รวมไปถึงช่วยกระตุ้นการสร้างเม็ดเลือดขาวให้จับกินเชื้อโรคได้ดียิ่งขึ้น มีฤทธิ์ช่วยยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็ง ใบใช้เป็นยาขมช่วยทำให้เจริญอาหาร ช่วยป้องกันและแก้อาการหวัด คัดจมูก

2) ช่วยลดและขับเสมหะ ระงับอาการอักเสบ แก้อาการเจ็บคอ คออักเสบ ต่อมทอนซิลอักเสบ หลอดลมอักเสบ

3) ช่วยแก้อาการติดเชื้อ ระงับการเจริญเติบโตของเชื้อโรคที่เป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดอาการปวดท้อง ท้องเสีย ท้องร่วง ท้องเดิน เป็นบิด ด้วยการใช้ทั้งต้น นำมาผึ่งลมให้แห้งแล้วหั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ ประมาณ 1 กำมือ แล้วนำมาต้มกับน้ำดื่มตลอดวัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4) ช่วยแก้อาการร้อนใน

5) ช่วยบรรเทาอาการของโรคริดสีดวง จะช่วยทำให้อาการเลือดออกหรืออาการปวดถ่วงหายไป ทำให้ขับถ่ายได้สะดวกยิ่งขึ้น

6) ช่วยรักษาโรคผิวหนัง ฝี แผลฝี ช่วยรักษาแผลอักเสบที่เกิดจากโรคเบาหวาน

7) ช่วยยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของการเกิดหนองได้

8) ช่วยแก้ปัญหาผมร่วง ด้วยการใช้ฟ้าทะลายโจรแคปซูล โดยใช้ครั้งละ 1 แคปซูลด้วยการนำผงดังกล่าวไปละลายในน้ำอุ่น แล้วนำมาชโลมให้ทั่วหนังศีรษะ ทิ้งไว้สักพักแล้วล้างออก ปัจจุบันได้มีการนำสมุนไพรฟ้าทะลายโจรมาผลิตเป็น แคปซูลฟ้าทะลายโจร ซึ่งหาซื้อมารับประทานได้ง่ายและสะดวกในการรับประทานมากยิ่งขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

สุจรรยา (2556) ได้ทำการแยกเชื้อเอนโดไฟติคแอคติโนมัยซีสจากพืชสมุนไพร 4 ชนิด โดยวิธีการฆ่าเชื้อที่พื้นผิวและแยกเชื้อได้ทั้งหมด 16 ไอโซเลท นำมาทดสอบความสามารถในการต้านการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ พบว่ามี 14 ไอโซเลทที่สามารถต้านการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบได้ ทั้งแบคทีเรียแกรมบวก (*Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis* และ *Staphylococcus aureus*) แบคทีเรียแกรมลบ (*Escherichia coli*, *Salmonella typhi* และ *Serratia marcescens*) และยีสต์ (*Candida albicans*) ซึ่งไอโซเลท BO-03, BO-07, BO-08 และ AL-03 สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ดีที่สุด จากนั้นทำการสกัดสารสกัดหยาบจากเชื้อแอคติโนมัยสีททั้ง 4 ไอโซเลท ด้วยตัวทำละลาย เอทิลอะซิเตด พบว่าสารสกัดหยาบมีฤทธิ์ต้านการเจริญของเชื้อและมีฤทธิ์ในการต้านสารอนุมูลอิสระ จากนั้นนำสารสกัดหยาบ BO-07 มาทดสอบความสามารถในการต้านการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ ด้วยวิธี Bioautography สามารถต้านการเจริญของ *Staphylococcus aureus* และทำการจำแนกเชื้อแอคติโนมัยซีสไอโซเลท BO-07 เมื่อนำมาศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์ของ 16S rDNA พบว่าเชื้อ BO-07 จัดอยู่ในจีนัส *Streptomyces* และจากการวิเคราะห์โดยใช้วิธีต้นไม้วิวัฒนาการของ 16S rDNA พบว่าเชื้อ BO-07 มีความใกล้เคียงกับ *Streptomyces daghestanicus* ถึง 99.73%

ชาลิสา (2557) ทำการศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดด้วยเอทานอลจากใบ ผล เปลือกกรวยป่า ใบผล กะทกรกป่า ใบข่อย ใบ ผลครอบฟันสี ใบ ผลโคกกระออม ใบฟักข้าว ใบละหุ่ง ใบเล็บเหยี่ยว ใบสาบเสือ และใบ เนื้อราก เปลือกรากสามสิบ ต่อเชื้อ *Staphylococcus aureus* และ Methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) ด้วยวิธี Agar disc diffusion ผลการทดลองพบว่า สารสกัดจากผลกรวยป่ามีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้ดี โดยมีค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลาง ของบริเวณยับยั้ง เท่ากับ 12.97 มิลลิเมตร สารสกัดจากเปลือกกิ่งกรวยป่า ใบสาบเสือ และ เปลือกรากสามสิบ มีค่าเท่ากับ 6.95, 9.12, และ 6.3 มิลลิเมตร ตามลำดับ และสารสกัดจากผลกรวยป่ามีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ MRSA NPRC001R ได้ดีที่สุด และทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อ (MIC) และ หาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อด้วยวิธี Broth micro dilution สารสกัดจากผลกรวยป่า มีค่า MIC/MBC ต่อเชื้อ *S. aureus* และ MRSA NPRC001R ได้ดีที่สุด เมื่อประเมินฤทธิ์สารสกัดจากผลกรวยป่าต่อเชื้อ MRSA 48 ไอโซเลท มีค่า MIC/MBC อยู่ระหว่าง 0.16-1.28/0.16-5.12 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิ่งจันทน์ (2555) ได้ทำการคัดแยกไอโซเลตแอคติโนแบคทีเรีย จากดินตัวอย่าง 40 ตัวอย่าง โดยสุ่มเก็บดินตัวอย่างจากบริเวณต่างๆ ภายในอุทยานแห่งชาติภูลังกา เช่น ดินใต้กล้วยไม้, ดินจอมปลวก, ดิน ใต้ต้นไม้ และดินบริเวณเห็ดเจริญ pretreatment ดินด้วย CaCO3 และตากดินให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 2 วัน ก่อนทำการคัดแยกแอคติโนแบคทีเรีย ด้วยวิธีการ serial dilution และ spread plate technique บนอาหาร starch casein agar บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5-7 วัน สัณฐานวิทยาของโคโลนีของแอคติโนแบคทีเรียที่ปรากฏบนอาหาร starch casein agar โดยรวมโคโลนีส่วนใหญ่มีสีขาว เทา น้ำตาล และครีม เมื่อจัดจำแนกจีนัสไอโซเลตแอคติโนแบคทีเรียพบว่า 125 ไอโซเลต มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาคล้ายคลึงกับจีนัส *Streptomyces* เช่น *Streptomyces* sp.E1-7, C6-2 และ C6-5 เป็นต้น ลักษณะเซลล์ย้อมติดสีแกรมบวก สร้างสปอร์เป็นจำนวนมาก ลักษณะสปอร์แบบ conidia ต่อกันเป็นสายโซ่ยาวและเป็นเกลียว ไอโซเลต A14-4, C5-2 และ E5-1 มี ลักษณะทางสัณฐานวิทยาคล้ายคลึงกับจีนัส *Microbispora* ซึ่งจะมีลักษณะของสปอร์ต่อกัน 2 สปอร์ และ มีเพียงไอโซเลต A11-1 ที่มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาคล้ายคลึงกับจีนัส *Microtetraspora* มีลักษณะของสปอร์ต่อกัน 4 สปอร์

ปวีณาและคณะ ทำการคัดแยกแอคติโนมัยสีทจากดินนาเกลือด้วยอาหาร humic acid vitamin agar และ starch casein agar ที่ ผสมเกลือและไม่ผสมเกลือได้จำนวน 455 ไอโซเลท โดยเป็นไอโซเลทที่คัดแยกได้จากอาหารที่ผสมเกลือและไม่ผสมเกลือจำนวน 93 และ 362 ไอโซเลท ตามลำดับ จากการศึกษา พบว่าแอคติโนมัยสีทกลุ่ม non-streptomycetes มีจำนวนมากกว่ากลุ่ม streptomycetes นำไอโซเลททั้งหมดมาทดสอบความสามารถในการสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ พบว่าแอคติโนมัยสีทจำนวน 50 ไอโซเลท สามารถยับยั้ง *Candida albicans* และจำนวน 239 ไอโซเลท สามารถสร้างเอนไซม์ L-asparaginase เมื่อศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน 16S rRNA ของไอโซเลท HA25-07 ซึ่งมีความสามารถในการสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพสูงที่สุด พบว่ามีลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน 16S rRNA เหมือนกับ *Streptomyces variabilis* NBRC 12825T

ทัศนีย์ (2559) ทำการศึกษาผลของสารสกัดสมุนไพรไทยต่อการการยับยั้งเจริญเติบโตของเชื้อ *Aromonas hydrophila* จากสารสกัดสมุนไพรไทย 7 ชนิด ได้แก่ ขมิ้นชัน ขิง กระเทียม มะกรูด ฟ้าทะลายโจร กะเพรา และทองพันชั่ง โดยใช้ตัวทำละลาย 2 ชนิด ได้แก่ เอทานอล และเมทานอล ทำการศึกษาประสิทธิภาพของสมุนไพร ด้วยวิธี Agar well diffusion และ Broth dilution พบว่าสมุนไพรไทยที่มีผลให้ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางส่วนใสเฉลี่ยมากที่สุด คือ ขมิ้นชัน ที่ใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางส่วนใสเท่ากับ 2.93±0.60 เซนติเมตร ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย (MIC) ในการศึกษาครั้งนี้ไม่สามารถอ่านผลได้เนื่องจากสมุนไพรมีสีที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เข้มมาก ทำให้มอง ไม่เห็นความขุ่นจากการเจริญเติบโตของเชื้อ *A. hydrophila* ภายในหลอดทดลอง จึงทำการศึกษาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (MBC) เพียงอย่างเดียว ผลการจากศึกษาพบว่า ขมิ้นชัน (Curcuma longa) ที่ใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลายมีค่า MBC สูงที่สุดเท่ากับ 7.81 ส่วนในพันส่วน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

วิธีการดำเนินงาน

3.1 สารเคมี

3.1.1 สารเคมีสำหรับฟอกฆ่าเชื้อ

3.1.1.1 เอทานอล (Ethanol) 70%

3.1.1.2 เอทานอล (Ethanol) 95%

3.1.1.3 น้ำกลั่น (Distilled Water)

3.1.1.4 สารยับยั้งเชื้อรา (Nystasin)

3.1.1.5 Tween 20 0.1%

3.1.1.6 Sodium hypochlorite 1%

3.1.2 สารเคมีที่ใช้ในการทดสอบฤทธิ์ต้านจุลชีพ

3.1.2.1 เอทิลอะซิเตท (Ethyl acetate)

3.1.2.2 เมทานอล (Methanol)

3.1.2.3 โซเดียมคลอไรด์ (Nacl) 0.85 %

3.2 อาหารเลี้ยงเชื้อ

3.2.1 Starch casein agar

3.2.2 Yeast extract malt extract agar (ISP2)

3.2.3 Muller's hinton agar

3.3 พืชสมุนไพร

3.3.1 กระเทียม *(Allium sativum)*

3.4 เชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ

3.4.1 *Escherichia coli* ATCC25922

3.4.2 *Staphylococcus aureus* ATCC25923

3.4.3 *Pseudomonas aeruginosa* ATCC28753

3.4.4 *Bacillus subtilis* ATCC6633

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.5 Methicillin resistance *Staphylococcus aureus*

3.4.6 *Candida albicans* ATCC10231

3.4.7 *Micrococcus luteus* ATCC25923

3.5 อุปกรณ์และเครื่องมือต่างๆ

3.5.1 จานเพาะเชื้อ (Petri Dish)

3.5.2 ปากคีบ (Forceps)

3.5.3 มีดผ่าตัด (scalpel)

3.5.4 ขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (Tissue culture bottle)

3.5.5 โกร่งบด (Mortar and pestle)

3.5.6 เครื่องแก้ว (หลอดทดลอง, บีกเกอร์, แท่งแก้ว ฯลฯ)

3.5.7 อุปกรณ์วัดปริมาตร (ไมโครปิเปต, ปิเปต, กระบอกตวง ฯลฯ)

3.5.8 เครื่องกวนสารให้ความร้อน (Hot plate and magnetic stirrer)

3.5.9 เครื่องชั่ง (Balance)

3.5.10 ตู้ปลอดเชื้อชนิดลมเป่า (Laminar air flow)

3.5.11 หม้อนึ่งความดันไอ (Autoclave)

3.5.12 ตู้อบลมร้อน (Hot air oven)

3.5.13 ตู้บ่มเพาะเชื้อ (Incubator)

3.6 ขั้นตอนในการดำเนินงาน

3.6.1 การเตรียมตัวอย่างพืช

3.6.1.1 ทำการเก็บตัวอย่างพืชสมุนไพร นำมาชะล้างดินออกด้วยน้ำประปา

3.6.1.2 ทำการแยกชิ้นส่วนพืชออกเป็น 3 ส่วน ได้แก่ ราก ลำต้น และใบ โดยตัดชิ้นส่วนพืชแต่ละส่วนให้เป็นชิ้นเล็กๆ ขนาดความกว้างและความยาวประมาณ 1 เซนติเมตร

3.6.2 การฟอกฆ่าเชื้อพืชตัวอย่างด้วยวิธี Surface Sterilization

3.6.2.1 นำตัวอย่างพืชที่ตัดแยกชิ้นส่วนแล้วมาแช่ใน Tween 20 ที่ความเข้มข้น 0.1% เป็นเวลา 20-30 วินาที แล้วล้างออกด้วยน้ำกลั่นปราศจากเชื้อ 3 ครั้ง

3.6.2.2 แช่ชิ้นส่วนตัวอย่างพืชในแอลกอฮอล์ ที่ความเข้มข้น 95% เป็นเวลา 7 นาที สำหรับใบ และ 13 นาที สำหรับรากและเหง้า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.6.2.3 ทำการฟอกฆ่าเชื้อด้วย Sodium hypochrite ที่ความเข้มข้น 1% เป็นเวลา 7 นาที สำหรับใบ และ 13 นาที สำหรับรากและเหง้า โดยเวลาที่ใช้สามารถเปลี่ยนแปลงได้ซึ่งจะขึ้นอยู่กับความเปราะบางของชิ้นส่วนพืชและชนิดของพืชที่นำมาใช้ทดลอง

3.6.2.4 นำมาล้างด้วยน้ำกลั่นปราศจากเชื้อ 3 ครั้ง แล้วใช้น้ำกลั่นที่ล้างครั้งสุดท้ายเป็น Positive control โดยดูดน้ำกลั่นปราศจากเชื้อที่ใช้ล้างชิ้นส่วนพืชครั้งสุดท้ายปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร แล้วทำการ Spread plate ลงบนอาหาร Starch casein agar ที่มีส่วนผสมของสารปฏิชีวนะ Nystasin เพื่อยับยั้งการเจริญของเชื้อรา

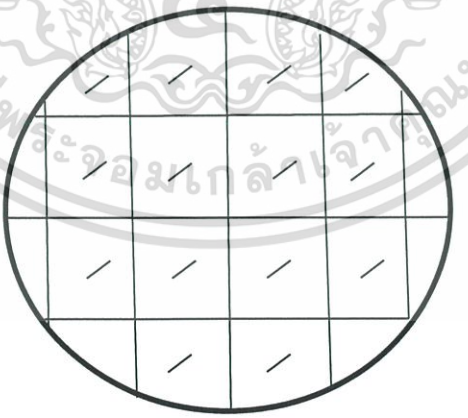
3.6.2.5 นำชิ้นส่วนของพืชที่ผ่านการ Surface Sterilization มาบดด้วยโกร่งและผสมน้ำกลั่นปราศจากเชื้อ 0.4 มิลลิลิตร แล้วดูดสารละลายปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร มาทำการ Spread plate ลงบนอาหาร Starch casein agar ที่มีส่วนผสมของสารปฏิชีวนะ Nystasin เพื่อยับยั้งการเจริญของเชื้อรา

3.6.3 การบ่มเชื้อเอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีท

เมื่อทำการ Spread plate แล้ว นำไปบ่มที่อุณหภูมิห้องและทำการเก็บผลทุกๆ 3 วัน เป็นเวลา 14-30 วัน และเช็คผลทุกๆ 3 วัน

3.6.4 การคัดแยกเชื้อเอนโดไฟติกแอคติมัยสีทให้บริสุทธิ์

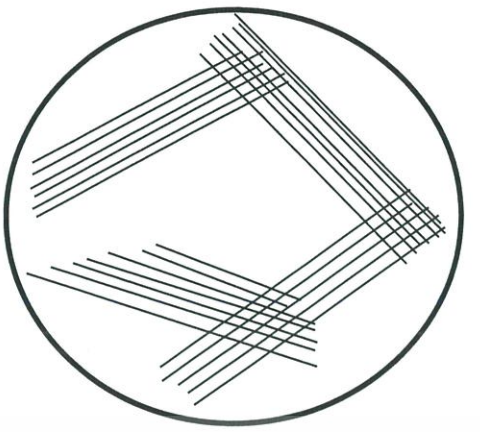
3.6.4.1 เมื่อทำการเก็บทุกๆ 3 วัน แล้วเลือกโคโลนีเดี่ยว โดยใช้เข็มเขี่ยเชื้อที่เป็นโคโลนีเดี่ยวลงบนอาหาร ISP2 แล้วบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2-5 วัน ตัวอย่างดังรูปที่ 3.1



รูปที่ 3.1 แสดงวิธีการคัดแยกเชื้อเอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีท

3.6.4.2 เมื่อมีการเจริญของเชื้อแล้ว ทำการคัดเลือกโคโลนีของเชื้อเอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีท แล้ว subculture ด้วยวิธีการ cross streak ลงบนอาหาร ISP2 เพื่อให้ได้เชื้อแอคติโนมัยสีทที่บริสุทธิ์ ตัวอย่างดังรูปที่ 3.2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



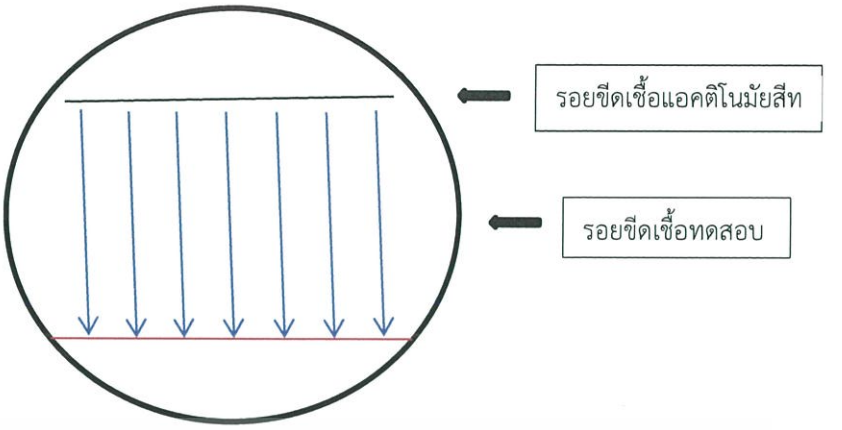
รูปที่ 3.2 แสดงวิธีการ cross streak เพื่อคัดแยกเชื้อแอคติโนมัยสีทให้บริสุทธิ์

3.6.5 การทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ที่นำมาใช้ทดสอบโดยวิธี Primary screening (Gaeehowham *et al.*, 2009)

3.6.5.1 เมื่อได้เชื้อแอคติโนมัยสีทที่ได้จากการคัดแยกให้บริสุทธิ์แล้ว ขีดเชื้อแอคติโนมัยสีทลงบนอาหาร ISP2 โดยวิธี Agar cross streak method (Waskman, 1940) ลักษณะเป็นเส้นตรงหนึ่งเส้นบริเวณด้านใดด้านหนึ่งของจานเพาะเชื้อ แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน

3.6.5.2 นำเชื้อแบคทีเรียที่เตรียมไว้ใช้ทดสอบโดยจะต้องมีอายุอยู่ในช่วง 24-48 ชั่วโมง มีทั้งหมด 7 ชนิด ได้แก่ *Escherichia coli* ATCC25922, *Staphylococcus aureus* ATCC25923 , *Pseudomonas aeruginosa* ATCC28753, *Bacillus subtilis* ATCC6633, Methicillin resistance *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* ATCC10231 และ *Micrococcus luteus* ATCC25923 นำเชื้อทดสอบมาขีดเป็นเส้นตรงตั้งฉากกับเชื้อแอคติโนมัยสีทที่ขีดไว้แล้ว โดยขีดเชื้อทดสอบให้ใกล้กับเชื้อแอคติโนมัยสีทมากที่สุดและมีความยาวแต่ละเส้นเท่ากัน หลังจากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วตรวจผลการสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพโดยสังเกตได้จากการเกิดบริเวณยับยั้ง (Inhibitin zone) ที่เกิดขึ้นระหว่างโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทและเชื้อแบคทีเรียทดสอบ ทำการเก็บผลทุกๆ 24 ชั่วโมง เป็นเวลา 3 วัน และบันทึกค่าบริเวณที่เกิดการยับยั้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 3.3 แสดงวิธีการ Primary screening

3.6.6 การศึกษาลักษณะทางฟีโนไทป์ (Phenotype) ของเอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีท

การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและลักษณะการเจริญของเชื้อเอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีท ทำได้โดยการนำเชื้อเอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีทมาขีดลงอาหารแข็ง ISP2 ด้วยวิธีการ steak plate และบ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7-14 วัน หลังจากนั้นสังเกตุการเจริญของโคโลนี เส้นใย สีของเส้นใย และสีของรงควัตถุเทียบกับกระดาษสีมาตรฐาน (the NBS-ISCC color system) และนำไปศึกษาลักษณะของสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงจุลทรรศน์แบบใช้แสงที่กำลังขยาย 40X ของเลนส์ส่องระยะไกล (Long working distence) บันทึกผลโดยใช้ภาพถ่าย 3 แบบ คือ ภาพรวม (overview) เพื่อสังเกตุสีของโคโลนี ภาพโคโลนีเดี่ยว เพื่อสังเกตุลักษณะของโคโลนี และภาพกำลังขยาย 40X เพื่อสังเกตลักษณะของสปอร์

3.6.7 การจัดจำแนกกลุ่มของเอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีท

คัดเลือกเชื้อเอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีทที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อทดสอบได้ดี นำมาจัดจำแนกเป็นกลุ่มตามลักษณะทางสัณฐานวิทยาเบื้องต้น หลังจากนั้นคัดเลือกตัวแทนของแต่ละกลุ่มที่มีผลต่อการยับยั้งเชื้อทดสอบได้ดีที่สุด กลุ่มละ 1 ไอโซเลท นำไปเพาะเลี้ยงและสกัดให้ได้สารสกัดหยาบเพื่อใช้ทดสอบในขั้นตอนต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.6.8 การเพาะเลี้ยงเชื้อเอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีทที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อทดสอบเพื่อนำไปสกัดให้ได้สารสกัดหยาบ (Taeehowisan *et al.*, 2009)

คัดเลือกเชื้อเอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีทที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อทดสอบได้ดี นำมาเพาะเลี้ยงในฟลากส์ขนาด 250 มิลลิลิตร โดยใช้อาหาร ISP2 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร จำนวน 2 ฟลากส์ เลี้ยงในสภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที กำหนดอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 14 วัน หลังจากนั้นนำมากรองเพื่อแยกเอาน้ำหมัก โดยใช้กระดาษ Whatman No.1 ในขั้นตอนการกรองนั้นจะต้องล้างอุปกรณ์การกรองและภาชนะที่ใส่ให้สะอาด และล้างด้วยแอลกอฮอล์ 95% เป็นลำดับสุดท้ายแล้วนำไปอบให้แห้งก่อนนำมาใช้งาน เพื่อไม่ให้สารที่อยู่ภายนอกเข้ามาปนเปื่อนในน้ำหมัก เมื่อกรองเสร็จนำส่วนของน้ำหมักไปทำการ partition โดยใช้กรวยแยก (Separatory funnel) ขนาด 1000 มิลลิลิตร และใช้ ethyl acetate เป็นตัวทำละลาย (ทำซ้ำกัน 3 ครั้ง ครั้งละ 3 นาที เพื่อให้สารที่อยู่ในน้ำหมักออกมากับตัวทำละลายได้หมด) หลังจากนั้นนำไปทำการระเหยตัวทำละลายออกเพื่อให้ได้สารสกัดหยาบ โดยวิธีระเหยแห้งภายใต้ความดันด้วยเครื่อง Rotary Evaporator จะทำให้ได้สารสกัดที่ต้องการ นำสารสกัดที่ได้ไปทำการดูดความชื้น โดยใช้โถดูดความชื้น (Desiccator) เพื่อทำให้สารสกัดแห้ง ทำการชั่งน้ำหนักสารสกัดหยาบที่ได้แล้วจึงนำไปทดสอบในขั้นตอนต่อไป (หากต้องการเก็บ stock ของสารสกัดหยาบ ควรเก็บสารสกัดหยาบไว้ในที่แห้งและมีอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส)

3.6.9 การทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ที่นำมาใช้ทดสอบโดยวิธี Agar disc diffusion (Lorian, 1980)

3.6.9.1 การเตรียมสารละลายมาตรฐาน McFartand standard No. 0.5 โดยใช้ 1% Sulfuric acid 9.95 ml ผสมกับ 1% Barium chloride 0.05 ml

3.6.9.2 การเตรียมเชื้อทดสอบ

เตรียมเชื้อทดสอบทั้งหมด 7 ชนิด ได้แก่ *Escherichia coli* ATCC25922, *Staphylococcus aureus* ATCC25923 , *Pseudomonas aeruginosa* ATCC28753, *Bacillus subtilis* ATCC6633, Methicillin resistance *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* ATCC10231 และ *Micrococcus luteus* ATCC25923 นำไปผสมกับสารละลายโซเดียมคลอไรด์ 0.85% ที่ปราศจากเชื้อและปรับค่าความขุ่นให้เท่ากับ McFarland standard No.0.5 หลังจากนั้นใช้ไม้พันสำลีที่ปราศจากเชื้อจุ่มกับสารละลายของเชื้อทดสอบที่ผสมโซเดียมคลอไรด์ 0.85% swab ลงในอาหารแข็ง Mueller-Hinton agar (MHA)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.6.9.3 การเตรียม Disc โดยชั่งสารสกัดหยาบของเอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีท 1 มิลลิกรัม เพื่อนำมาทำการเจือจางโดยใช้เมทานอลให้ได้ 2 ความเข้มข้นที่แตกต่างกันคือความเข้มข้น 1000 และ 500 ไมโครลิตร หลังจากนั้นนำสารละลายของสารสกัดหยาบที่เจือจางแล้วมาหยดลงไปในแผ่น disc ที่ปราศจากเชื้อแล้วปริมาตร 20 ไมโครลิตร รอให้แห้ง และนำแผ่น disc ไปวางบนอาหาร Mueller-Hinton agar (MHA) ที่ได้ทำการ swab เชื้อทดสอบไว้แล้ว

3.6.7.4 ตรวจผลโดย บ่มเชื้อทดสอบที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 วัน และทำการตรวจผลโดยการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณ Inhibition zone ของ disc ซึ่งจะแสดงความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ที่นำมาใช้ทดสอบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

4.1 ผลการคัดแยกเชื้อเอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีทจากส่วนต่างๆของพืชสมุนไพรตัวอย่าง

จากการเก็บตัวอย่างพืชสมุนไพร 1 ชนิด ได้แก่ กระเทียม ซึ่งเก็บตัวอย่างมาจากจังหวัดร้อยเอ็ด ในช่วงเดือนกุมภาพันธ์ พ.ศ.2561 เพื่อนำมาทำการคัดแยกเชื้อจากชิ้นส่วนของพืชออกทั้งหมด 3 ส่วน ได้แก่ ราก หัว และใบ นำมาฟอกฆ่าเชื้อพืชตัวอย่างด้วยวิธี Surface Sterilization และคัดแยกเชื้อเอนโดไฟติกแอคติมัยสีท แล้ว subculture ด้วยวิธีการ cross streak พบว่า ทำให้ได้เชื้อเอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีทจากยี่หราและฟ้าทะลายโจรทั้งหมด 66 ไอโซเลท จากงานวิจัยของ พรไพลินและคณะ (2559) ส่วนมากพบเชื้อเอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีทจากส่วนราก โดยพบมากถึง 62 ไอโซเลท คิดเป็น 93.93% ส่วนของใบและเหง้า พบส่วนละ 2 ไอโซเลทเท่ากัน และเชื้อเอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีทจากกระเทียมทั้งหมด 65 ไอโซเลท ซึ่งส่วนมากพบเชื้อเอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีทที่มาจากส่วนราก โดยพบมากถึง 54 ไอโซเลท คิดเป็น 83.08% รองลงมาคือส่วนของใบ พบ 11 ไอโซเลท คิดเป็น 16.92% และไม่พบในส่วนของหัวกระเทียม

ตารางที่ 4.1 แสดงจำนวนไอโซเลททั้งหมดของเอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีทที่แยกได้จากกระเทียม

ชนิดของพืช	ส่วนต่างๆของพืช	จำนวนไอโซเลท
ยี่หร่า (*Cuminum cyminum*)	ราก (CMR)	41
	เหง้า (CMS)	2
	ใบ (CML)	2
	รวมทั้งหมด	**45**
ฟ้าทะลายโจร (*Andrographis paniculata*)	ราก (APR)	21
	เหง้า (APS)	-
	ใบ (APL)	-
	รวมทั้งหมด	**21**
กระเทียม (*Allium sativum*)	ราก (R)	54
	หัว(S)	-
	ใบ(L)	11
	รวมทั้งหมด	**65**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หมายเหตุ : CMR หมายถึงเชื้อเอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีทที่แยกได้จากรากของยี่หรา

CMS หมายถึงเชื้อเอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีทที่แยกได้จากเหง้าของยี่หรา

CML หมายถึงเชื้อเอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีทที่แยกได้จากใบของยี่หรา

APR หมายถึงเชื้อเอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีทที่แยกได้จากรากของฟ้าทะลายโจร

APS หมายถึงเชื้อเอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีทที่แยกได้จากเหง้าของฟ้าทะลายโจร

APL หมายถึงเชื้อเอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีทที่แยกได้จากใบของฟ้าทะลายโจร

R หมายถึงเชื้อเอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีทที่แยกได้จากรากของกระเทียม

S หมายถึงเชื้อเอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีทที่แยกได้จากหัวของกระเทียม

L หมายถึงเชื้อเอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีทที่แยกได้จากใบของกระเทียม

4.2 ผลการทดสอบความสามารถเบื้องต้นในการยับยั้งการเจริญของเชื้อทดสอบ (Primary screen)

จากการคัดแยกเชื้อเอนโดไฟติกแอคติกโนมัยสีทจากกระเทียม ทำให้ได้เชื้อเอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีททั้งหมด 65 ไอโซเลท และเชื้อเอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีทจากยี่หราและฟ้าทะลายโจรจากงานวิจัยของ พรไพลินและคณะ (2559) ทั้งหมด 66 ไอโซเลท แล้วนำมาทดสอบความสามารถเบื้องต้นในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ ด้วยวิธี Primary screening (Gaeehowham *et al.*, 2009) โดยใช้เชื้อทดสอบทั้งหมด 7 ชนิด ได้แก่ *Escherichia coli* ATCC25922, *Staphylococcus aureus* ATCC25923 , *Pseudomonas aeruginosa* ATCC28753, *Bacillus subtilis* ATCC6633, Methicillin resistance *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* ATCC10231 และ *Micrococcus luteus* ATCC25923 และใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ ISP2 ซึ่งผลการสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจะสังเกตได้จากการเกิดบริเวณยับยั้ง (Inhibitin zone) ที่เกิดขึ้นระหว่างโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทและ เชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ พบว่าเชื้อที่คัดแยกได้จากกระเทียมทั้งหมด 65 ไอโซเลท มีเพียง 37 ไอโซเลท ที่เกิดบริเวณการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ ส่วนที่เหลือ 28 ไอโซเลท ไม่เกิดบริเวณการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ จากนั้นนำเชื้อที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบทั้ง 37 ไอโซเลท มาจัดจำแนกกลุ่มได้ทั้งหมด 5 กลุ่ม ส่วนเชื้อเอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีทจากยี่หราและฟ้าทะลายโจรทังหมด 66 ไอโซเลท มีเพียง 13 ไอโซเลท ที่เกิดบริเวณการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ ส่วนที่เหลือ 53 ไอโซเลท ไม่เกิดบริเวณการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ เมื่อนำเชื้อที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบทั้ง 13 ไอโซเลท มาจัดจำแนกกลุ่มได้ทั้งหมด 8 กลุ่ม ดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การทดสอบความสามารถเบื้องต้นในการยับยั้งการเจริญเชื้อทดสอบของยี่หราและฟ้าทะลายโจร

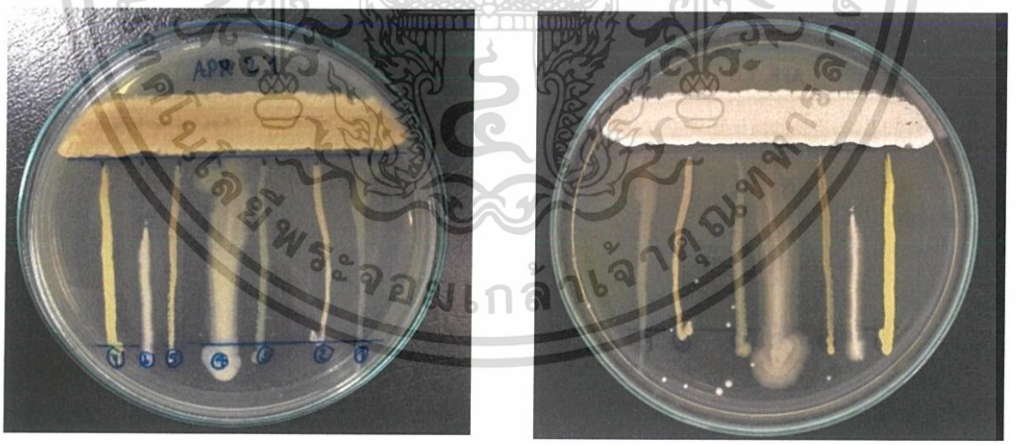
4.2.1) กลุ่มที่ 1 ประกอบด้วย 2 ไอโซเลท ได้แก่ APR 2.1, APR 2.2 ซึ่งให้ผลการยับยั้งเชื้อทดสอบ 1 ชนิด คือ *Candida albicans* ATCC10231 โดยไอโซเลท APR 2.1 มีบริเวณการยับยั้งได้ดีที่สุด คือ 14 มิลลิเมตร แสดงผลได้ดังนี้

ตารางที่ 4.2 แสดงผลการทดสอบเชื้อเอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีทเบื้องต้นของฟ้าทะลายโจรกลุ่มที่ 1

รหัสเชื้อ	บริเวณการยับยั้งการเจริญของเชื้อทดสอบ (มม.)						
	E.coli	*S.aureus*	*P.aeruginosa*	*B.subtilis*	MRSA	*C.albicans*	*M.luteus*
APR 2.1	-	-	-	-	-	14	-
APR 2.2	-	-	-	-	-	9	-

หมายเหตุ 1. เครื่องหมาย – หมายถึง ไม่มีฤทธิ์การยับยั้ง

2. เครื่องหมาย STA หมายถึง มีฤทธิ์การยับยั้งเชื้อได้แต่ไม่สามารถฆ่าเชื้อได้



รูปที่ 4.1 แสดงการเกิดบริเวณการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบของไอโซเลท APR 2.1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.2) กลุ่มที่ 2 ประกอบด้วย 2 ไอโซเลท APR 2.5, APR 2.15 ซึ่งให้ผลการยับยั้งเชื้อทดสอบ 1 ชนิด คือ *Candida albicans* ATCC10231 โดยไอโซเลท APR 2.15 มีบริเวณการยับยั้งได้ดีที่สุด คือ 4 มิลลิเมตร แสดงผลได้ดังนี้

ตารางที่ 4.3 แสดงผลการทดสอบเชื้อเอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีทเบื้องต้นของฟ้าทะลายโจรกลุ่มที่ 2

รหัสเชื้อ	บริเวณการยับยั้งการเจริญของเชื้อทดสอบ (มม.)						
	E.coli	*S.aureus*	*P.aeruginosa*	*B.subtilis*	MRSA	*C.albicans*	*M.luteus*
APR 2.5	-	-	-	-	-	4	-
APR 2.15	-	-	-	-	-	5	-

หมายเหตุ 1. เครื่องหมาย – หมายถึง ไม่มีฤทธิ์การยับยั้ง

2. เครื่องหมาย STA หมายถึง มีฤทธิ์การยับยั้งเชื้อได้แต่ไม่สามารถฆ่าเชื้อได้

รูปที่ 4.2 แสดงการเกิดบริเวณการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบของไอโซเลท APR 2.15

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

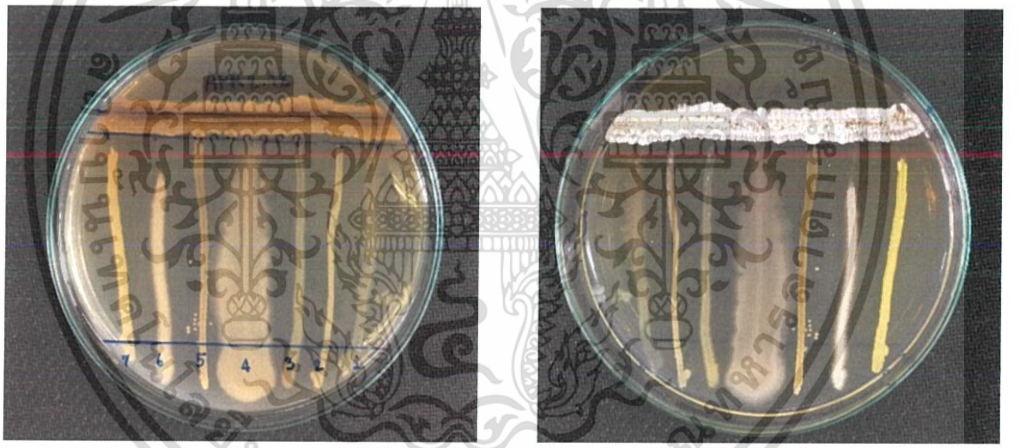
4.2.3) กลุ่มที่ 3 ประกอบด้วย 1 ไอโซเลท คือ APR 2.12 ซึ่งให้ผลการยับยั้งเชื้อทดสอบทั้งหมด 1 ชนิด คือ *Micrococcus luteus* ATCC25923 โดยมีบริเวณการยับยั้ง 7 มิลลิเมตร แสดงผลได้ดังนี้

ตารางที่ 4.4 แสดงผลการทดสอบเชื้อเอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีทเบื้องต้นของฟ้าทะลายโจรกลุ่มที่ 3

รหัสเชื้อ	บริเวณการยับยั้งการเจริญของเชื้อทดสอบ (มม.)						
	E. coli	*S. aureus*	*P. aeruginosa*	*B. subtilis*	MRSA	*C. albicans*	*M.luteus*
APR 2.12	-	-	-	-	-	-	7

หมายเหตุ 1. เครื่องหมาย – หมายถึง ไม่มีฤทธิ์การยับยั้ง

2. เครื่องหมาย STA หมายถึง มีฤทธิ์การยับยั้งเชื้อได้แต่ไม่สามารถฆ่าเชื้อได้



รูปที่ 4.3 แสดงการเกิดบริเวณการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบของไอโซเลท APR 2.12

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.4) กลุ่มที่ 4 ประกอบด้วย 1 ไอโซเลท คือ APR 2.16 ซึ่งให้ผลการยับยั้งเชื้อทดสอบทั้งหมด 2 ชนิด ได้แก่ *Bacillus subtilis* ATCC6633 และ Methicillin resistance *Staphylococcus aureus* โดยมีบริเวณการยับยั้งเชื้อ *B.subtilis* 3 มิลลิเมตร และ MRSA 3 มิลลิเมตร แสดงผลได้ดังนี้

ตารางที่ 4.5 แสดงผลการทดสอบเชื้อเอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีทเบื้องต้นของฟ้าทะลายโจรกลุ่มที่ 4

รหัสเชื้อ	บริเวณการยับยั้งการเจริญของเชื้อทดสอบ (มม.)						
	E. coli	*S. aureus*	*P. aeruginosa*	*B. subtilis*	MRSA	*C. albicans*	*M.luteus*
APR 2.16	-	-	-	3	3	-	7

หมายเหตุ 1. เครื่องหมาย – หมายถึง ไม่มีฤทธิ์การยับยั้ง

2. เครื่องหมาย STA หมายถึง มีฤทธิ์การยับยั้งเชื้อได้แต่ไม่สามารถฆ่าเชื้อได้

รูปที่ 4.4 แสดงการเกิดบริเวณการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบของไอโซเลท APR 2.16

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

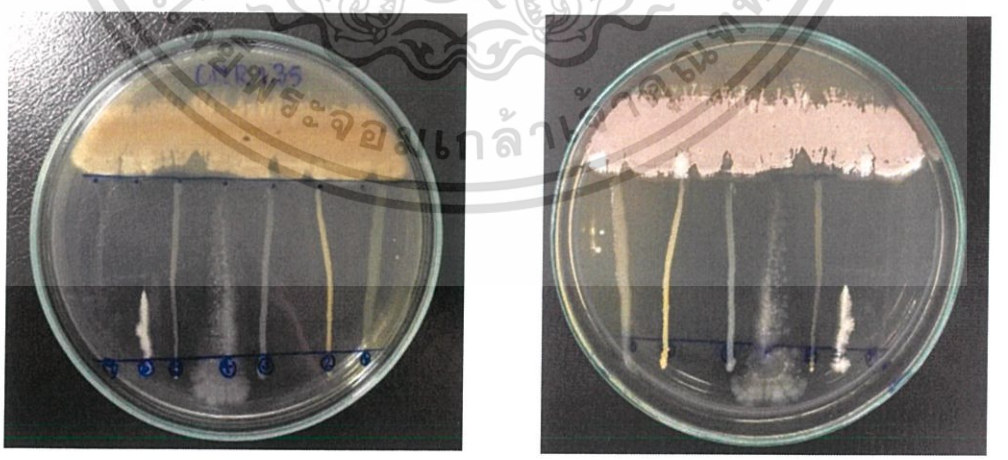
4.2.5) กลุ่มที่ 5 ประกอบด้วย 4 ไอโซเลท CMR 1.35, CMR 1.66, CMR 1.68, CMR 1.74 ซึ่งให้ผลการยับยั้งเชื้อทดสอบ 1 ชนิด คือ *Candida albicans* ATCC10231 โดยไอโซเลท CMR 1.35 มีบริเวณการยับยั้งได้ดีที่สุด คือ 35 มิลลิเมตร แสดงผลได้ดังนี้

ตารางที่ 4.6 แสดงผลการทดสอบเชื้อเอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีทเบื้องต้นของยี่หร่ากลุ่มที่ 5

รหัสเชื้อ	บริเวณการยับยั้งการเจริญของเชื้อทดสอบ (มม.)						
	E. coli	*S. aureus*	*P. aeruginosa*	*B. subtilis*	MRSA	*C. albicans*	*M.luteus*
CMR 1.35	-	-	-	-	-	25	-
CMR 1.66	-	-	-	-	-	12	-
CMR 1.68	-	-	-	-	-	20	-
CMR 1.74	-	-	-	-	-	21	-

หมายเหตุ 1. เครื่องหมาย – หมายถึง ไม่มีฤทธิ์การยับยั้ง

2. เครื่องหมาย STA หมายถึง มีฤทธิ์การยับยั้งเชื้อได้แต่ไม่สามารถฆ่าเชื้อได้



รูปที่ 4.5 แสดงการเกิดบริเวณการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบของไอโซเลท CMR 1.35

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.6) กลุ่มที่ 6 ประกอบด้วย 1 ไอโซเลท CMR 1.58 ซึ่งให้ผลการยับยั้งเชื้อทดสอบ 1 ชนิด คือ *Candida albicans* ATCC10231 โดยมีบริเวณการยับยั้ง 7 มิลลิเมตร แสดงผลได้ดังนี้

ตารางที่ 4.7 แสดงผลการทดสอบเชื้อเอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีทเบื้องต้นของยี่หร่ากลุ่มที่ 6

รหัสเชื้อ	บริเวณการยับยั้งการเจริญของเชื้อทดสอบ (มม.)						
	E. coli	*S. aureus*	*P. aeruginosa*	*B. subtilis*	MRSA	*C. albicans*	*M. luteus*
CMR 1.58	-	-	-	-	-	7	-

หมายเหตุ 1. เครื่องหมาย – หมายถึง ไม่มีฤทธิ์การยับยั้ง

2. เครื่องหมาย STA หมายถึง มีฤทธิ์การยับยั้งเชื้อได้แต่ไม่สามารถฆ่าเชื้อได้

รูปที่ 4.6 แสดงการเกิดบริเวณการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบของไอโซเลท CMR 1.58

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.7) กลุ่มที่ 7 ประกอบด้วย 1 ไอโซเลท CMR 1.38 ซึ่งให้ผลการยับยั้งเชื้อทดสอบ 1 ชนิด คือ *Escherichia coli* ATCC25922 โดยมีบริเวณการยับยั้ง 30 มิลลิเมตร แสดงผลได้ดังนี้

ตารางที่ 4.8 แสดงผลการทดสอบเชื้อเอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีทเบื้องต้นของยี่หร่ากลุ่มที่ 7

รหัสเชื้อ	บริเวณการยับยั้งการเจริญของเชื้อทดสอบ (มม.)						
	E. coli	*S. aureus*	*P. aeruginosa*	*B. subtilis*	MRSA	*C.albicans*	*M.luteus*
CMR 1.38	30	-	-	-	-	-	-

หมายเหตุ 1. เครื่องหมาย – หมายถึง ไม่มีฤทธิ์การยับยั้ง

2. เครื่องหมาย STA หมายถึง มีฤทธิ์การยับยั้งเชื้อได้แต่ไม่สามารถฆ่าเชื้อได้

รูปที่ 4.7 แสดงการเกิดบริเวณการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบของไอโซเลท CMR 1.38

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.8) กลุ่มที่ 8 ประกอบด้วย 1 ไอโซเลท CMR 1.42 ซึ่งให้ผลการยับยั้งเชื้อทดสอบ 1 ชนิด คือ *Micrococcus luteus* ATCC25923 โดยมีบริเวณการยับยั้ง 5 มิลลิเมตร แสดงผลได้ดังนี้

ตารางที่ 4.9 แสดงผลการทดสอบเชื้อเอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีทเบื้องต้นของยี่หร่ากลุ่มที่ 8

รหัสเชื้อ	บริเวณการยับยั้งการเจริญของเชื้อทดสอบ (มม.)						
	E. coli	*S. aureus*	*P. aeruginosa*	*B. subtilis*	MRSA	*C.albicans*	*M.luteus*
CMR 1.42	-	-	-	-	-	-	5

หมายเหตุ 1. เครื่องหมาย – หมายถึง ไม่มีฤทธิ์การยับยั้ง

2. เครื่องหมาย STA หมายถึง มีฤทธิ์การยับยั้งเชื้อได้แต่ไม่สามารถฆ่าเชื้อได้

รูปที่ 4.8 แสดงการเกิดบริเวณการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบของไอโซเลท CMR 1.42

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.10 แสดงความสามารถเบื้องต้นของเอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีทจากยี่หราและฟ้าทะลายโจรต่อการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ

กลุ่ม	รหัสเชื้อ	*E. coli*	*S. aureus*	*P. aeruginosa*	*B. subtilis*	MRSA	*C. albicans*	*M. luteus*
1	APR2.1 APR2.2	-	-	-	-	-	+	-
2	APR2.5 APR2.15	-	-	-	-	-	+	-
3	APR2.12	-	-	-	-	-	-	+
4	APR 2.16	-	-	-	+	+	-	-
5	CMR1.35 CMR1.66 CMR1.68 CMR1.74	-	-	-	-	-	+	-
6	CMR1.58	-	-	-	-	-	+	-
7	CMR1.38	+	-	-	-	-	-	-
8	CMR1.42	-	-	-	-	-	-	+

หมายเหตุ 1. เครื่องหมาย – หมายถึง ไม่มีฤทธิ์การยับยั้ง

2. เครื่องหมาย + หมายถึง มีฤทธิ์การยับยั้งเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.9) กลุ่มที่ 1 ประกอบด้วย 26 ไอโซเลท คือ R24, R26, R27, R28, R30, R31, R32, R34,R35,R36,R37,R52,R53,R54,R55,R57,R58,R59,R63,R65,R66,R68,R71,R72,R75 และ L13 ซึ่งให้ผลการยับยั้งเชื้อทดสอบทั้งหมด 6 ชนิด ได้แก่ *Staphylococcus aureus* ATCC25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC28753, *Bacillus subtilis* ATCC6633, Methicillin resistance *Staphylococcus aureus, Candida albicans* ATCC10231 และ *Micrococcus luteus* ATCC25923 โดยไอโซเลท R63 มีบริเวณการยับยั้งได้ดีที่สุด คือ ยับยั้งเชื้อ *B.subtilis* 33 มิลลิเมตร, *C.albicans* 14 มิลลิเมตร และ *M.luteus* 26 มิลลิเมตร แสดงผลได้ดังนี้

ตารางที่ 4.11 แสดงผลการทดสอบเชื้อเอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีทเบื้องต้นของกระเทียมกลุ่มที่ 1

รหัสเชื้อ	บริเวณการยับยั้งการเจริญของเชื้อทดสอบ (มม.)						
	E. coli	*S. aureus*	*P. aeruginosa*	*B. subtilis*	MRSA	*C.albicans*	*M.luteus*
R24	-	8 STA	-	-	-	8	-
R26	-	-	-	34	-	-	32
R27	-	-	-	16	-	10	-
R28	-	-	-	25	-	-	-
R30	-	-	-	26	-	-	-
R31	-	-	-	13	-	8	4
R32	-	-	-	21	-	10	-
R34	-	-	-	17	-	-	13
R35	-	-	-	26	-	-	14
R36	-	-	-	35	-	-	-
R37	-	-	-	38	-	-	25
R52	-	-	-	12	-	4	-
R53	-	-	-	33	-	9	-
R54	-	-	-	12	-	-	22
R55	-	-	-	30	-	10	-
R57	-	-	-	33	-	-	10
R58	-	-	-	4	-	-	6

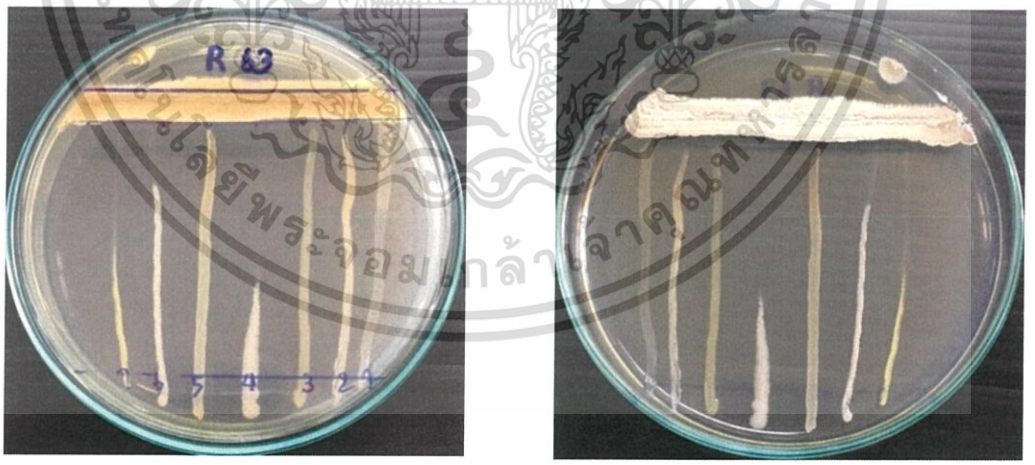
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.11 แสดงผลการทดสอบเชื้อเอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีทเบื้องต้นของกระเทียมกลุ่มที่ 1 (ต่อ)

รหัสเชื้อ	บริเวณการยับยั้งการเจริญของเชื้อทดสอบ (มม.)						
	E. coli	*S. aureus*	*P. aeruginosa*	*B. subtilis*	MRSA	*C.albicans*	*M.luteus*
R59	-	-	-	12	-	-	16
R63	-	-	-	33	-	14	26
R65	-	5 STA	-	35	-	-	26
R66	-	5 STA	-	37	5 STA	-	25
R68	-	-	-	30	-	4	-
R71	-	-	-	34	-	-	-
R72	-	6 STA	-	27	-	-	-
R75	-	-	-	21	-	7	-
L13	-	-	-	-	-	7	-

หมายเหตุ 1. เครื่องหมาย – หมายถึง ไม่มีฤทธิ์การยับยั้ง

2. เครื่องหมาย STA หมายถึง มีฤทธิ์การยับยั้งเชื้อได้แต่ไม่สามารถฆ่าเชื้อได้



รูปที่ 4.9 แสดงการเกิดบริเวณการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบของไอโซเลท R63

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.10) กลุ่มที่ 2 ประกอบด้วย 1 ไอโซเลท คือ R39 ซึ่งให้ผลการยับยั้งเชื้อทดสอบทั้งหมด 3 ชนิด ได้แก่ *Escherichia coli* ATCC25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC28753 และ *Bacillus subtilis* ATCC6633 โดยมีบริเวณการยับยั้งเชื้อ *E.coli* 28 มิลลิเมตร, *P.aeruginosa* 30 มิลลิเมตร และ *B.subtilis* 32 มิลลิเมตร แสดงผลได้ดังนี้

ตารางที่ 4.12 แสดงผลการทดสอบเชื้อเอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีทเบื้องต้นของกระเทียมกลุ่มที่ 2

รหัสเชื้อ	บริเวณการยับยั้งการเจริญของเชื้อทดสอบ (มม.)						
	E. coli	*S. aureus*	*P. aeruginosa*	*B. subtilis*	MRSA	*C.albicans*	*M.luteus*
R39	28	-	30	32	-	-	-

หมายเหตุ 1. เครื่องหมาย – หมายถึง ไม่มีฤทธิ์การยับยั้ง

2. เครื่องหมาย STA หมายถึง มีฤทธิ์การยับยั้งเชื้อได้แต่ไม่สามารถฆ่าเชื้อได้

รูปที่ 4.10 แสดงการเกิดบริเวณการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบของไอโซเลท R39

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

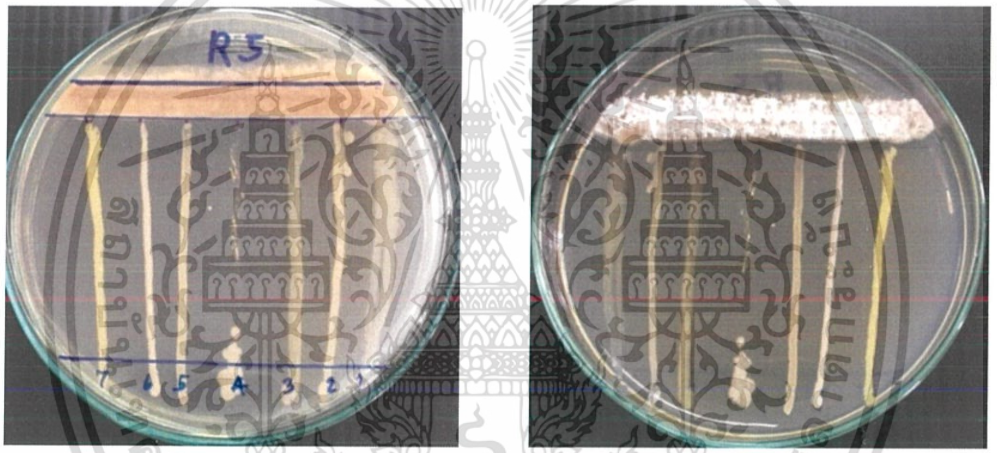
4.2.11) กลุ่มที่ 3 ประกอบด้วย 1 ไอโซเลท คือ R5 ซึ่งให้ผลการยับยั้งเชื้อทดสอบทั้งหมด 1 ชนิด คือ *Bacillus subtilis* ATCC6633 โดยมีบริเวณการยับยั้ง 43 มิลลิเมตร แสดงผลได้ดังนี้

ตารางที่ 4.13 แสดงผลการทดสอบเชื้อเอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีทเบื้องต้นของกระเทียมกลุ่มที่ 3

รหัสเชื้อ	บริเวณการยับยั้งการเจริญของเชื้อทดสอบ (มม.)						
	E. coli	*S. aureus*	*P. aeruginosa*	*B. subtilis*	MRSA	*C.albicans*	*M.luteus*
R5	-	-	-	43 STA	-	-	-

หมายเหตุ 1. เครื่องหมาย – หมายถึง ไม่มีฤทธิ์การยับยั้ง

2. เครื่องหมาย STA หมายถึง มีฤทธิ์การยับยั้งเชื้อได้แต่ไม่สามารถฆ่าเชื้อได้



รูปที่ 4.11 แสดงการเกิดบริเวณการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบของไอโซเลท R5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

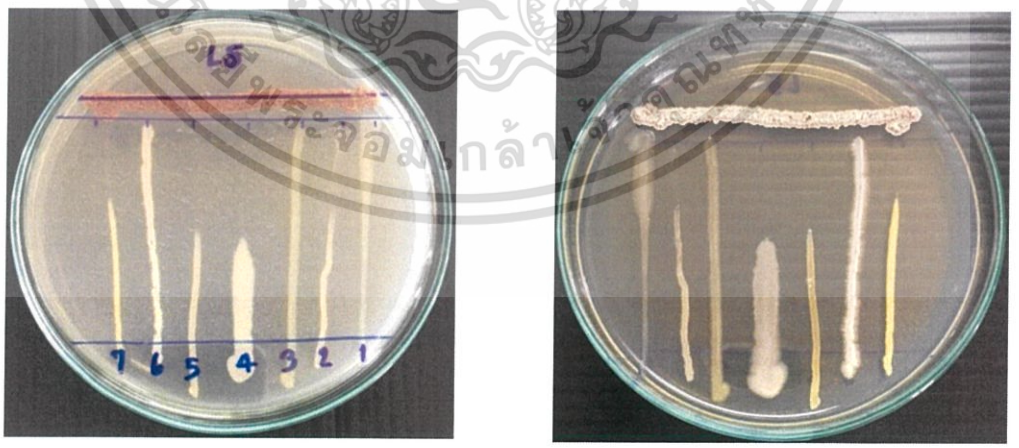
4.2.12) กลุ่มที่ 4 ประกอบด้วย 6 ไอโซเลท คือ L5, L6, L8,L9,L10 และ L11 ซึ่งให้ผลการยับยั้งเชื้อทดสอบทั้งหมด 4 ชนิด ได้แก่ *Staphylococcus aureus* ATCC25923 , *Bacillus subtilis* ATCC6633, Methicillin resistance *Staphylococcus aureus* และ *Micrococcus luteus* ATCC25923 โดยไอโซเลท L5 มีบริเวณการยับยั้งได้ดีที่สุด คือ ยับยั้งเชื้อ *S.aureus* 20 มิลลิเมตร, *B.subtilis* 25 มิลลิเมตร, MRSA 24 มิลลิเมตร และ *M.luteus* 17 มิลลิเมตร แสดงผลได้ดังนี้

ตารางที่ 4.14 แสดงผลการทดสอบเชื้อเอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีทเบื้องต้นของกระเทียมกลุ่มที่ 4

รหัสเชื้อ	บริเวณการยับยั้งการเจริญของเชื้อทดสอบ (มม.)						
	E. coli	*S. aureus*	*P. aeruginosa*	*B. subtilis*	MRSA	*C.albicans*	*M.luteus*
L5	-	20	-	25	24	-	17
L6	-	26 STA	-	28 STA	25	-	13
L8	-	10	-	14	13	-	12
L9	-	28	-	25 STA	27	-	24
L10	-	21	-	24	23	-	16
L11	-	18	-	18	19	-	12

หมายเหตุ 1. เครื่องหมาย – หมายถึง ไม่มีฤทธิ์การยับยั้ง

2. เครื่องหมาย STA หมายถึง มีฤทธิ์การยับยั้งเชื้อได้แต่ไม่สามารถฆ่าเชื้อได้



รูปที่ 4.12 แสดงการเกิดบริเวณการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบของไอโซเลท L5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.13) กลุ่มที่ 5 ประกอบด้วย 1 ไอโซเลท คือ R50 ซึ่งให้ผลการยับยั้งเชื้อทดสอบทั้งหมด 3 ชนิด ได้แก่ *Staphylococcus aureus* ATCC25923, Methicillin resistance *Staphylococcus aureus* และ *Micrococcus luteus* ATCC25923 โดยมีบริเวณการยับยั้งเชื้อ *S.aureus* 6 มิลลิเมตร MRSA 17 มิลลิเมตร และ *M.luteus* 5 STA มิลลิเมตร แสดงผลได้ดังนี้

ตารางที่ 4.15 แสดงผลการทดสอบเชื้อเอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีทเบื้องต้นของกระเทียมกลุ่มที่ 5

รหัสเชื้อ	บริเวณการยับยั้งการเจริญของเชื้อทดสอบ(มม.)						
	E. coli	*S. aureus*	*P. aeruginosa*	*B. subtilis*	MRSA	*C.albicans*	*M.luteus*
R50	-	6	-	-	17	-	5 STA

หมายเหตุ 1. เครื่องหมาย – หมายถึง ไม่มีฤทธิ์การยับยั้ง

2. เครื่องหมาย STA หมายถึง มีฤทธิ์การยับยั้งเชื้อได้แต่ไม่สามารถฆ่าเชื้อได้

รูปที่ 4.13 แสดงการเกิดบริเวณการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบของไอโซเลท R50

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการทดสอบความสามารถเบื้องต้นในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ พบว่าเชื้อทดสอบทั้งหมด 7 ชนิด มีผลต่อการยับยั้ง ดังนี้ กลุ่มที่ 2 มีความสามารถในการยับยั้ง *E.coli* กลุ่มที่ 1,4 และ 6 มีความสามารถในการยับยั้ง *S.aureus* กลุ่มที่ 1 และ 2 มีความสามารถในการยับยั้ง *P.aeruginosa* กลุ่มที่ 1,2,3,4,5 และ 6 มีความสามารถในการยับยั้ง *B.subtilis* กลุ่มที่ 1 และ 4 มีความสามารถในการยับยั้ง MRSA กลุ่มที่ 1 และ 6 มีความสามารถในการยับยั้ง *C.albicans* และกลุ่มที่ 1,4 และ 6 มีความสามารถในการยับยั้ง *M.luteus* ดังแสดงในตารางที่ 4.16

ตารางที่ 4.16 แสดงความสามารถเบื้องต้นของเอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีทจากกระเทียมต่อการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ

กลุ่ม	รหัสเชื้อ	*E. coli*	*S. aureus*	*P. aeruginosa*	*B. subtilis*	MRSA	*C. albicans*	*M .luteus*
1	R24,R26 R27,R28 R30,R31 R32,R34, R35,R36 R37,R52 R53,R54, R55,R57 R58,R59, R63,R65 R66,R68 R71,R72 R75,L13	-	-	-	+	-	+	+
2	R39	+	-	+	+	-	-	-
3	R5	-	-	-	+	-	-	-
4	L5,L6 L8,L9 L10,L11	-	+	-	+	+	-	+
5	R50	-	+	-	+	+	-	+

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หมายเหตุ 1. เครื่องหมาย – หมายถึง ไม่มีฤทธิ์การยับยั้ง

2. เครื่องหมาย + หมายถึง มีฤทธิ์การยับยั้งเชื้อ

4.3 ผลการศึกษาลักษณะทางฟีโนไทป์ (Phenotype) ของเอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีท

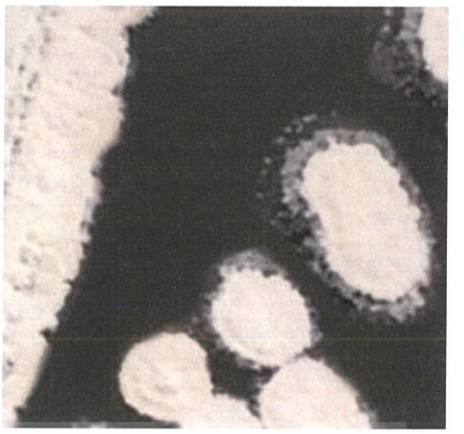
การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและลักษณะการเจริญของเชื้อเอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีท โดยทำการคัดเลือกไอโซเลทที่มีผลต่อการยับยั้งเชื้อทดสอบของแต่ละกลุ่ม นำมาขีดลงอาหารแข็ง ISP2 ด้วยวิธีการ steak plate แล้วสังเกตุการเจริญของโคโลนี เส้นใย สีของเส้นใยและสีของรงควัตถุเทียบกับกระดาษสีมาตรฐาน (the NBS-ISCC color system) และนำไปศึกษาลักษณะของสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงที่กำลังขยาย 40X แสดงผลทั้งหมด 6 กลุ่ม ดังนี้

ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อเอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีทที่แยกได้จากยี่หราและฟ้าทะลายโจร

4.3.1) กลุ่ม 1 : ไอโซเลท APR2.1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและลักษณะการเจริญของเชื้อเจริญได้ดีในอาหาร ISP2 โคโลนีมีลักษณะกลม เส้นใยอาหารสี Brilliant yellow เส้นใยอากาศสี Pale yellow เส้นใยมีลักษณะเป็นเส้นสายตรงและมีการแตกแขนง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(ก.)



(ข.)

(ค.)

รูปที่ 4.14 แสดงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของไอโซเลท APR2.1
(ก. แสดงสีของโคโลนี ข. ลักษณะโคโลนี ค. สปอร์ที่กำลังขยายภาพ 40 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.2) กลุ่ม 2 : ไอโซเลท APR2.15 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและลักษณะการเจริญของเชื้อเจริญได้ดีในอาหาร ISP2 โคโลนีมีลักษณะกลม เส้นใยอาหารสี Moderate yellow เส้นใยอากาศสี White เส้นใยมีลักษณะเป็นเส้นตรงยาวและมีการแตกแขนง

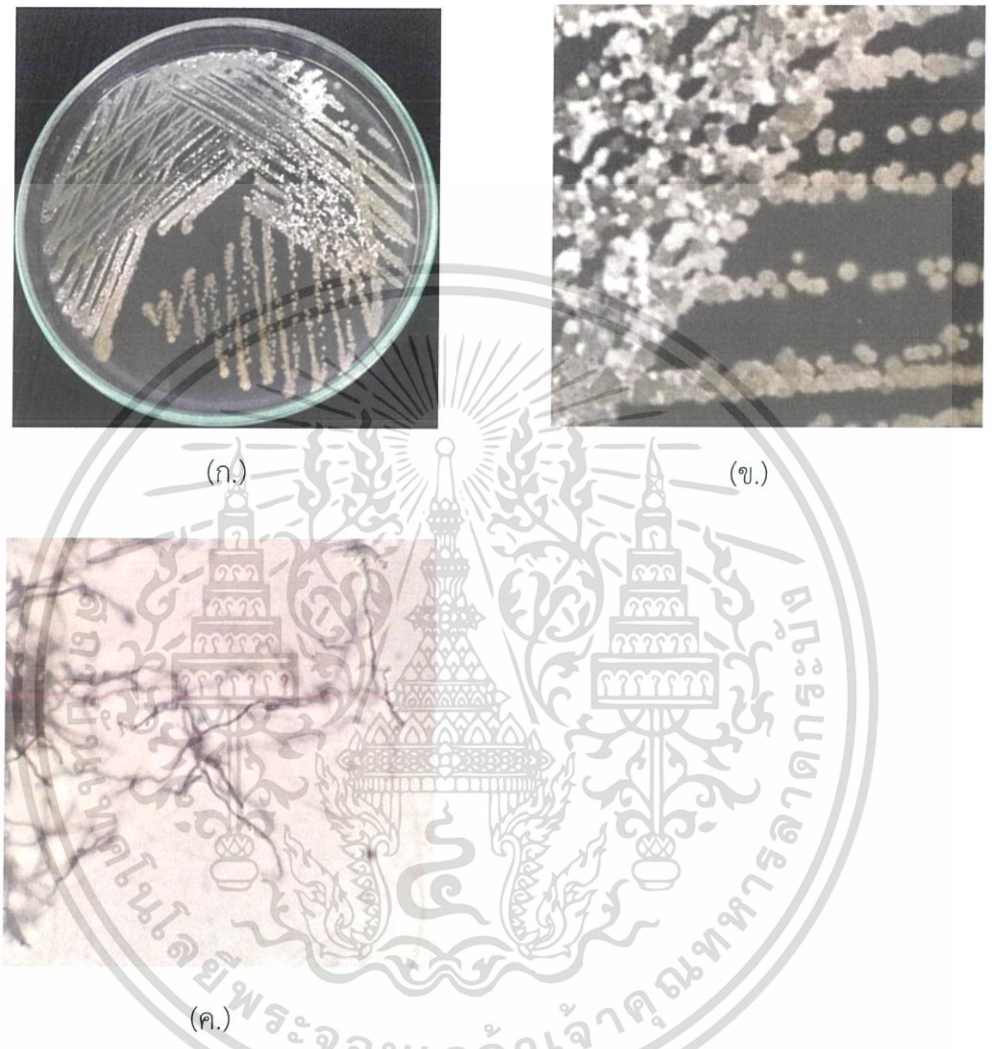
(ก.) (ข.)

(ค.)

รูปที่ 4.15 แสดงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของไอโซเลท APR2.15
(ก. แสดงสีของโคโลนี ข. ลักษณะโคโลนี ค. สปอร์ที่กำลังขยายภาพ 40 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

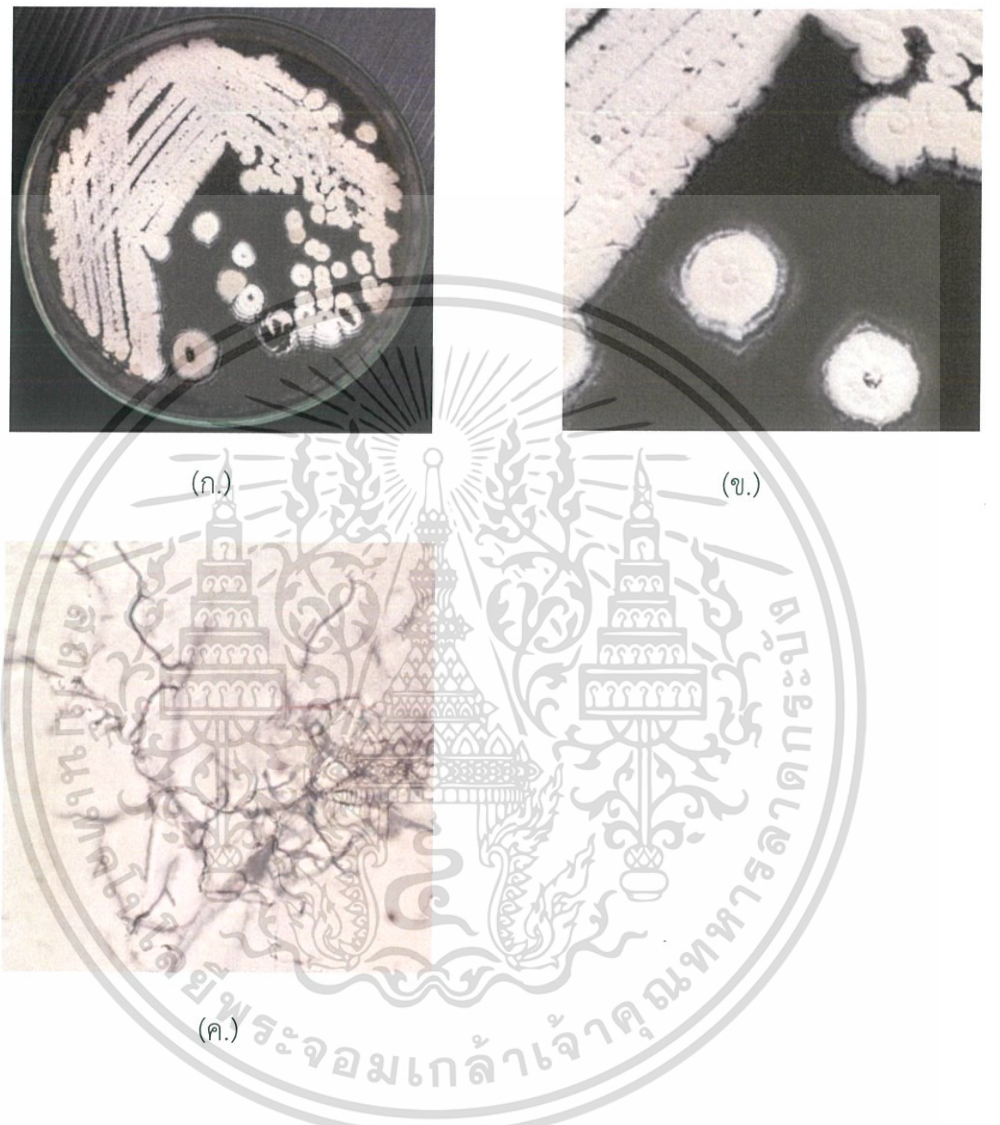
4.3.3) กลุ่ม 3 : ไอโซเลท APR2.12 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและลักษณะการเจริญของเชื้อเจริญได้ดีในอาหาร ISP2 โคโลนีมีลักษณะกลม เส้นใยอาหารสี Grayish brown เส้นใยอากาศสี White เส้นใยมีลักษณะเป็นเส้นตรงและมีการแตกแขนง



รูปที่ 4.16 แสดงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของไอโซเลท APR2.12
(ก. แสดงสีของโคโลนี ข. ลักษณะโคโลนี ค. สปอร์ที่กำลังขยายภาพ 40 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.4) กลุ่ม 4 : ไอโซเลท APR2.16 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและลักษณะการเจริญของเชื้อเจริญได้ดีในอาหาร ISP2 โคโลนีมีลักษณะกลม เส้นใยอาหารสี Pale greenish yellow เส้นใยอากาศสี White เส้นใยมีลักษณะเป็นเส้นตรงและมีการแตกแขนง



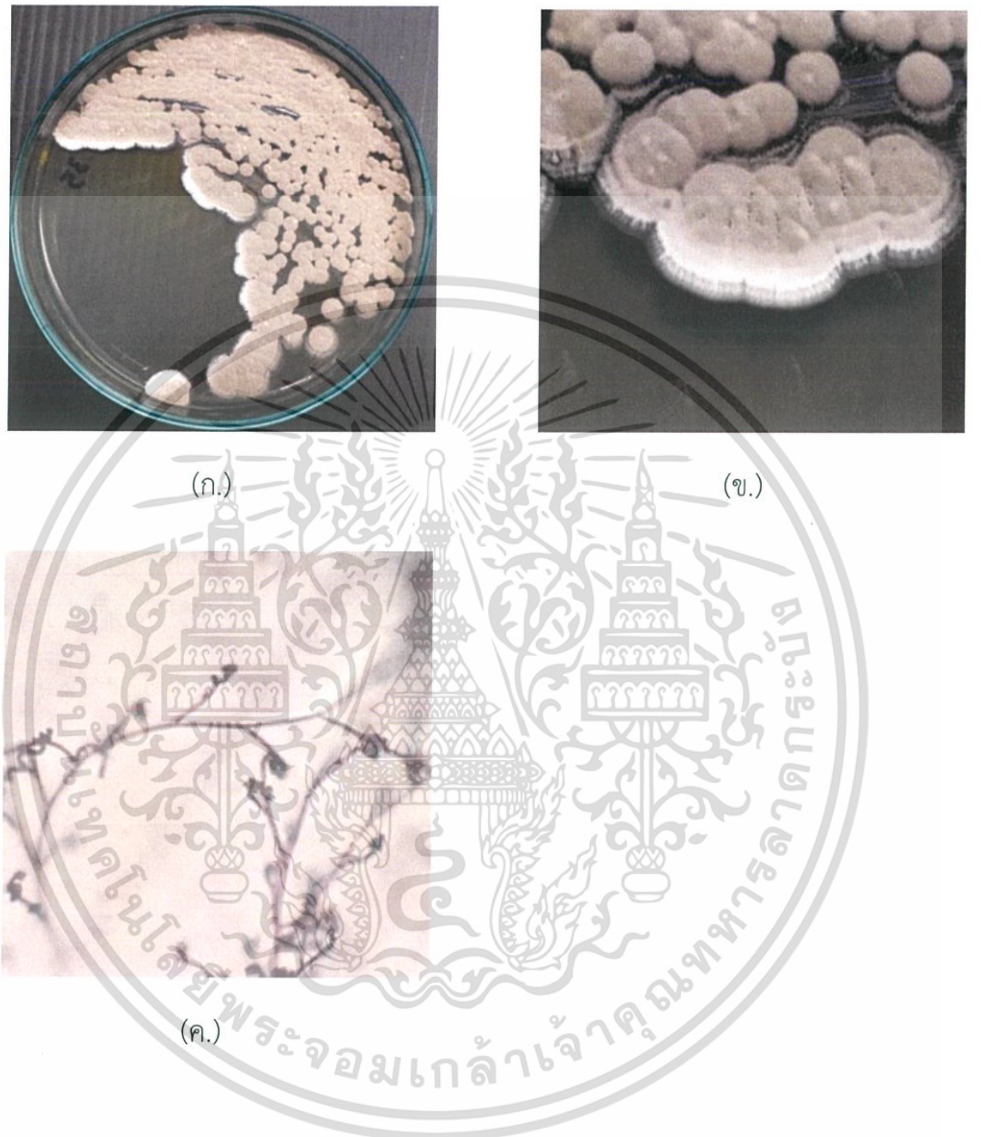
(ก.) (ข.)

(ค.)

รูปที่ 4.17 แสดงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของไอโซเลท APR2.16
(ก. แสดงสีของโคโลนี ข. ลักษณะโคโลนี ค. สปอร์ที่กำลังขยายภาพ 40 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

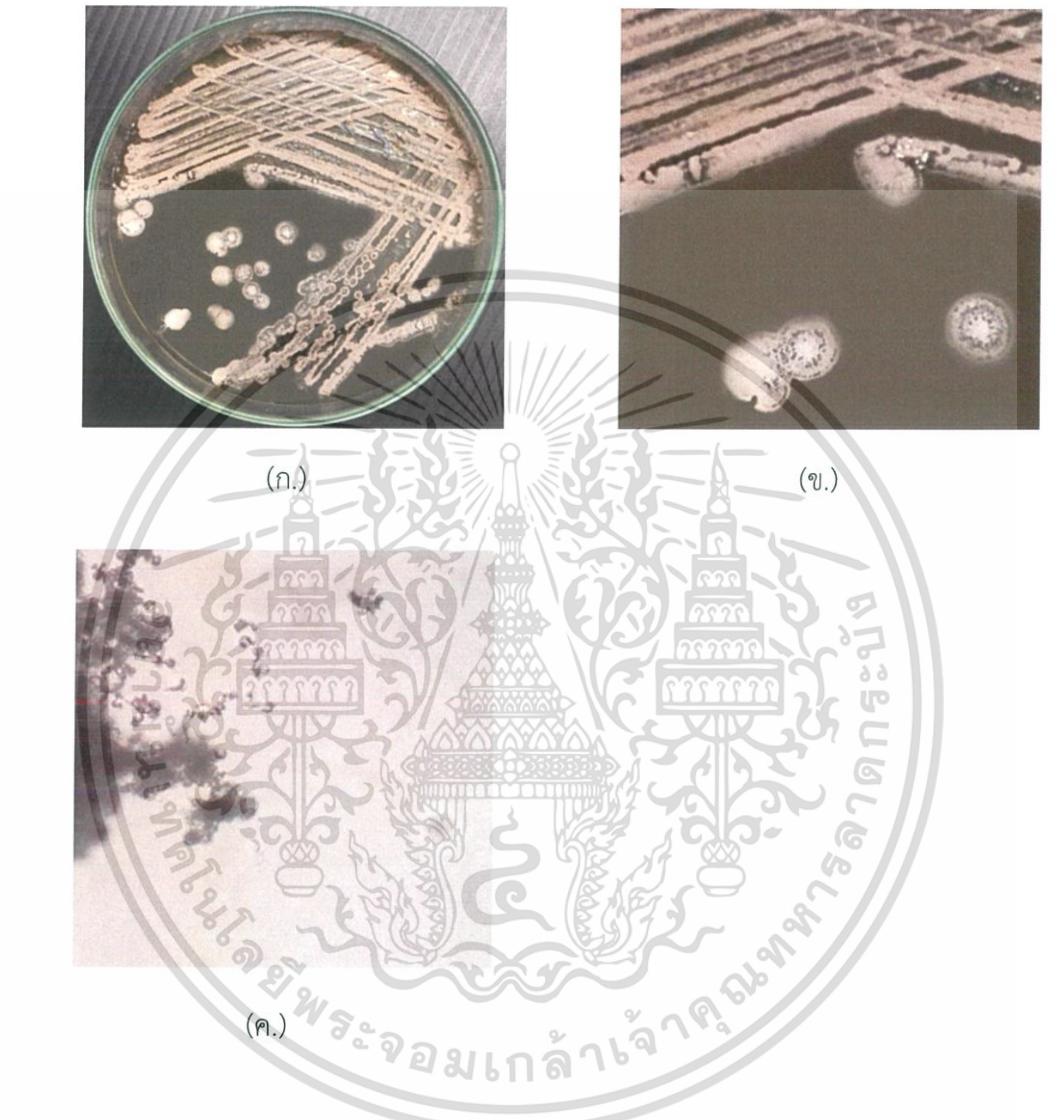
4.3.5) กลุ่ม 5 : ไอโซเลท CMR1.35 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและลักษณะการเจริญของเชื้อ เจริญได้ดีในอาหาร ISP2 โคโลนีมีลักษณะกลม เส้นใยอาหารสี Dark grayish yellow เส้นใยอากาศสี White เส้นใยมีลักษณะปลายบิดเกลียวและมีการแตกแขนง



รูปที่ 4.18 แสดงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของไอโซเลท CMR1.35
(ก. แสดงสีของโคโลนี ข. ลักษณะโคโลนี ค. สปอร์ที่กำลังขยายภาพ 40 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.6) กลุ่ม 6 : ไอโซเลท CMR1.58 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและลักษณะการเจริญของเชื้อ เจริญได้ดีในอาหาร ISP2 โคโลนีมีลักษณะกลม เส้นใยอาหารสี Brownish pink เส้นใยอากาศสี Light yellow brown เส้นใยมีลักษณะเป็นเส้นสั้นและมีการโค้งงอ



รูปที่ 4.19 แสดงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของไอโซเลท CMR1.58
(ก. แสดงสีของโคโลนี ข. ลักษณะโคโลนี ค. สปอร์ที่กำลังขยายภาพ 40 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.7) กลุ่ม 7 : ไอโซเลท CMR1.38 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและลักษณะการเจริญของเชื้อ เจริญได้ดีในอาหาร ISP2 โคโลนีมีลักษณะกลม เส้นใยอาหารสี Moderate brown เส้นใยอากาศสี Moderate yellow เส้นใยมีลักษณะเป็นเส้นตรงยาวและมีการแตกแขนง

(ก.) (ข.)

(ค.)

รูปที่ 4.20 แสดงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของไอโซเลท CMR1.38
(ก. แสดงสีของโคโลนี ข. ลักษณะโคโลนี ค. สปอร์ที่กำลังขยายภาพ 40 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.8) กลุ่ม 8 : ไอโซเลท CMR1.42 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและลักษณะการเจริญของเชื้อ เจริญได้ดีในอาหาร ISP2 โคโลนีมีลักษณะกลม เส้นใยอาหารสี Grayish yellow เส้นใยอากาศสี Brownish pink เส้นใยมีลักษณะบิดเกลียวและมีการแตกแขนง

(ก.) (ข.)

(ค.)

รูปที่ 4.21 แสดงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของไอโซเลท CMR1.42
(ก. แสดงสีของโคโลนี ข.ลักษณะโคโลนี ค. สปอร์ที่กำลังขยายภาพ 40 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

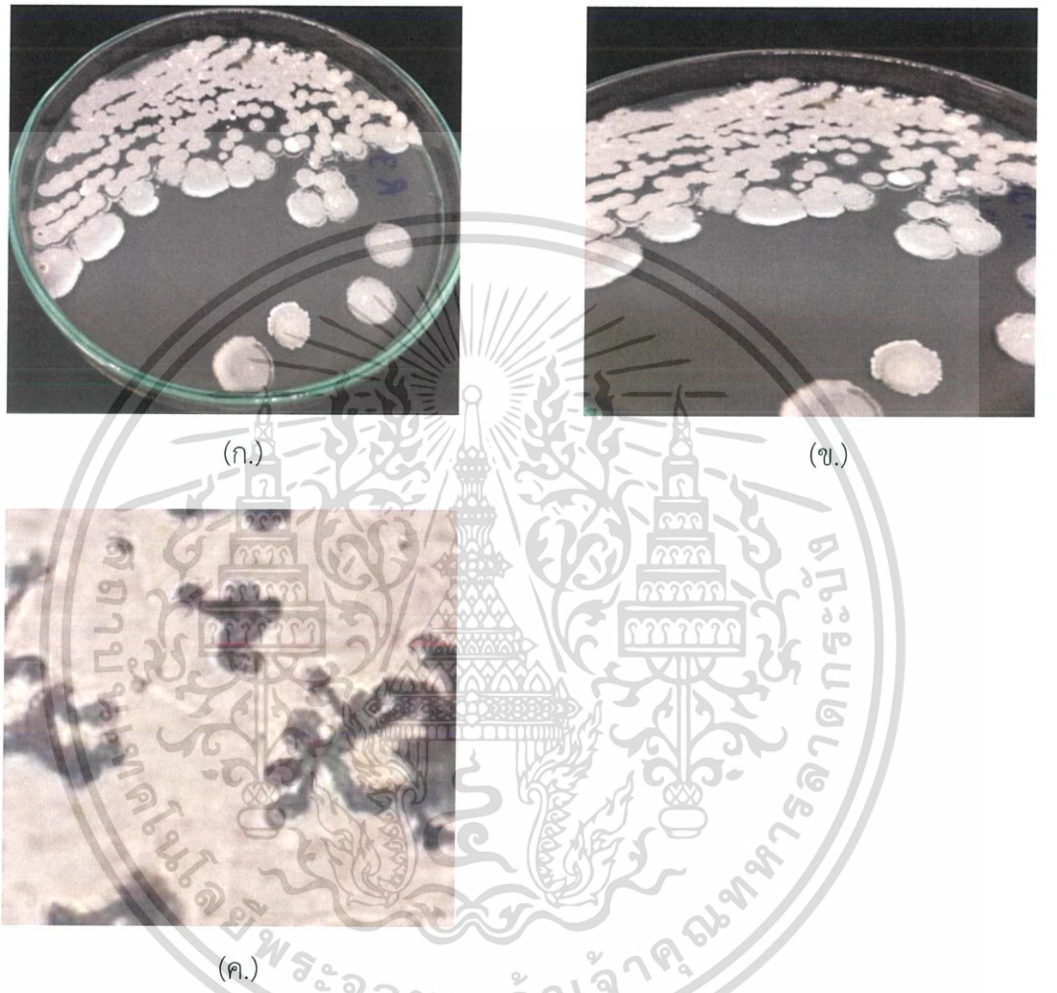
ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อเอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีทที่แยกได้จากกระเทียม

4.3.9) กลุ่ม 1 : ไอโซเลท R63 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและลักษณะการเจริญของเชื้อเจริญได้ดีในอาหาร ISP2 โคโลนีมีลักษณะกลม เส้นใยอาหารสี Vivid yellow เส้นใยอากาศสี Pale greenish yellow เส้นใยมีลักษณะเป็นเส้นสายของสปอร์ที่ตรงและมีการโค้งงอเล็กน้อย

รูปที่ 4.22 แสดงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของไอโซเลท R63
(ก. แสดงสีของโคโลนี ข.ลักษณะโคโลนี ค. สปอร์ที่กำลังขยายภาพ 40 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.10) กลุ่ม 2 : R39 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและลักษณะการเจริญของเชื้อ เจริญได้ดีใน อาหาร ISP2 โคโลนีมีลักษณะกลม เส้นใยอาหารสี Light greenish yellow เส้นใยอากาศสี Light grayish olive เส้นใยมีลักษณะเป็นเส้นสาย สปอร์มีการบิดเป็นเกลียว



(ก.) (ข.)

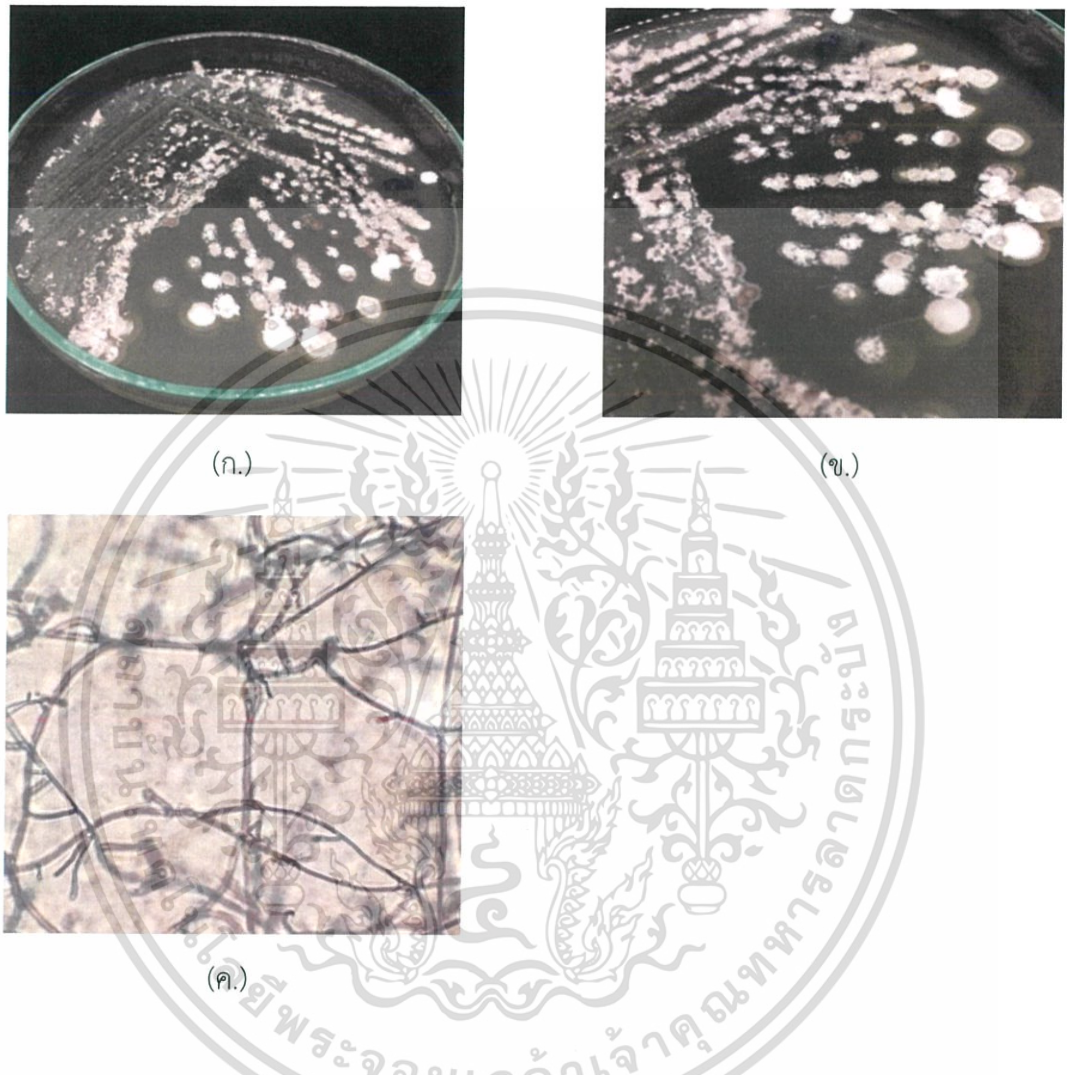
(ค.)

รูปที่ 4.23 แสดงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของไอโซเลท R39

(ก. แสดงสีของโคโลนี ข. ลักษณะโคโลนี ค. สปอร์ที่กำลังขยายภาพ 40 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.11) กลุ่ม 3 : R5 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและลักษณะการเจริญของเชื้อ เจริญได้ดีใน อาหาร ISP2 โคโลนีมีลักษณะกลม เส้นใยอาหารสี Light greenish yellow เส้นใยอากาศสี Grayish pink เส้นใยมีลักษณะเป็นเส้นสายของสปอร์ที่ตรงและมีการแตกแขนง



(ก.) (ข.)

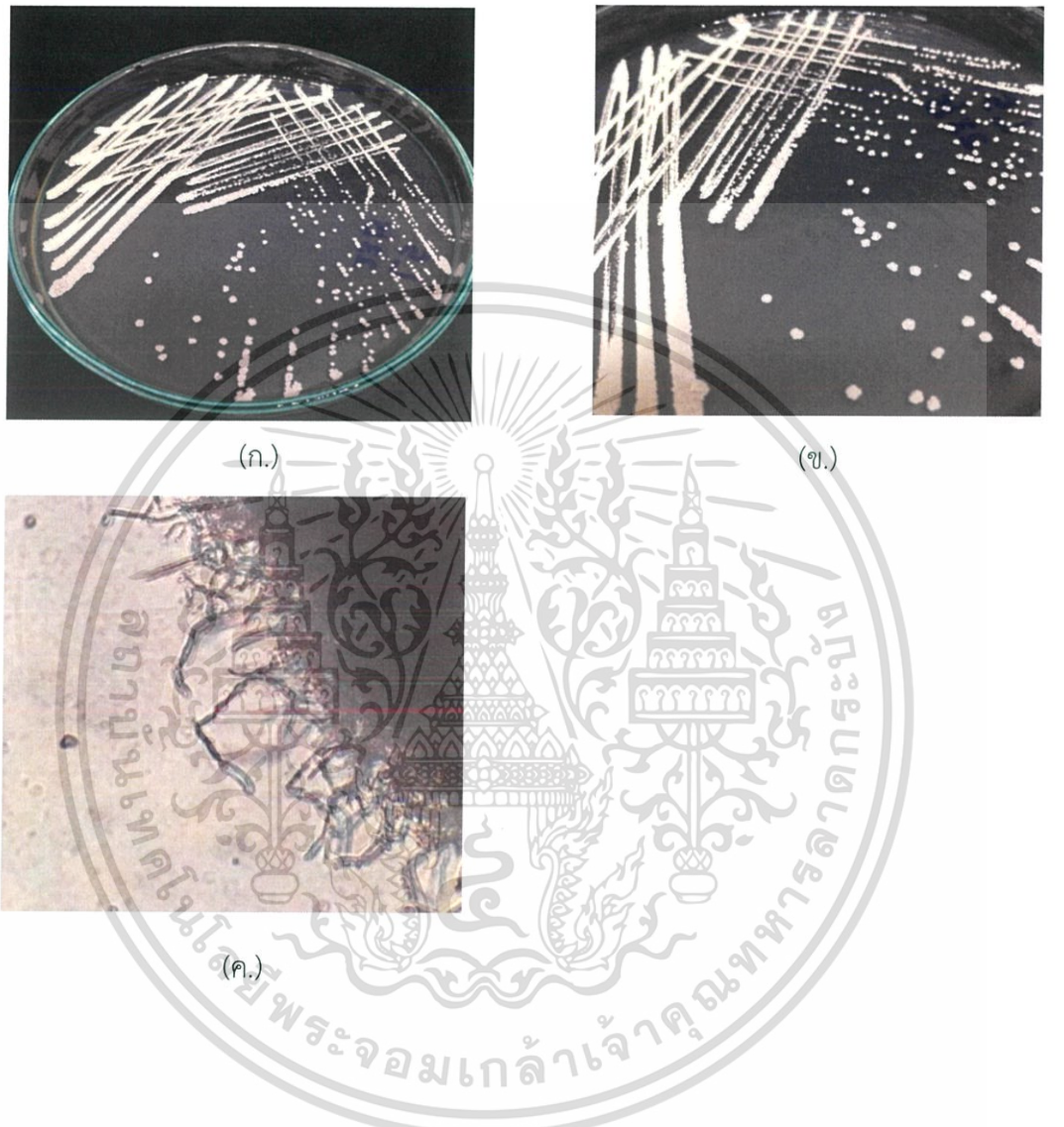
(ค.)

รูปที่ 4.24 แสดงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของไอโซเลท R5

(ก. แสดงสีของโคโลนี ข. ลักษณะโคโลนี ค. สปอร์ที่กำลังขยายภาพ 40 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.12) กลุ่ม 4 : L5 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและลักษณะการเจริญของเชื้อ เจริญได้ดีใน อาหาร ISP2 โคโลนีมีลักษณะกลม เส้นใยอาหารสี Deep orange เส้นใยอากาศสี Yello1wish white เส้นใยมีลักษณะเป็นเส้นสาย สปอร์ตรงและมีการโค้งงอเล็กน้อย



(ก.) (ข.)

(ค.)

รูปที่ 4.25 แสดงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของไอโซเลท L5

(ก. แสดงสีของโคโลนี ข. ลักษณะโคโลนี ค. สปอร์ที่กำลังขยายภาพ 40 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.13) กลุ่ม 5 : R50 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและลักษณะการเจริญของเชื้อ เจริญได้ดีใน อาหาร ISP2 โคโลนีมีลักษณะกลม เส้นใยอาหารสี Grayish reddish orange เส้นใยอากาศสี Grayish yellow ลักษณะของสปอร์เป็นแบบเส้นสายตรงสั้น กระจัดกระจาย

รูปที่ 4.26 แสดงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของไอโซเลท R50
(ก. แสดงสีของโคโลนี ข. ลักษณะโคโลนี ค. สปอร์ที่กำลังขยายภาพ 40 เท่า)

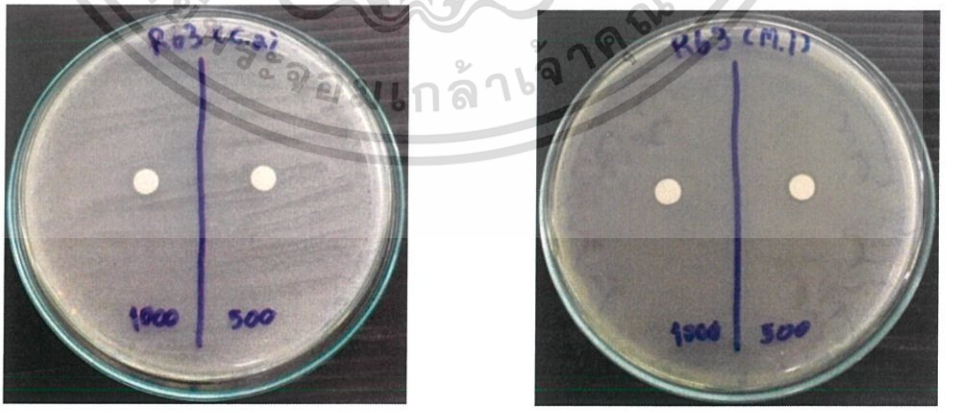
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4 ความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ที่นำมาใช้ทดสอบ โดยวิธี Agar disc diffusion

การทดสอบความสามารถการในยับยั้งเชื้อทดสอบโดยวิธี Agar disc diffusion ทำได้โดยการเตรียมสารละลายของเชื้อทดสอบทั้งหมด 7 ชนิด ได้แก่ *Escherichia coli* ATCC25922, *Staphylococcus aureus* ATCC25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC28753, *Bacillus subtilis* ATCC6633, Methicillin resistance *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* ATCC10231 และ *Micrococcus luteus* ATCC25923 พบว่า ไอโซเลท R66 แสดงบริเวณในการยับยั้งเชื้อ *B.subtilis* และ *C.albicans* ไอโซเลท L5 แสดงบริเวณในการยับยั้งเชื้อ *E.coli* และ MRSA ไอโซเลท R50 แสดงบริเวณในการยับยั้งเชื้อ *S.aureus*, MRSA และ *M.luteus* ไอโซเลท R63 แสดงบริเวณในการยับยั้งเชื้อ *C.albicans* และ *M.luteus* แสดงผลได้ดังตาราง

ตารางที่ 4.17 แสดงบริเวณการยับยั้งเชื้อทดสอบของสารสกัดหยาบไอโซเลท R63

ความเข้มข้นของสารสกัด µg/ml	บริเวณการยับยั้งการเจริญของเชื้อทดสอบ (มม.)						
	E. coli	*S. aureus*	*P. aeruginosa*	*B. subtilis*	MRSA	*C. albicans*	*M. luteus*
1000	-	-	-	-	-	8	7.5
500	-	-	-	-	-	8	7.5



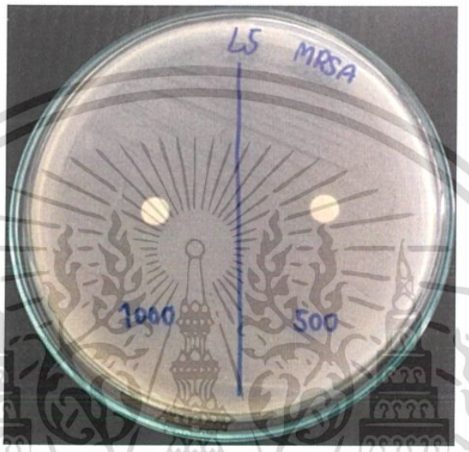
(ก.) (ข.)

รูปที่ 4.27 แสดงบริเวณการยับยั้งเชื้อทดสอบของสารสกัดหยาบไอโซเลท R63
ก.แสดงบริเวณในการยับยั้ง *C.albicans* 8 มิลลิเมตร ที่ความเข้มข้น 1000 และ 500 µg/ml
ข. แสดงบริเวณในการยับยั้ง *M.luteus* 7.5 มิลลิเมตร ที่ความเข้มข้น 1000 และ 500 µg/ml

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.18 แสดงบริเวณการยับยั้งเชื้อทดสอบของสารสกัดหยาบไอโซเลท L5

ความเข้มข้นของสารสกัด µg/ml	บริเวณการยับยั้งการเจริญของเชื้อทดสอบ (มม.)						
	E. coli	*S. aureus*	*P. aeruginosa*	*B. subtilis*	MRSA	*C. albicans*	*M. luteus*
1000	-	-	-	-	8	-	-
500	-	-	-	-	-	-	-

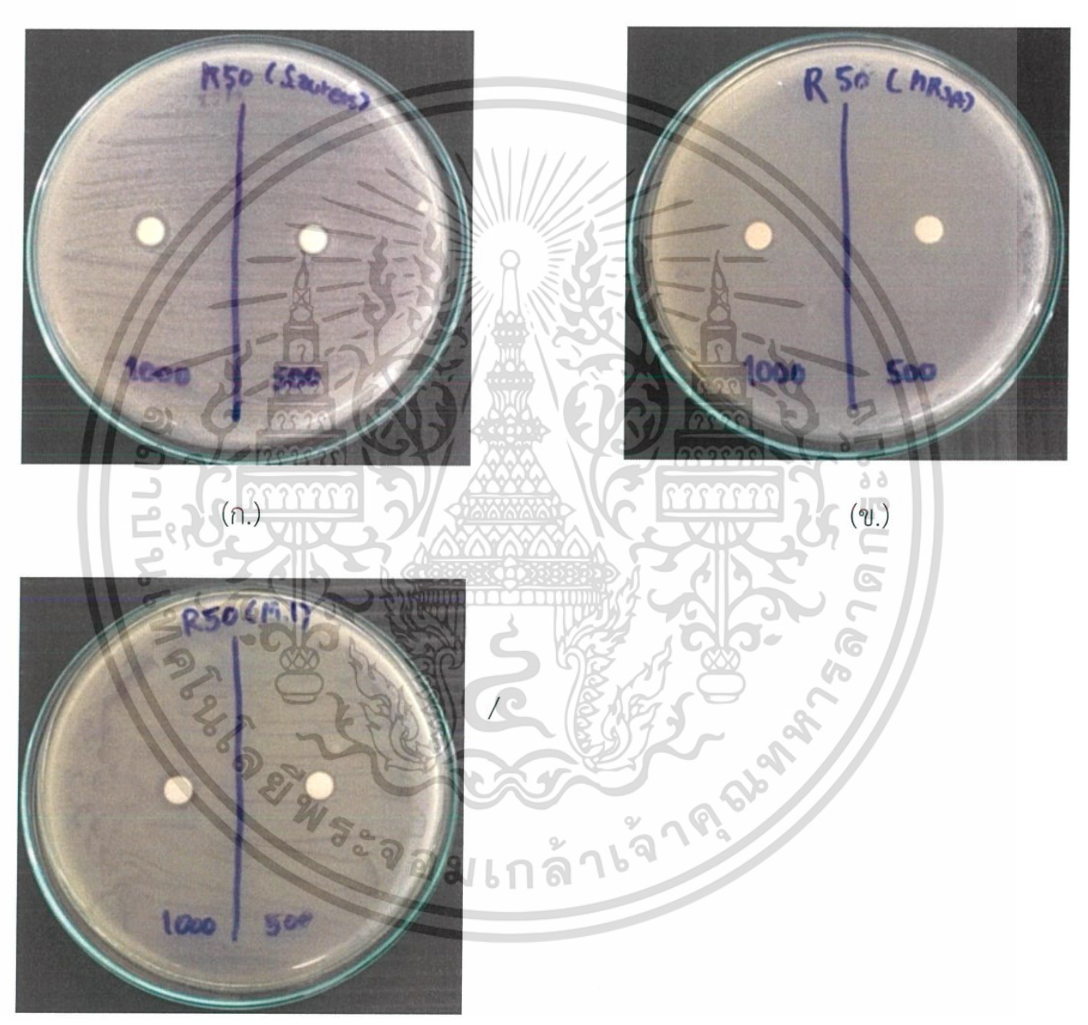


รูปที่ 4.28 แสดงบริเวณการยับยั้งเชื้อทดสอบของสารสกัดหยาบไอโซเลท L5 แสดงบริเวณในการยับยั้ง MRSA 8 มิลลิเมตร ที่ความเข้มข้น 1000 µg/ml

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.19 แสดงบริเวณการยับยั้งเชื้อทดสอบของสารสกัดหยาบไอโซเลท R50

ความเข้มข้นของสารสกัด µg/ml	บริเวณการยับยั้งการเจริญของเชื้อทดสอบ (มม.)						
	E. coli	*S. aureus*	*P. aeruginosa*	*B. subtilis*	MRSA	*C. albicans*	*M. luteus*
1000	-	8	-	-	8	-	9
500	-	7	-	-	-	-	7



(ก.) (ข.)

(ค.)

รูปที่ 4.29 แสดงบริเวณการยับยั้งเชื้อทดสอบของสารสกัดหยาบไอโซเลท R50 ก. แสดงบริเวณการยับยั้ง *S.aureus* 8 มิลลิเมตร ที่ความเข้มข้น 1000 µg/ml 7 มิลลิเมตร ที่ความเข้มข้น 500 µg/ml ข. แสดงบริเวณในการยับยั้ง MRSA 8 มิลลิเมตร ที่ความเข้มข้น 1000 µg/ml และ ค. แสดงบริเวณในการยับยั้ง *M.luteus* 9 มิลลิเมตร ที่ความเข้มข้น 1000 µg/ml 7 มิลลิเมตร ที่ความเข้มข้น 500 µg/ml

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากผลการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพด้วยวิธี Agar disc diffusion ของเชื้อเอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีทต่อการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบทั้ง 7 ชนิด ได้แก่ *Escherichia coli* ATCC25922, *Staphylococcus aureus* ATCC25923 , *Pseudomonas aeruginosa* ATCC28753, *Bacillus subtilis* ATCC6633, Methicillin resistance *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* ATCC10231 และ *Micrococcus luteus* ATCC25923 สรุปได้ว่ามีเพียง 3 ไอโซเลท ที่มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อทดสอบได้ คือ ไอโซเลทที่ R66 (กลุ่มที่ 1), ไอโซเลทที่ L5 (กลุ่มที่ 4) และไอโซเลทที่ R50 (กลุ่มที่ 5) ดังแสดงในตาราง

ตารางที่ 4.20 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของเชื้อเอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีทต่อการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบทั้ง 7 ชนิด ด้วยวิธี Agar disc diffusion

กลุ่ม	รหัส	*E. coli*	*S. aureus*	*P. aeruginosa*	*B. subtilis*	MRSA	*C.albicans*	*M.luteus*
1	R63	-	-	-	-	-	+	+
2	R39	-	-	-	-	-	-	-
3	R5	-	-	-	-	-	-	-
4	L5	-	-	-	-	+	-	-
5	R50	-	+	-	-	+	-	+

จากผลการทดลองข้างต้น ในขั้นตอนการทดสอบความสามารถเบื้องต้นในการยับยั้งการเจริญของเชื้อทดสอบ พบว่า เชื้อเอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีทมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อทดสอบได้หลายชนิด ได้แก่ *E.coli*, *S.aureus*, *P.aeruginosa*, *B.subtilis*, MRSA, *C.albicans* และ *M.luteus* ซึ่งความสามารถในการยับยั้งก็จะแตกต่างกันไปในแต่ละกลุ่ม แต่จะสังเกตุได้ว่าเชื้อเอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีทสามารถยับยั้งเชื้อ *S.aureus* , *B.subtilis* , MRSA *C.albicans* และ *M.luteus* ซึ่งเป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกได้มากกว่า *E.coli* และ *P.aeruginosa* ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมลบ ทั้งนี้เนื่องมาจากความแตกต่างกันของโครงสร้างผนังเซลล์ระหว่างแบคทีเรียแกรมบวกและแบคทีเรียแกรมลบ ผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมลบจะมี polysaccharide และชั้นนอกเป็นชั้นของ lipopolysaccharide ห่อหุ้มอยู่จึงทำให้สารผ่านเข้าผนังเซลล์ได้ยากกว่าแกรมบวก (Pandey *et al.*, 2011) ส่วนเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกจะมีโครงสร้างที่มีผลต่อกลไกการออกฤทธิ์ของสารสกัดหยาบจาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีทมากกว่าเนื่องจากมีเฉพาะชั้นที่เปบทิโดไกลแคนและไม่มีเยื่อหุ้มชั้นนอก จึงทำให้สารซึมผ่านเข้าเซลล์ได้ดีกว่า (Davies and Davies, 2010)

ในการทดสอบความสามารถในการยับยั้งจุลินทรีย์ทดสอบทั้งในขั้นตอนการทดสอบความสามารถเบื้องต้นและการทดสอบโดยวิธี Agar disc diffusion พบว่าให้ผลการยับยั้งจุลินทรีย์ทดสอบที่แตกต่างกัน เนื่องมาจากความแตกต่างทางสัณฐานวิทยาของแอคติโนมัยสีทที่เลี้ยงในอาหารแข็งและอาหารเหลวมีการผลิตสารปฏิชีวนะในปริมาณที่ไม่แตกต่างกัน แต่ในอาหารแข็งจะเกิดการสลายตัวของสารปฏิชีวนะได้น้อยกว่า เพราะการเลี้ยงเชื้อเอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีทในอาหารแข็งจะทำให้สารปฏิชีวนะซึมผ่านวุ้นได้โดยตรง และหลีกเลี่ยงการสัมผัสเอนไซม์ที่สามารถทำลายสารปฏิชีวนะได้ ส่วนการเลี้ยงเชื้อเอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีทในอาหารเหลวสารปฏิชีวะที่เชื้อแอคติโนมัยสีทสร้างขึ้นจะสัมผัสได้โดยตรงกับเอนไซม์ ทำให้สารปฏิชีวนะเสียสภาพได้ (Yuzuru and Satoshi, 1981)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

จากการทดลองการคัดแยกเชื้อเอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีทจากพืชสมุนไพร ทั้งหมด 3 ชนิด ได้แก่ ยี่หรา ฟ้าทะลายโจร และกระเทียม พบว่ามีเชื้อเอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีทจากยี่หรา จำนวน 45 ไอโซเลท จากฟ้าทะลายโจร 21 ไอโซเลท และคัดแยกเชื้อจากกระเทียมได้ จำนวน 65 ไอโซเลท จากนั้นนำมาทดสอบความสามารถเบื้องต้นในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบทั้งหมด 7 ชนิด ได้แก่ *Escherichia coli* ATCC25922, *Staphylococcus aureus* ATCC25923 , *Pseudomonas aeruginosa* ATCC28753, *Bacillus subtilis* ATCC6633, Methicillin resistance *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* ATCC10231 และ *Micrococcus luteus* ATCC25923 พบว่าไอโซเลทที่ได้จากยี่หราและฟ้าทะลายโจร มีจำนวน 13 ไอโซเลท ที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพเบื้องต้น เมื่อนำมาจัดกลุ่มโดยสังเกตุจากฤทธิ์ทางชีวภาพและลักษณะทางสัณฐานวิทยาเบื้องต้น สามารถแบ่งได้ 8 กลุ่ม ส่วนไอโซเลทที่คัดแยกได้จากกระเทียม พบว่ามีจำนวน 37 ไอโซเลท ที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพเบื้องต้น จึงนำมาจัดกลุ่มสามารถแบ่งได้ 5 กลุ่ม โดยมีตัวแทนกลุ่มคือ R63,R39,R5,L5 และR50

จากนั้นนำตัวแทนแต่ละกลุ่มไปสกัดเพื่อให้ได้สารสกัดหยาบ และนำไปทำการทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อทดสอบโดยวิธี Agar disc diffusion พบว่า มีเพียง 3 ไอโซเลทเท่านั้นที่มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ คือ R63, L5 และR50 โดยไอโซเลท R63 แสดงบริเวณยับยั้ง *C.albicans* 8 มิลลิเมตร ที่ความเข้มข้น 1000 µg/ml และ 7 มิลลิเมตร ที่ความเข้มข้น 500 µg/ml แสดงบริเวณยับยั้ง *M.luteus* 7 มิลลิเมตร ที่ความเข้มข้น 1000 µg/ml และ 6 มิลลิเมตร ที่ความเข้มข้น 500 µg/ml ไอโซเลท L5 แสดงบริเวณยับยั้ง MRSA 8 มิลลิเมตร ที่ความเข้มข้น 1000 µg/ml และไอโซเลท R50 แสดงบริเวณยับยั้ง *S.aureus* 8 มิลลิเมตร ที่ความเข้มข้น 1000 µg/ml และ 7 มิลลิเมตร ที่ความเข้มข้น 500 µg/ml แสดงบริเวณยับยั้ง MRSA 8 มิลลิเมตร ที่ความเข้มข้น 1000 µg/ml และแสดงบริเวณยับยั้ง *M.luteus* 9 มิลลิเมตร ที่ความเข้มข้น 1000 µg/ml และ 7 มิลลิเมตร ที่ความเข้มข้น 500 µg/ml

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.2 ข้อเสนอแนะ

จากการทดลองได้นำตัวแทนกลุ่มที่มีฤทธิ์ของเอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีทที่คัดแยกได้จากกระเทียมทั้งหมด 5 ไอโซเลท มาทำการทดสอบในขั้นตอนการทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อทดสอบโดยวิธี Agar disc diffusion พบว่ามีเชื้อเอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีทจำนวน 3 ไอโซเลท ที่มีผลยับยั้งเชื้อทดสอบ แต่ยังไม่สามารถระบุสายพันธุ์ได้ จึงควรนำไปศึกษาลักษณะทางจีโนไทป์ต่อไป นอกจากนี้ยังมีตัวแทนกลุ่มของเชื้อเอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีทที่คัดแยกได้จากยี่หร่าและฟ้าทะลายโจรที่ยังไม่ได้นำมาทดสอบด้วยวิธี Agar disc diffusion ซึ่งอาจทำให้พบเชื้อที่มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อทดสอบ และอาจพบชนิดและความหลากหลายของเอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีทมากขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

กนกกร สินมา. 2548. “การศึกษาความสัมพันธ์ทางสายวิวัฒนาการของเชื้อแอคติโนมัยซีทที่แยกได้จากลำไส้ปลวกซึ่งย่อยสลายสารประกอบลิกโนเซลลูโลสและออกซิไดซ์กรดยูริก.”: วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

จีรพรรณ์ ใจอินผล. 2550. “การแยกและคัดเลือกแอคติโนมัยซีทจากดินในถ้ำน้ำลอดที่สามารถผลิตสารปฏิชีวนะยับยั้งการเจริญของฟังไจ.” วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยาคณะวิทยาศาสตร์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ชนิกานต์ คุ้มนก. 2544. “การแยกและคัดเลือกแอคติโนมัยสีทที่สร้างสารปฏิชีวนะ.” วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. ราชภัฏพิบูลสงคราม.

นฤมล เถื่อนกูล. 2550. “การศึกษาการใช้สารสีจากแอคติโนมัยซีทเพื่อเป็นสีย้อมในห้องปฏิบัติการชีววิทยา.” วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม.

มัลลิกา หมูแก้ว. 2550. “การประเมินความสามารถของเชื้อแอคติโนมัยซีทในการควบคุมโรคเน่าคอดินของพริก.” วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

รัตนาภรณ์, ศรีวิบูลย์. 2548. แอคติโนมัยซีส. ชลบุรี:โรงพิมพ์มหาวิทยาลัยบูรพา

วราภรณ์ บัลลังก์นาค. 2551. “การคัดแยกและการคัดเลือกเชื้อแอคติโนมัยซีทที่สามารถผลิตสารปฏิชีวนะยับยั้งแบคทีเรียดื้อยา.” วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. สาขาวิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์. มหาวิทยาลัยนเรศวร.

วิศิษณ์ เกตุปัญญาพงศ์. มปป. บทความเรื่อง กระเทียม พืชสมุนไพร หลากประโยชน์. คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันราชภัฏยะลา

ศรีสกุล ชนะพันธ์. 2552. “การคัดเลือกแอคติโนมัยซีทในดินที่สามารถสร้างสารต้านการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ.” วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์. มหาวิทยาลัยศิลปากร.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ศิราภรณ์ สุขวโรทัย. 2550. "การคัดแยกแอคติโนมัยสีทที่สามารถผลิตเซลลูเลสและสารปฏิชีวนะ." วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

สุนิดา เมืองโคตร. 2557. "การยับยั้งแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคในคนจากสารสกัดกระเทียม หอมแดง และพริกแห้งคั่ว." วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร : 297-300

สายพิณ ไชนันท์. 2550. จุลินทรีย์ดิน. พิมพ์ครั้งที่ 3 . มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.

Alexander, M. 1977. Introduction to soil microbiology. John Wiley & Sons, Inc., New York

Anderson, A. S., and Elizabeth M. H. W. 2001. "The taxonomy of Streptomyces and related genera." International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 51: 797–814.

Ankri, S and D. Mirelman. 1999. Antimicrobial Properties of Allicin from Garlic.Microbes and Infection, 2: 125-129

Brunner, F., and Pertrini O. 1992. "Taxonomy of some Xylaria species and xylariaceous endophytes by isozyme electrophoresis." Mycological Research 96, 9 (September): 723-733

Cortes-Jorge Jr. H. 2000. Garlic in the marine aquarium: How it may work against Marine Ich. 6p.

Davies, J & Davies, D. (2010). Origins and Evolution of Antibiotic Resistance. Molecular and Molecular Biology Reviews 74(3):417-433.

Dhananjeyan, V., Selvan N., and Dhanapal. 2010. "Isolation, Characterization, screening and antibiotic sensitivity of Actinomycetes from Locally (Near MCAS) collected soil samples." Journal of Biological Sciences 10, 6: 514-519.

Germaine, K. J., Xuemei L., Guiomar G. C., Jill P. H., David R., and David N. D. 2006. "Bacterial endophyte-enhanced phytoremediation of the organochlorine herbicide

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2,4- dichlorophenoxyacetic acid. " Federation of European Microbiological Societies Microbiology Ecology 57, (March): 302-310.

Hallmann, J., Andrea Q. H., Walter F. M., and Joseph W. K. 1997. "Bacteriol endophytes in agricultural crops." Journal of Microbiology 43: 895-914.

Hasegawa, S., Akane M., Masafumi S., Tomio N., and Hitoshi K. 2006. "Endophytic actinomycetes and their interactions with host plants." Actinomycetologica 20, 2: 72- 81

Lee, J. Y., Jung Y. L., Ho W. J., and Byung K. H. 2005. "Streptomyces koyangensis sp. nov., a novel actinomycetes that produces 4-phenly-3-butenoic acid." International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 55: 257-262

Naikpatil, S. V., and Rathod J. L. 2011. "Selective isolation and antimicrobial activity of rare actinomycetes from mangrove sediment of Karwar." Journal of Ecobiotechnology 3, 10: 48-53.

Pandey, A., Ali, I., butola, K.S., Chatterji, T & Singh, V. 2011. Isolation and Characterization of Actinomycetes From Soil Evaluation of Antibacterial Activities of Actinomycetes Against Pathogens. International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology 2(4):384-392

Tian, X., Lixiang C., Hongming T., Weiqing H., Ming C., Yuhuan L., and Shining Z. 2004. "Study on the communities of endophytic fungi and endophytic actinomycetes from rice and their antipathogenic activities in vitro." World Journal of Microbiology and Biotechnology 20: 303-309.

Williams, S, T., Goodfellow, M. and Alderson, G. 1989. "Genus Streptomyces Waksman and Henrici 1943,339." Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, 2452-2492. Edited by Williams, Sharpe, and Holt. Baltimore.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Yoshida, S., S. Kasuga, N. Hayashi, T. Ushiriguchi, H. Matsuura and S. Nakanawa. 1987. Antifungal Activity of Ajoene Derived from Garlic. Appl.Environ. Microbial. 53:615-617

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก
อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. Starch Casein Agar

Sodium caseinate	1 กรัม
Soluble starch	10 กรัม
K_2HPO_4	0.5 กรัม
Agar	15 กรัม
Distilled Water	1000 มิลลิลิตร

ละลายส่วนผสมในน้ำกลั่นจนสารละลายเข้ากัน ปรับพีเอชให้เป็น 7.0-7.5 เทใส่ขวดปิดฝา นำไปนึ่งฆ่าเชื้อภายใต้ความดันที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ใส่ Nystatin (ละลายใน 100% DMSO ปริมาณ 0.5 มิลลิลิตร) 100.0 mg

2. Yeast extract malt extract agar (ISP2)

Yeast extract	4 กรัม
Malt extract	10 กรัม
Glucose	4 กรัม
Agar	20 กรัม

ละลายส่วนผสมในน้ำกลั่นจนสารละลายเข้ากัน ปรับพีเอชให้เป็น 7.0-7.5 เทใส่ขวดปิดฝา นำไปนึ่งฆ่าเชื้อภายใต้ความดันที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

3. Muller's hinton agar

Beef extract power	2 กรัม
Acid Digest of Casein	17.5 กรัม
Soluble starch Agar	1.5 กรัม
Distilled water	1000 มิลลิลิตร

ชั่ง MHA 38กรัม ลงในน้ำและเติมเกลือ Nacl 15 กรัม ปรับพีเอชให้เป็น 7.3+-0.1ต้มให้ละลายแล้วใส่ในขวดนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 15นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

รหัสเชื้อแอคติโนมัยสีท

ตารางภาคผนวก ข แสดงไอโซเลทเอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีทของยี่หร่า ฟ้าทะลายโจร และกระเทียม

พืชที่นำมาคัดแยก		ไอโซเลทเชื้อเอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีท
พืช	ส่วนของพืช	รหัสไอโซเลท
ยี่หร่า	ราก	CMR1.2, CMR1.4, CMR1.6, CMR1.7, CMR1.10, CMR1.12, CMR1.14, CMR1.16, CMR1.19, CMR1.20, CMR1.24, CMR1.25, CMR1.29, CMR1.30, CMR1.34, CMR1.35, CMR1.36, CMR1.37, CMR1.38, CMR1.39, CMR1.40, CMR1.42, CMR1.44, CMR1.45, CMR1.47, CMR1.48, CMR1.50, CMR1.52, CMR1.53, CMR1.54, CMR1.55, CMR1.58, CMR1.59, CMR1.64, CMR1.66, CMR1.67, CMR1.68, CMR1.71, CMR1.72, CMR1.74
	เหง้า	CMS1.1, CMS1.2
	ใบ	CML1.2, CML1.5
ฟ้าทะลายโจร	ราก	APR2.1, APR2.2, APR2.4, APR2.5, APR2.6, APR2.8, APR2.11, APR2.12, APR2.15, APR2.16, APR2.18
กระเทียม	ราก	R1, R2, R3, R4, R5, R15, R16, R17, R18, R19, R24, R25, R26, R27, R28, R29, R30, R31, R32, R34, R35, R36, R37, R38, R39, R41, R43, R44, R45, R46, R47, R49, R50, R51, R52, R53, R54, R55, R56, R57, R58, R59, R60, R61, R63, R65, R66, R68, R69, R71, R72, R73, R74, R75
	ใบ	L3, L4, L5, L6, L7, L8, L9, L10, L11, L12, L13

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค
กระดาษสีมาตรฐาน

กระดาษสีมาตรฐาน (the NBS/IBCC color System)

Centroid	Munsell	RGB	Swatch
	Red, Pink		
1 Vivid Pink	1r 8.0 13.0	#FF7E93	
2 Strong Pink	1.2r 6.9 8.2	#FD7B7C	
3 Deep Pink	2.1r 6.0 11.1	#F3545E	
4 Light Pink	2.6r 8.5 4.0	#FFBCAD	
5 Moderate Pink	2.8r 7.2 5.3	#EE9086	
6 Dark Pink	2.7r 5.9 6.1	#C76864	
7 Pale Pink	2.0r 8.7 2.1	#FFCBBB	
8 Grayish Pink	2.6r 7.2 2.3	#CF9B8F	
9 Pinkish White	5.8r 9.0 0.8	#F9DBC8	
10 Pinkish Gray	9.8r 7.4 1.0	#C8A696	
11 Vivid Red	5.0r 3.9 15.4	#C10020	
12 Strong Red	4.0r 4.4 12.1	#BF2233	
13 Deep Red	5.1r 2.8 10.1	#7B001C	
14 Very Deep Red	6.5r 1.7 8.4	#4F0014	
15 Moderate Red	3.8r 4.4 9.1	#AB343A	
16 Dark Red	4.0r 2.8 6.8	#681C23	
17 Very Dark Red	2.0r 1.2 4.8	#320A18	
18 Light Grayish Red	5.3r 5.9 3.5	#B17267	
19 Grayish Red	4.0r 4.4 4.8	#8C4743	
20 Dark Grayish Red	2.9r 2.7 2.1	#482A2A	
21 Blackish Red	3.9r 0.8 1.7	#1F0E11	
22 Reddish Gray	7.0r 5.4 1.3	#8B6C62	
23 Dark Reddish Gray	6.0r 3.4 1.0	#523C36	
24 Reddish Black	2.0r 0.9 0.9	#1E1112	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

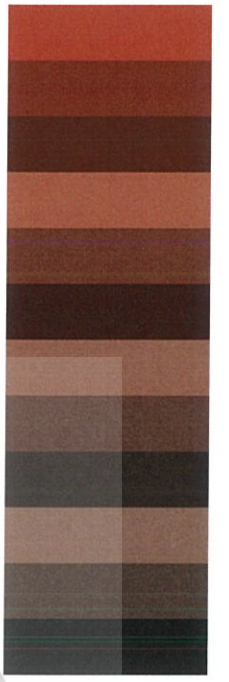
กระดาษสีมาตรฐาน (the NBS/IBCC color System) (ต่อ)

Yellowish Pink		
25 Vivid Yellowish Pink	8.0r 8.0 13.0	#FF845C
26 Strong Yellowish Pink	8.4r 7.0 9.5	#FF7A5C
27 Deep Yellowish Pink	5.5r 5.8 12.1	#F64A46
28 Light Yellowish Pink	1.9yr 8.2 4.6	#FFB28B
29 Moderate Yellowish Pink	0.7yr 7.2 4.9	#EE9374
30 Dark Yellowish Pink	7.0r 6.0 6.1	#CC6C5C
31 Pale Yellowish Pink	4.2yr 8.6 2.2	#FFC8A8
32 Grayish Yellowish Pink	1.3yr 7.2 2.4	#D39B85
Reddish Orange, Reddish Brown		
33 Brownish Pink	7.0yr 7.1 2.3	#CD9A7B
34 Vivid Reddish Orange	9.8r 5.4 14.5	#F13A13
35 Strong Reddish Orange	9.3r 5.4 12.2	#FFB961
36 Deep Reddish Orange	9.2r 3.9 12.1	#A91D11
37 Moderate Reddish Orange	9.3r 5.5 9.2	#D35339
38 Dark Reddish Orange	9.3r 4.0 9.1	#9B2F1F
39 Grayish Reddish Orange	0.4yr 5.4 6.2	#B85D43
40 Strong Reddish Brown	0.3yr 3.1 9.9	#7F180D
41 Deep Reddish Brown	1.6yr 1.5 8.3	#490005
42 Light Reddish Brown	0.5yr 5.5 4.1	#AA6651
43 Moderate Reddish Brown	9.0r 3.4 5.2	#712F26
44 Dark Reddish Brown	9.6r 1.3 3.6	#321011
45 Light Grayish Reddish Brown	2.9yr 5.4 2.3	#966A57
46 Grayish Reddish Brown	9.0r 3.4 2.4	#5E3830
47 Dark Grayish Reddish Brown	9.0r 2.0 2.0	#371F1C
Orange Brown		
48 Vivid Orange	4.1yr 6.5 15.0	#FF6800
49 Brilliant Orange	4.0yr 9.0 12.0	#FFB841
50 Strong Orange	4.3yr 6.5 12.2	#FF6F1A
51 Deep Orange	4.1yr 5.1 11.3	#C34D0A
52 Light Orange	4.8yr 7.8 7.2	#FFA161
53 Moderate Orange	4.6yr 6.5 8.2	#E8793E

เอกสารนี้สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น ทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

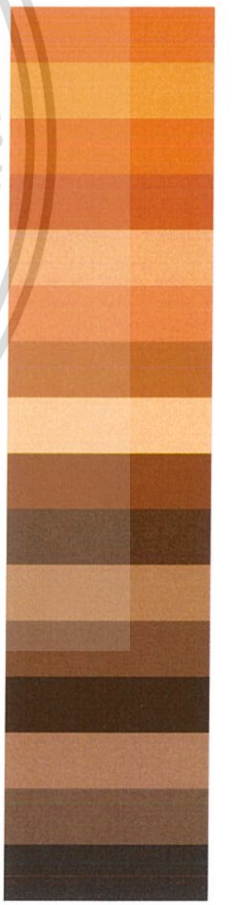
กระดาษสีมาตรฐาน (the NBS/IBCC color System) (ต่อ)

54 Brownish Orange	4.1yr 5.0 8.0	#B15124
55 Strong Brown	4.6yr 3.5 7.6	#753313
56 Deep Brown	5.6yr 2.4 5.2	#4D220E
57 Light Brown	5.4yr 5.4 4.8	#A86540
58 Moderate Brown	5.6yr 3.5 3.9	#673923
59 Dark Brown	5.3yr 1.6 3.4	#35170C
60 Light Grayish Brown	6.4yr 5.4 2.2	#946B54
61 Grayish Brown	5.5yr 3.5 1.8	#5A3D30
62 Dark Grayish Brown	5.5yr 2.0 1.5	#32221A
63 Light Brownish Gray	7.0yr 5.4 1.2	#8B6D5C
64 Brownish Gray	5.65r 3.4 0.9	#503D33
65 Brownish Black	7.8yr 0.6 0.9	#140F0B



Orange Yellow, Yellowish Brown

66 Vivid Orange Yellow	8.6yr 7.3 15.2	#FF8E00
67 Brilliant Orange Yellow	0.1y 8.1 10.5	#FFB02E
68 Strong Orange Yellow	9.1yr 7.1 11.6	#FF8E0D
69 Deep Orange Yellow	8.6yr 6.0 12.1	#D76E00
70 Light Orange Yellow	9.4yr 8.3 6.8	#FFB961
71 Moderate Orange Yellow	8.7yr 7.2 8.3	#F7943C
72 Dark Orange Yellow	9.3yr 6.0 7.9	#C37629
73 Pale Orange Yellow	9.2yr 8.7 4.4	#FFCA86
74 Strong Yellowish Brown	8.8yr 4.6 8.5	#95500C
75 Deep Yellowish Brown	8.8yr 3.1 5.0	#593315
76 Light Yellowish Brown	8.7yr 6.5 5.0	#BB8B54
77 Moderate Yellowish Brown	9.5yr 4.4 3.9	#7D512D
78 Dark Yellowish Brown	9.4yr 2.3 3.3	#3F2512
79 Light Grayish Yellowish Brown	9.7yr 6.4 2.5	#B48764
80 Grayish Yellowish Brown	9.5yr 4.6 2.1	#785840
81 Dark Grayish Yellowish Brown	8.8yr 2.5 1.6	#3D2B1F



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กระดาษสีมาตรฐาน (the NBS/IBCC color System) (ต่อ)

Yellow, Olive Brown		
82 Vivid Yellow	3.3y 8.0 14.3	#FFB300
83 Brilliant Yellow	4.4y 8.7 8.9	#FFCF40
84 Strong Yellow	3.7y 7.2 9.3	#E59E1F
85 Deep Yellow	3.7y 5.9 9.1	#B57900
86 Light Yellow	4.3y 8.8 6.8	#FFD35F
87 Moderate Yellow	3.8y 7.1 6.5	#D79D41
88 Dark Yellow	3.9y 6.0 6.4	#B07D2B
89 Pale Yellow	4.7y 9.0 3.8	#FFDB8B
90 Grayish Yellow	4.4y 7.2 3.8	#CEA262
91 Dark Grayish Yellow	3.8y 5.9 4.0	#A47C45
92 Yellowish White	4.5y 9.2 1.2	#FFE2B7
93 Yellowish Gray	3.8y 7.4 1.4	#CAA885
94 Light Olive Brown	2.1y 4.9 7.9	#945D0B
95 Moderate Olive Brown	2.7y 3.6 5.5	#64400F
96 Dark Olive Brown	2.0y 1.9 2.2	#302112
Greenish Yellow, Olive		
97 Vivid Greenish Yellow	9.1y 8.2 12.0	#F4C800
98 Brilliant Greenish Yellow	9.8y 8.8 9.5	#FFDC33
99 Strong Greenish Yellow	9.2y 7.2 9.2	#CCA817
100 Deep Greenish Yellow	9.2y 5.9 9.2	#9F8200
101 Light Greenish Yellow	9.8y 8.9 7.0	#FFDE5A
102 Moderate Greenish Yellow	9.5y 7.1 6.5	#C4A43D
103 Dark Greenish Yellow	9.4y 5.9 6.3	#9B8127
104 Pale Greenish Yellow	9.5y 9.0 4.2	#FFDF84
105 Grayish Greenish Yellow	9.0y 7.2 3.9	#C4A55F
106 Light Olive	8.2y 5.1 5.6	#846A20
107 Moderate Olive	7.6y 3.8 5.4	#5E490F
108 Dark Olive	8.9y 2.4 3.1	#362C12
109 Light Grayish Olive	7.85y 5.5 2.5	#8B734B
110 Grayish Olive	8.0y 3.6 2.0	#52442C
111 Dark Grayish Olive	9.7y 2.0 1.8	#2B2517

เอกสารนี้มีไว้เพื่อการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น ห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กระดาษสีมาตรฐาน (the NBS/IBCC color System) (ต่อ)

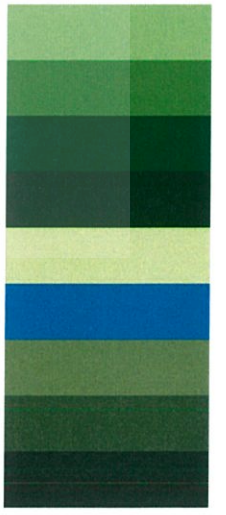
112 Light Olive Gray	6.9y 5.5 1.3	#887359
113 Olive Gray	8.1y 3.5 0.9	#4D4234
114 Olive Black	9.0y 1.1 0.9	#121910

Yellow Green, Olive Green

115 Vivid Yellowish Green	5.4gy 6.8 11.2	#93AA00
116 Brilliant Yellow Green	4.9gy 8.2 9.1	#CED23A
117 Strong Yellow Green	5.4gy 6.0 8.7	#7F8F18
118 Deep Yellow Green	7.4gy 4.2 7.1	#425E17
119 Light Yellow Green	5.0gy 8.4 5.6	#DCD36A
120 Moderate Yellow Green	4.8gy 6.0 5.0	#8B8940
121 Pale Yellowish Green	3.4gy 8.7 2.4	#F0D698
122 Grayish Yellowish Green	4.4gy 6.0 2.3	#90845B
123 Strong Olive Green	4.0gy 3.0 11.0	#0A4500
124 Deep Olive Green	4.0gy 1.5 11.0	#142300
125 Moderate Olive Green	5.7gy 3.6 4.8	#434B1B
126 Dark Olive Green	8.0gy 2.2 3.6	#232C16
127 Grayish Olive Green	4.6gy 3.5 2.0	#48442D
128 Dark Grayish Olive Green	5.4gy 2.0 1.8	#27261A
129 Vivid Yellowish Green	1.1g 5.9 11.2	#379931

Yellowish Green

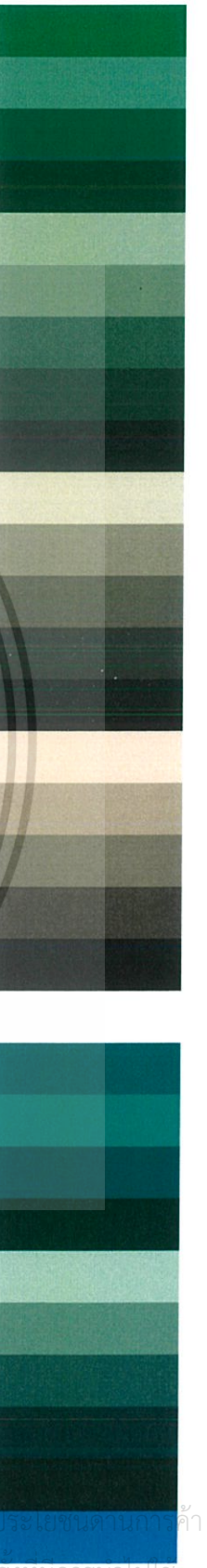
130 Brilliant Yellowish Green	0.3g 7.7 8.6	#8CCB5E
131 Strong Yellowish Green	0.4g 5.4 8.7	#478430
132 Deep Yellowish Green	0.9g 3.5 9.0	#00541F
133 Very Deep Yellowish Green	10.0gy 1.5 11.0	#002800
134 Very Light Yellowish Green	0.2g 8.6 4.6	#C6DF90
135 Light Yellowish Green	0.7g 7.4 5.2	#007BA7
136 Moderate Yellowish Green	0.5g 5.5 4.8	#657F4B
137 Dark Yellowish Green	0.6g 3.5 5.0	#304B26
138 Very Dark Yellowish Green	0.3g 1.8 4.3	#132712



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กระดาษสีมาตรฐาน (the NBS/IBCC color System) (ต่อ)

Green		
139 Vivid Green	3.2g 4.9 11.1	#007D34
140 Brilliant Green	6.2g 6.5 8.3	#47A76A
141 Strong Green	5.8g 4.4 8.7	#006B3C
142 Deep Green	5.1g 3.0 8.1	#004524
143 Very Light Green	6.5g 7.8 4.9	#98C793
144 Light Green	6.0g 6.4 5.1	#719B6E
145 Moderate Green	6.3g 4.5 5.1	#386646
146 Dark Green	6.6g 2.8 4.6	#203A27
147 Very Dark Green	8.0g 1.8 3.0	#16251C
148 Very Pale Green	7.3g 8.8 1.9	#D8DEBA
149 Pale Green	7.6g 6.4 1.7	#8D917A
150 Grayish Green	8.8g 4.5 1.8	#575E4E
151 Dark Greenish Yellowish Green	1.0bg 2.9 1.8	#313830
152 Blackish Green	10.0g 1.0 1.4	#141613
153 Greenish White	10.0g 9.2 0.8	#F5E6CB
154 Light Greenish Gray	3.0g 7.5 0.9	#BAAF96
155 Greenish Gray	7.5g 5.5 1.0	#7A7666
156 Dark Greenish Gray	1.5bg 3.5 0.9	#45433B
157 Greenish Black	8.7g 1.0 0.7	#181513
Bluish Green		
158 Vivid Bluish Green	5.0bg 5.0 13.0	#00836E
159 Brilliant Bluish Green	2.9bg 6.0 9.6	#009B76
160 Strong Bluish Green	4.6bg 4.5 8.5	#006D5B
161 Deep Bluish Green	2.8bg 2.4 8.3	#00382B
162 Very Light Bluish Green	4.4bg 8.3 4.6	#A0D6B4
163 Light Bluish Green	4.6bg 6.5 4.9	#669E85
164 Moderate Bluish Green	4.6bg 4.5 5.0	#2F6556
165 Dark Bluish Green	4.9bg 2.7 5.0	#013A33
166 Very Dark Bluish Green	3.6bg 1.2 4.0	#001D18
167 Vivid Greenish Blue	5.0b 5.0 13.0	#007BA7



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กระดาษสีมาตรฐาน (the NBS/IBCC color System) (ต่อ)

Greenish Blue		
168 Brilliant Greenish Blue	4.6b 5.9 7.7	#2A8D9C
169 Strong Greenish Blue	4.9b 4.5 8.4	#00677E
170 Deep Greenish Blue	5.0b 5.0 13.0	#007BA7
171 Very Light Greenish Blue	4.0b 8.0 4.0	#A3C6C0
172 Light Greenish Blue	4.5b 6.5 5.4	#649A9E
173 Moderate Greenish Blue	4.7b 4.5 5.2	#30626B
174 Dark Greenish Blue	3.7b 2.7 5.0	#003841
175 Very Dark Greenish Blue	5.0b 1.5 3.6	#022027
Blue		
176 Vivid Blue	5.0b 5.0 14.0	#007CAD
177 Brilliant Blue	1.6pb 5.9 9.4	#4285B4
178 Strong Blue	2.9pb 4.1 10.4	#00538A
179 Deep Blue	2.8pb 2.5 7.9	#002F55
180 Very Light Blue	2.7pb 7.9 6.0	#A6BDD7
181 Light Blue	1.6pb 6.4 6.9	#6C92AF
182 Moderate Blue	3.0pb 4.3 6.8	#395778
183 Dark Blue	2.2pb 1.7 5.5	#002137
184 Very Pale Blue	1.5pb 8.3 3.3	#C1CACA
185 Pale Blue	0.6pb 6.5 2.6	#919192
186 Grayish Blue	0.2pb 4.2 3.0	#4A545C
187 Dark Grayish Blue	9.2b 2.7 2.0	#2C3337
188 Blackish Blue	9.8b 1.3 1.5	#161A1E
189 Bluish White	9.2b 9.1 1.2	#F9DFCF
190 Light Bluish Gray	8.2b 7.5 1.0	#BEADA1
191 Bluish Gray	8.9b 5.5 0.9	#7D746D
192 Dark Bluish Gray	0.3pb 3.6 1.1	#464544
193 Bluish Black	9.6b 1.1 0.8	#151719
Purplish Blue		
194 Very Purplish Blue	7.8pb 2.0 12.5	#20155E
195 Brilliant Purplish Blue	7.3pb 5.1 9.0	#62639B

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กระดาษสีมาตรฐาน (the NBS/IBCC color System) (ต่อ)

196 Strong Purplish Blue	8.0pb 4.0 10.9	#474389
197 Deep Purplish Blue	7.8pb 1.5 8.0	#1A153F
198 Very Light Purplish Blue	7.4pb 7.6 5.2	#BAACC7
199 Light Purplish Blue	7.3pb 6.0 6.5	#837DA2
200 Moderate Purplish Blue	7.9pb 3.5 6.5	#423C63
201 Dark Purplish Blue	8.0pb 1.3 4.3	#1A162A
202 Very Pale Purplish Blue	7.0pb 8.0 3.7	#CBBAC5
203 Pale Purplish Blue	7.0pb 6.0 3.9	#8A7F8E
204 Grayish Purplish Blue	6.9pb 3.4 3.8	#413D51

Violet

205 Vivid Violet	2.0p 5.0 14.0	#884BAE
206 Brilliant Violet	9.9pb 5.1 9.4	#755D9A
207 Strong Violet	0.2p 3.7 10.1	#53377A
208 Deep Violet	1.1p 1.2 8.6	#240935
209 Very Light Violet	2.0p 8.5 7.0	#EEBEF1
210 Light Violet	0.5p 5.6 7.1	#876C99
211 Moderate Violet	1.4p 3.6 7.0	#543964
212 Dark Violet	1.4p 1.3 4.9	#22132B
213 Very Pale Violet	9.7pb 7.9 3.7	#D8B1BF
214 Pale Violet	1.3p 6.0 4.0	#957B8D
215 Grayish Violet	1.2p 3.3 3.9	#46394B

Purple

216 Vivid Purple	6.0p 4.5 14.0	#943391
217 Brilliant Purple	6.0p 7.0 11.0	#DD80CC
218 Strong Purple	6.5p 4.3 9.2	#803E75
219 Deep Purple	6.3p 2.7 9.1	#531A50
220 Very Deep Purple	5.0p 1.5 8.0	#320B35
221 Very Light Purple	6.5p 7.8 5.1	#E3A9BE
222 Light Purple	6.2p 6.5 6.5	#BA7FA2
223 Moderate Purple	6.6p 4.5 7.1	#7F4870
224 Dark Purple	6.3p 2.8 4.9	#472A3F

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กระดาษสีมาตรฐาน (the NBS/IBCC color System) (ต่อ)

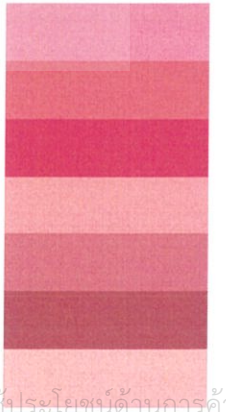
225 Very Dark Purple	6.9p 1.0 4.5	#230D21
226 Very Pale Purple	5.5p 8.2 3.2	#E6BBC1
227 Pale Purple	7.9p 6.4 3.1	#AE848B
228 Grayish Purple	8.1p 4.5 2.7	#72525C
229 Dark Grayish Purple	0.5rp 2.8 2.0	#452D35
230 Blackish Purple	0.8rp 0.9 1.6	#1D1018
231 Purplish White	2.5rp 9.0 0.8	#FADBC8
232 Light Purplish Gray	0.3rp 7.5 1.1	#C8A99E
233 Purplish Gray	1.0rp 5.5 0.9	#88706B
234 Dark Purplish Gray	1.0rp 3.6 1.0	#564042
235 Purplish Black	9.54p 0.9 0.6	#1B1116

Reddish Purple

236 Vivid Reddish Purple	1.0rp 3.0 14.0	#7E0059
237 Strong Reddish Purple	1.3rp 4.4 10.2	#9A366B
238 Deep Reddish Purple	1.0rp 2.8 9.5	#641349
239 Very Deep Reddish Purple	0.9rp 1.9 8.9	#470736
240 Light Reddish Purple	0.7rp 6.0 6.9	#BB6C8A
241 Moderate Reddish Purple	0.8rp 4.5 7.0	#8C4566
242 Dark Reddish Purple	1.3rp 2.8 4.8	#4F273A
243 Very Dark Reddish Purple	1.5rp 1.0 4.8	#270A1F
244 Pale Reddish Purple	1.3rp 6.0 4.2	#AC7580
245 Grayish Reddish Purple	1.0rp 4.5 4.2	#7D4D5D

Purplish Pink, Purplish Red

246 Brilliant Purplish Pink	6.0rp 8.5 11.0	#FF97BB
247 Strong Purplish Pink	5.6rp 6.8 9.0	#F6768E
248 Deep Purplish Pink	4.4rp 6.0 12.2	#EB5284
249 Light Purplish Pink	4.6rp 8.0 5.5	#FFA8AF
250 Moderate Purplish Pink	4.6rp 6.8 6.7	#E28090
251 Dark Purplish Pink	6.4rp 5.9 7.0	#C76574
252 Pale Purplish Pink	3.7rp 8.4 3.3	#FDBDBA



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กระดาษสีมาตรฐาน (the NBS/IBCC color System) (ต่อ)

253 Grayish Purplish Pink	3.7rp 7.0 3.5	#CC9293
254 Vivid Purplish Red	7.6rp 4.9 13.6	#D5265B
255 Strong Purplish Red	7.3rp 4.4 11.4	#B32851
256 Deep Purplish Red	7.3rp 2.6 10.1	#6F0035
257 Very Deep Purplish Red	6.8rp 1.7 8.0	#470027
258 Moderate Purplish Red	7.1rp 4.5 9.0	#A73853
259 Dark Purplish Red	7.1rp 2.7 6.0	#5B1E31
260 Very Dark Purplish Red	6.6rp 0.9 4.8	#28071A
261 Light Grayish Purplish Red	7.8rp 5.9 4.2	#B27070
262 Grayish Purplish Red	7.0rp 4.5 5.1	#8C4852
263 White	2.5pb 9.5 0.2	#FFC9D7
264 Light Gray	6.7y 7.4 0.2	#C2A894
265 Medium Gray	3.3gy 5.4 0.1	#817066
266 Dark Gray	2.5pb 3.5 0.0	#49423D
267 Black	2.5pb 0.8 0.0	#131313

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง

ลักษณะโคโลนี รูปร่างของสปอร์ และการทดสอบฤทธิ์ของเชื้อเอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีท

ตารางภาคผนวก ง1 แสดงลักษณะทางสัณฐานวิทยาเชื้อแอคติโนมัยสีทของยี่หร่า

รหัสเชื้อ	สีเส้นใยอาหาร	สีเส้นใยอากาศ	ลักษณะสปอร์
CMR1.35	Dark grayish yellow	White	ปลายบิดเกลียวและมีการแตกแขนง
CMR1.38	Moderate brown	Moderate yellow	เส้นตรงยาวและมีการแตกแขนง
CMR1.42	Grayish yellow	Brownish pink	บิดเกลียวและมีการแตกแขนง
CMR1.58	Brownish pink	Light yellow brown	บิดเกลียวและมีการแตกแขนง
CMR1.66	Dark grayish yellow	White	ปลายบิดเกลียวและมีการแตกแขนง
CMR1.68	Dark grayish yellow	White	ปลายบิดเกลียวและมีการแตกแขนง
CMR1.74	Dark grayish yellow	White	ปลายบิดเกลียวและมีการแตกแขนง

ตารางภาคผนวก ง2 แสดงลักษณะทางสัณฐานวิทยาเชื้อแอคติโนมัยสีทของฟ้าทะลายโจร

รหัสเชื้อ	สีเส้นใยอาหาร	สีเส้นใยอากาศ	ลักษณะสปอร์
APR2.1	Brilliant yellow	Pale yellow	เส้นตรงยาว
APR2.2	Brilliant yellow	Pale yellow	เส้นตรงยาว
APR2.5	Moderate yellow	White	เส้นตรงยาว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ง2 แสดงลักษณะทางสัณฐานวิทยาเชื้อแอคติโนมัยสีทของฟ้าทะลายโจร (ต่อ)

APR2.12	Grayish brown	White	เส้นตรงและมีการแตกแขนง
APR2.15	Moderate yellow	White	เส้นตรงยาว
APR2.16	Pale greenish yellow	White	เส้นตรงและมีการแตกแขนง

ตารางภาคผนวก ง3 แสดงลักษณะทางสัณฐานวิทยาเชื้อแอคติโนมัยสีทของกระเทียม

รหัสเชื้อ	สีเส้นใยอาหาร	สีเส้นใยอากาศ	ลักษณะสปอร์
R1	Moderate yellow	Bluish gray	สั้น โค้งงอเล็กน้อย อยู่เป็นกระจุก
R2	Strong yellow	Light bluish gray	ปลายเส้นบิดเกลียวและมีการแตกแขนง
R3	Strong yellow	Light bluish gray	ปลายเส้นบิดเกลียวและมีการแตกแขนง
R4	Strong yellow	Light bluish gray	ปลายเส้นบิดเกลียวและมีการแตกแขนง
R5	Light greenish yellow	Grayish pink	ตรงและมีการแตกแขนง
R15	Moderate brown	Pale purplish blue	ปลายบิดเกลียวและมีการแตกแขนง
R16	Moderate orange yellow	Grayish blue	เส้นตรงปลายบิดเกลียวและมีการแตกแขนง
R17	Brilliant orange	ไม่พบการสร้างเส้นใยอากาศ	ไม่พบการสร้างสปอร์
R18	Brilliant orange	ไม่พบการสร้างเส้นใยอากาศ	ไม่พบการสร้างสปอร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ง3 แสดงลักษณะทางสัณฐานวิทยาเชื้อแอคติโนมัยสีทของกระเทียม (ต่อ)

R19	Brilliant orange	ไม่พบการสร้างเส้นใยอากาศ	ไม่พบการสร้างสปอร์
R24	Vivid yellow	Pale greenish yellow	ตรงและมีการโค้งงอเล็กน้อย
R25	Strong yellow	Light bluish gray	ปลายเส้นบิดเกลียวและมีการแตกแขนง
R26	Vivid yellow	Pale greenish yellow	ตรงและมีการโค้งงอเล็กน้อย
R27	Vivid yellow	Pale greenish yellow	ตรงและมีการโค้งงอเล็กน้อย
R28	Vivid yellow	Pale greenish yellow	ตรงและมีการโค้งงอเล็กน้อย
R29	Moderate orange yellow	Grayish blue	เส้นตรงปลายบิดเกลียวและมีการแตกแขนง
R30	Vivid yellow	Pale greenish yellow	ตรงและมีการโค้งงอเล็กน้อย
R31	Vivid yellow	Pale greenish yellow	ตรงและมีการโค้งงอเล็กน้อย
R32	Vivid yellow	Pale greenish yellow	ตรงและมีการโค้งงอเล็กน้อย
R34	Vivid yellow	Pale greenish yellow	ตรงและมีการโค้งงอเล็กน้อย
R35	Vivid yellow	Pale greenish yellow	ตรงและมีการโค้งงอเล็กน้อย
R36	Vivid yellow	Pale greenish yellow	ตรงและมีการโค้งงอเล็กน้อย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ง3 แสดงลักษณะทางสัณฐานวิทยาเชื้อแอคติโนมัยสีทของกระเทียม (ต่อ)

R37	Vivid yellow	Pale greenish yellow	ตรงและมีการโค้งงอเล็กน้อย
R38	Moderate brown	Pale purplish blue	ปลายบิดเกลียวและมีการแตกแขนง
R39	Light greenish yellow	Light grayish olive	บิดเป็นเกลียวและมีการแตกแขนง
R41	Brownish orange	Moderate orange	บิดเกลียวและมีการแตกแขนง
R43	Moderate brown	Purplish white	เส้นตรงปลายบิดเกลียวและมีการแตกแขนง
R44	Moderate brown	Pale purplish blue	ปลายบิดเกลียวและมีการแตกแขนง
R45	Strong yellow	Light bluish gray	ปลายเส้นบิดเกลียวและมีการแตกแขนง
R46	Dark grayish olive green	ไม่พบการสร้างเส้นใยอากาศ	ไม่พบการสร้างสปอร์
R47	Dark grayish olive green	ไม่พบการสร้างเส้นใยอากาศ	ไม่พบการสร้างสปอร์
R49	Dark grayish olive green	ไม่พบการสร้างเส้นใยอากาศ	ไม่พบการสร้างสปอร์
R50	Grayish reddish orange	Grayish yellow	แบบสายตรงสั้น
R51	Grayish olive green	Pale blue	บิดเป็นเกลียวและมีการแตกแขนง
R52	Vivid yellow	Pale greenish yellow	ตรงและมีการโค้งงอเล็กน้อย
R53	Vivid yellow	Pale greenish yellow	ตรงและมีการโค้งงอ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ง3 แสดงลักษณะทางสัณฐานวิทยาเชื้อแอคติโนมัยสีทของกระเทียม (ต่อ)

R54	Vivid yellow	Pale greenish yellow	ตรงและมีการโค้งงอเล็กน้อย
R55	Vivid yellow	Pale greenish yellow	ตรงและมีการโค้งงอเล็กน้อย
R56	Vivid yellow	Pale greenish yellow	ตรงและมีการโค้งงอเล็กน้อย
R57	Vivid yellow	Pale greenish yellow	ตรงและมีการโค้งงอเล็กน้อย
R58	Vivid yellow	Pale greenish yellow	ตรงและมีการโค้งงอเล็กน้อย
R59	Vivid yellow	Pale greenish yellow	ตรงและมีการโค้งงอเล็กน้อย
R60	Vivid yellow	Pale greenish yellow	ตรงและมีการโค้งงอเล็กน้อย
R61	Dark grayish olive green	ไม่พบการสร้างเส้นใยอากาศ	ไม่พบการสร้างสปอร์
R63	Vivid yellow	Pale greenish yellow	ตรงและมีการโค้งงอเล็กน้อย
R65	Vivid yellow	Pale greenish yellow	ตรงและมีการโค้งงอเล็กน้อย
R66	Vivid yellow	Pale greenish yellow	ตรงและมีการโค้งงอเล็กน้อย
R68	Vivid yellow	Pale greenish yellow	ตรงและมีการโค้งงอเล็กน้อย
R69	Grayish olive green	Pale blue	บิดเป็นเกลียวและมีการแตกแขนง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ง3 แสดงลักษณะทางสัณฐานวิทยาเชื้อแอคติโนมัยสีทของกระเทียม (ต่อ)

R71	Vivid yellow	Pale greenish yellow	ตรงและมีการโค้งงอเล็กน้อย
R72	Vivid yellow	Pale greenish yellow	ตรงและมีการโค้งงอเล็กน้อย
R73	Strong yellow	Light bluish gray	ปลายเส้นบิดเกลียวและมีการแตกแขนง
R74	Moderate brown	Pale purplish blue	ปลายบิดเกลียวและมีการแตกแขนง
R75	Vivid yellow	Pale greenish yellow	ตรงและมีการโค้งงอเล็กน้อย
L3	Pale yellowish pink	ไม่พบการสร้างเส้นใยอากาศ	ไม่พบการสร้างสปอร์
L4	Grayish olive green	Pale blue	บิดเป็นเกลียวและมีการแตกแขนง
L5	Deep orange	Yellowish white	ตรงและมีการโค้งงอเล็กน้อย
L6	Deep orange	Yellowish white	ตรงและมีการโค้งงอเล็กน้อย
L7	Grayish olive green	Pale blue	บิดเป็นเกลียวและมีการแตกแขนง
L8	Deep orange	Yellowish white	ตรงและมีการโค้งงอเล็กน้อย
L9	Deep orange	Yellowish white	ตรงและมีการโค้งงอเล็กน้อย
L10	Deep orange	Yellowish white	ตรงและมีการโค้งงอเล็กน้อย

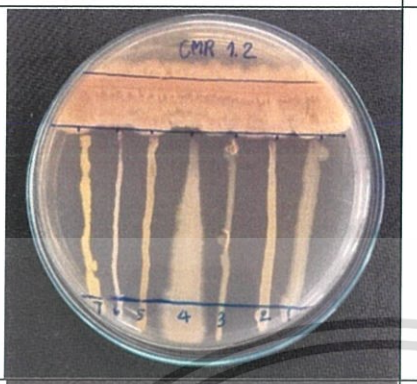
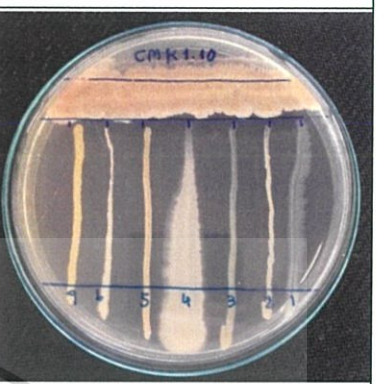
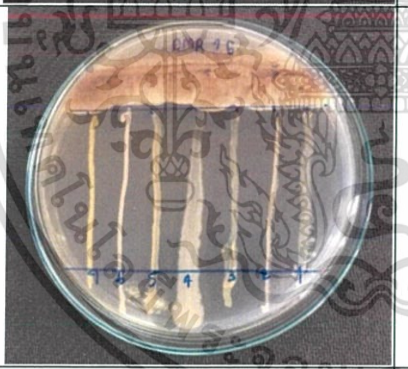
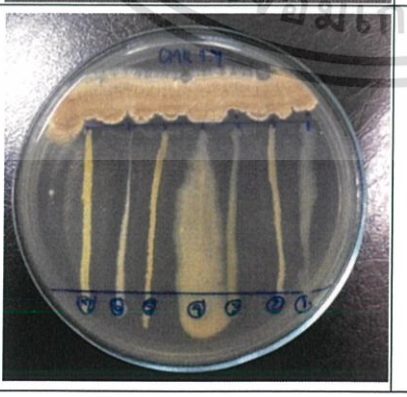
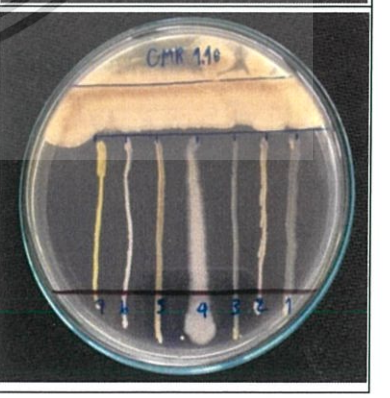
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ง3 แสดงลักษณะทางสัณฐานวิทยาเชื้อแอคติโนมัยสีทของกระเทียม (ต่อ)

L11	Deep orange	Yellowish white	ตรงและมีการโค้งงอเล็กน้อย
L12	Brilliant orange	ไม่พบการสร้างเส้นใยอากาศ	ไม่พบการสร้างสปอร์
L13	Vivid yellow	Pale greenish yellow	ตรงและมีการโค้งงอเล็กน้อย

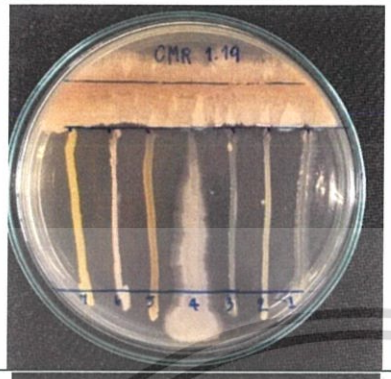
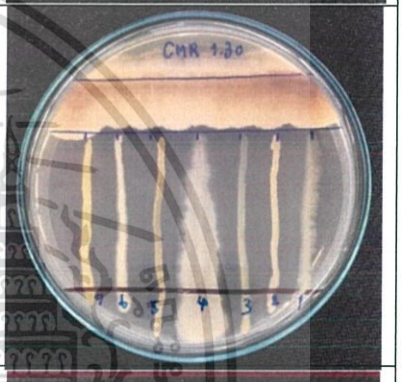
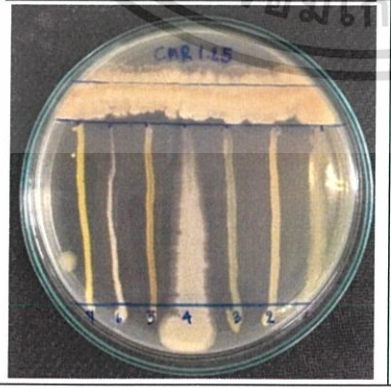
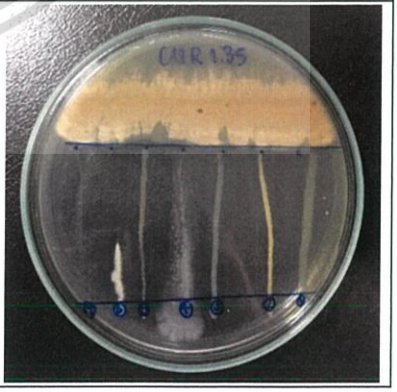
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ง4 แสดงฤทธิ์เบื้องต้นของเอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีทที่แยกได้จากยี่หร่า

รหัสเชื้อ	ผลการทดสอบ	รหัสเชื้อ	ผลการทดสอบ
CMR 1.2		CMR 1.10	
CMR 1.4		CMR 1.12	
CMR 1.6		CMR 1.14	
CMR 1.7		CMR 1.16	

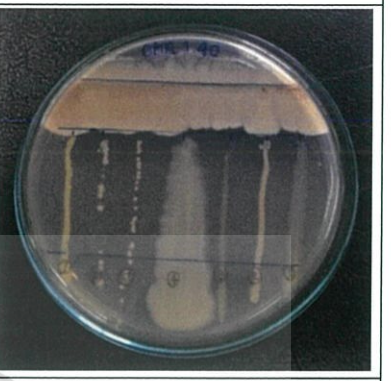
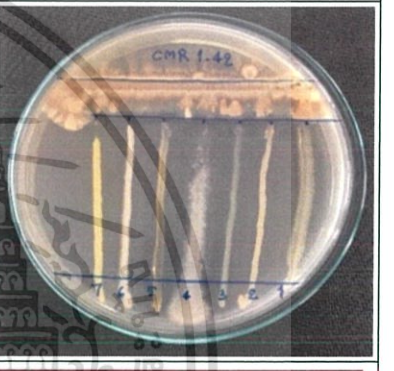
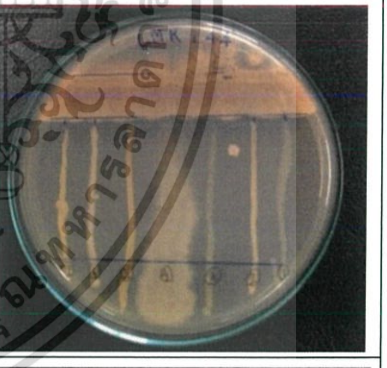
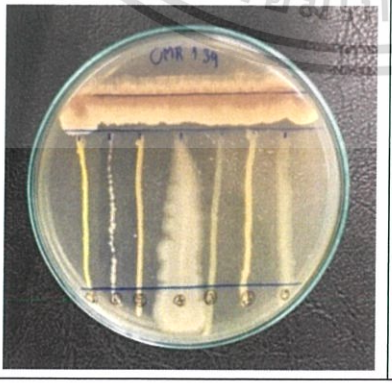
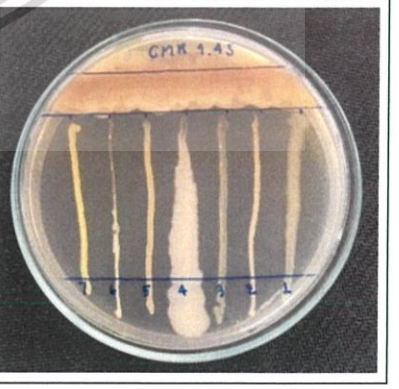
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ง4 แสดงฤทธิ์เบื้องต้นของเอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีทที่แยกได้จากยี่หร่า (ต่อ)

รหัสเชื้อ	ผลการทดสอบ	รหัสเชื้อ	ผลการทดสอบ
CMR 1.19		CMR 1.29	
CMR 1.20		CMR 1.30	
CMR 1.24		CMR 1.34	
CMR 1.25		CMR 1.35	

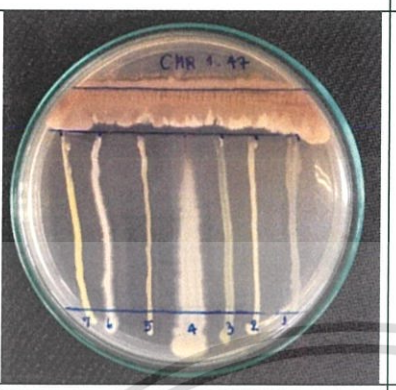
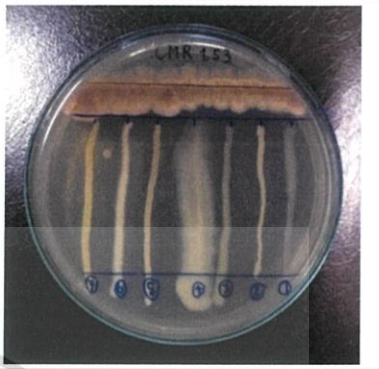
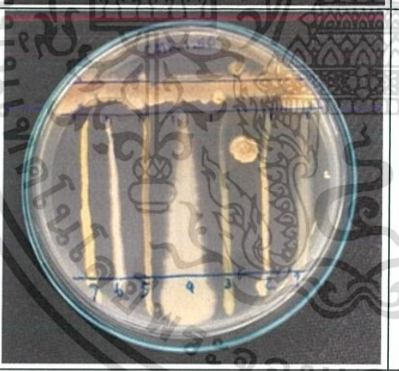
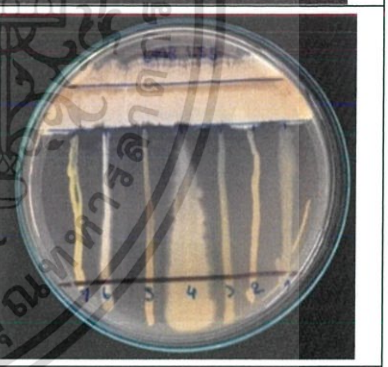
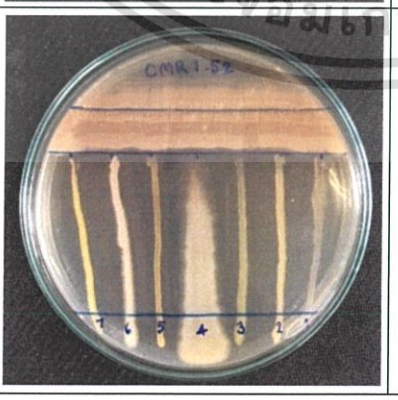
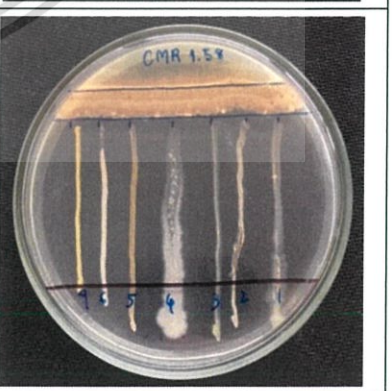
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ง4 แสดงฤทธิ์เบื้องต้นของเอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีทที่แยกได้จากยี่หร่า (ต่อ)

รหัสเชื้อ	ผลการทดสอบ	รหัสเชื้อ	ผลการทดสอบ
CMR 1.36		CMR 1.40	
CMR 1.37		CMR 1.42	
CMR 1.38		CMR 1.44	
CMR 1.39		CMR 1.45	

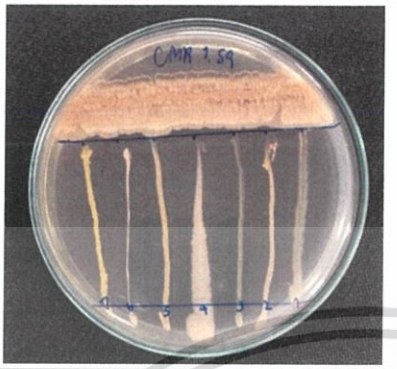
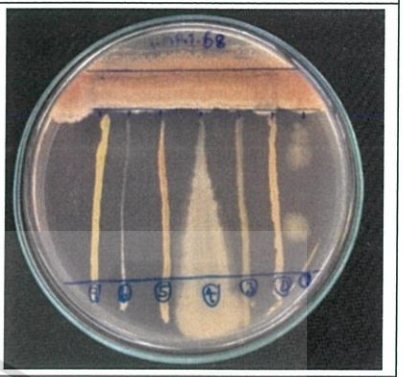
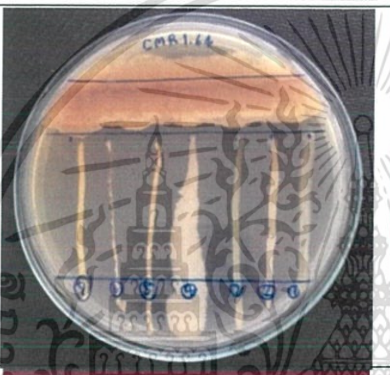
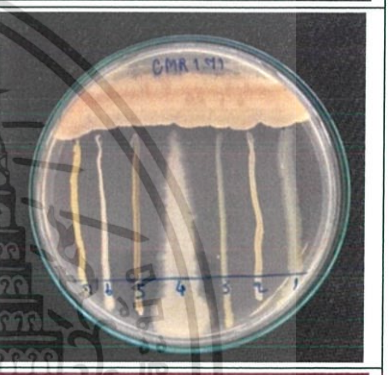
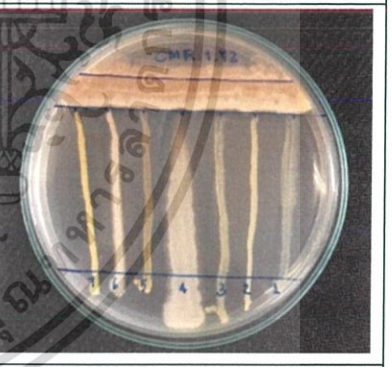
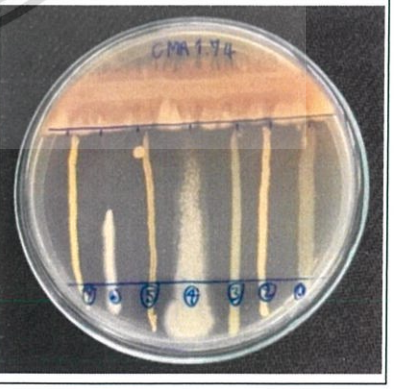
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ง4 แสดงฤทธิ์เบื้องต้นของเอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีทที่แยกได้จากยี่หร่า (ต่อ)

รหัสเชื้อ	ผลการทดสอบ	รหัสเชื้อ	ผลการทดสอบ
CMR 1.47		CMR 1.53	
CMR 1.48		CMR 1.54	
CMR 1.50		CMR 1.55	
CMR 1.52		CMR 1.58	

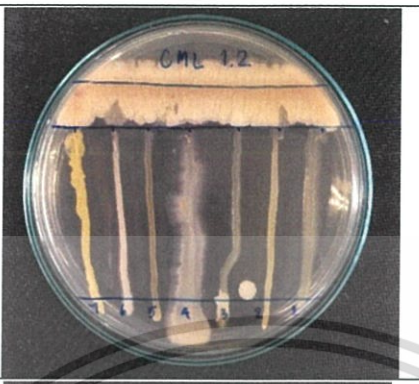
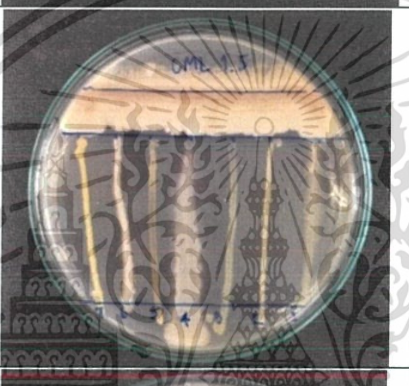
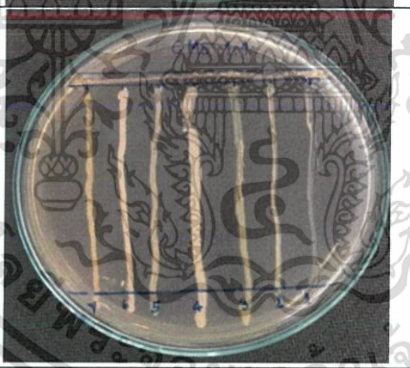
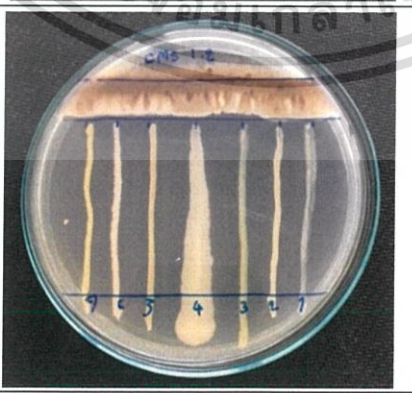
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ง4 แสดงฤทธิ์เบื้องต้นของเอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีทที่แยกได้จากยี่หร่า (ต่อ)

รหัสเชื้อ	ผลการทดสอบ	รหัสเชื้อ	ผลการทดสอบ
CMR 1.59		CMR 1.68	
CMR 1.64		CMR 1.71	
CMR 1.66		CMR 1.72	
CMR 1.67		CMR 1.74	

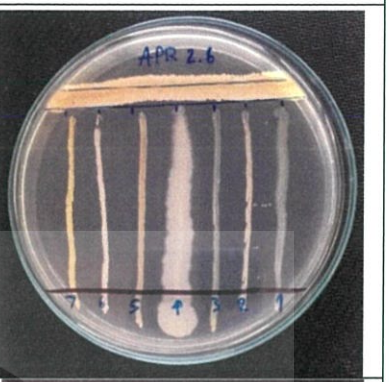
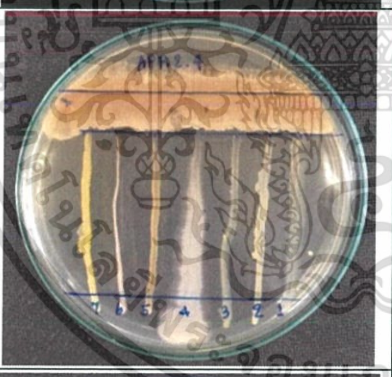
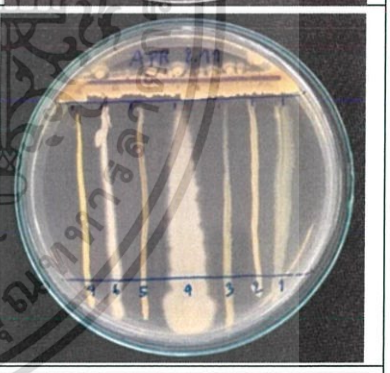
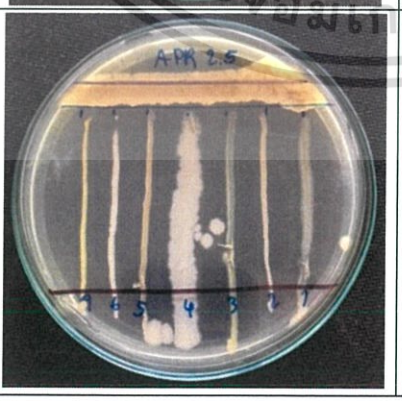
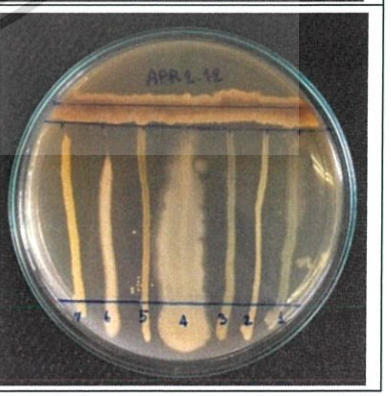
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ง4 แสดงฤทธิ์เบื้องต้นของเอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีทที่แยกได้จากยี่หร่า (ต่อ)

รหัสเชื้อ	ผลการทดสอบ
CML 1.2	
CML 1.5	
CMS 1.1	
CMS 1.2	

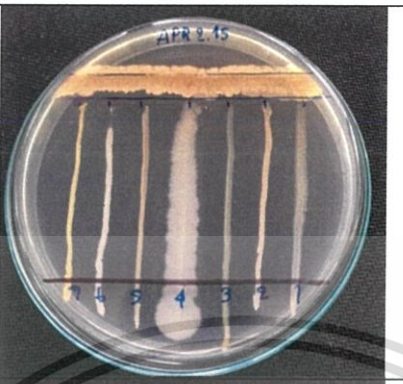
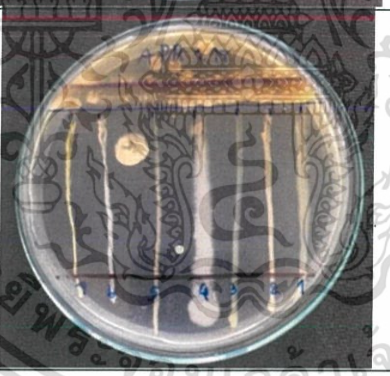
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ง5 แสดงฤทธิ์เบื้องต้นของเอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีทที่แยกได้จากฟ้าทะลายโจร

รหัสเชื้อ	ผลการทดสอบ	รหัสเชื้อ	ผลการทดสอบ
APR 2.1		APR 2.6	
APR 2.2		APR 2.8	
APR 2.4		APR 2.11	
APR 2.5		APR 2.12	

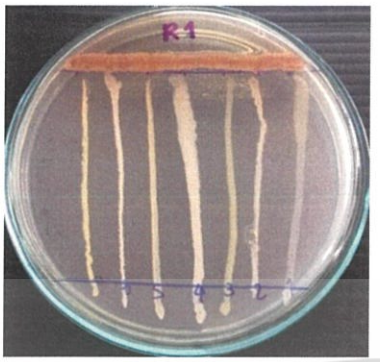
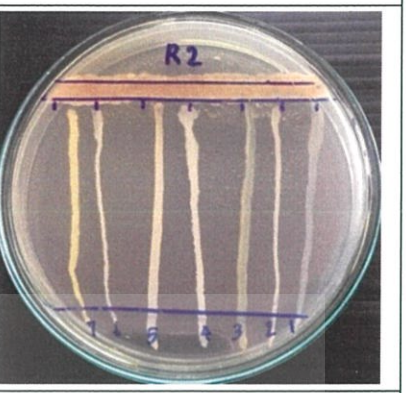
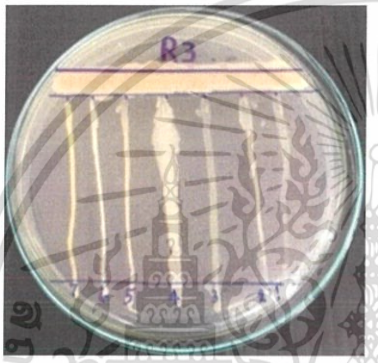
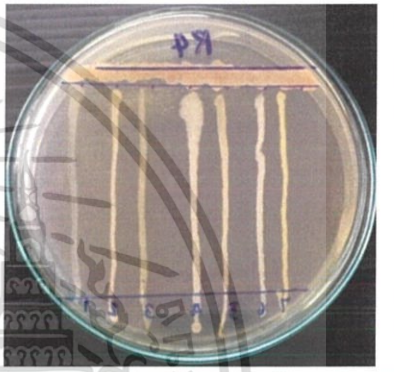
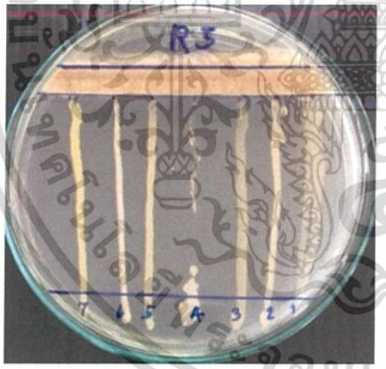
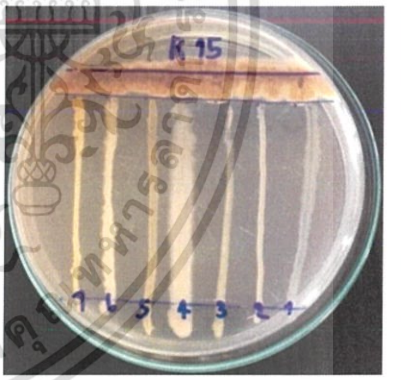
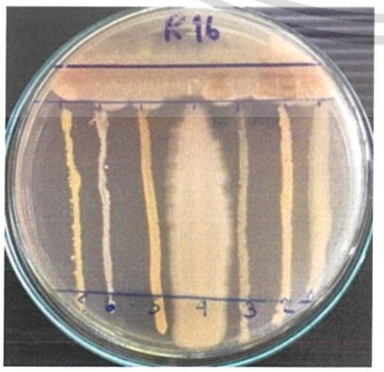
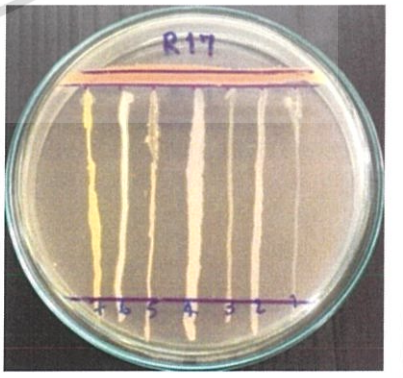
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ง5 แสดงฤทธิ์เบื้องต้นของเอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีทที่แยกได้จากฟ้าทะลายโจร (ต่อ)

รหัสเชื้อ	ผลการทดสอบ
APR 2.15	
APR 2.16	
APR 2.18	

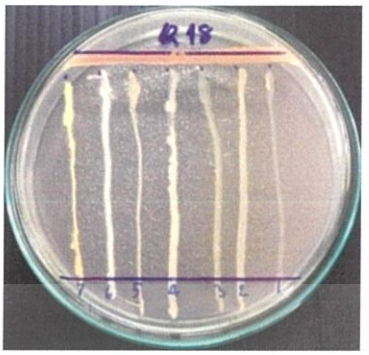
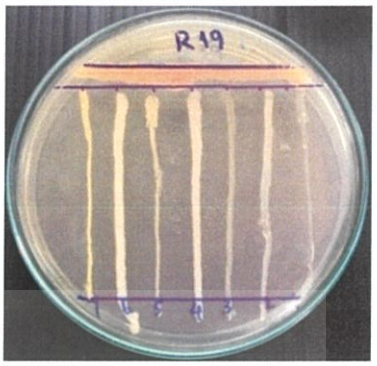
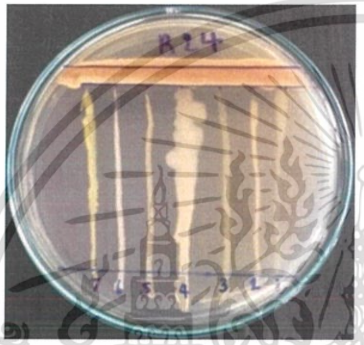
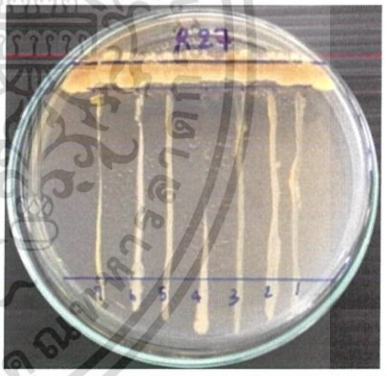
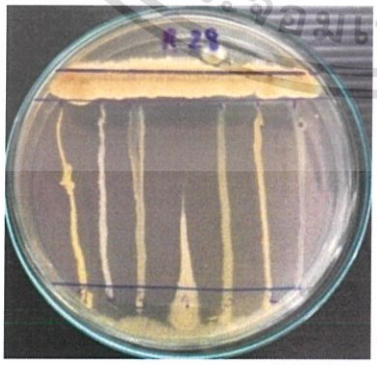
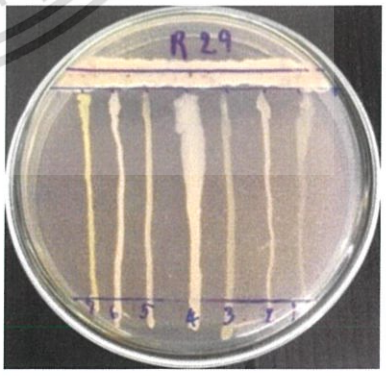
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ง6 แสดงฤทธิ์เบื้องต้นของเอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีทที่แยกได้จากกระเทียม

รหัสเชื้อ	ผลการทดสอบ	รหัสเชื้อ	ผลการทดสอบ
R1		R2	
R3		R4	
R5		R15	
R16		R17	

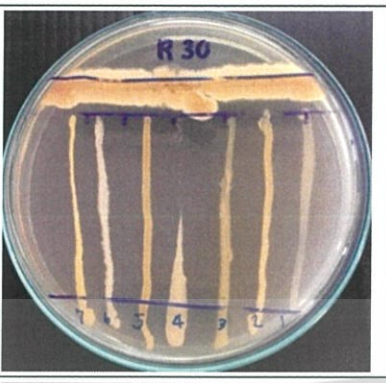
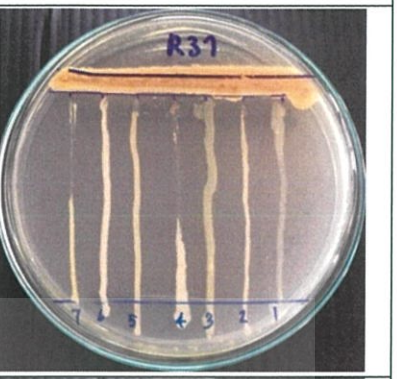
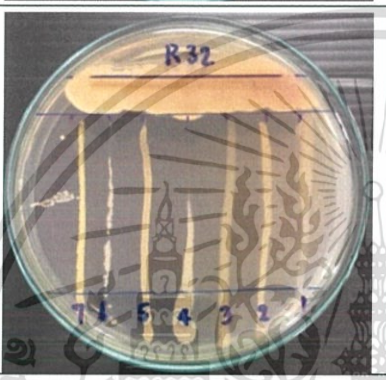
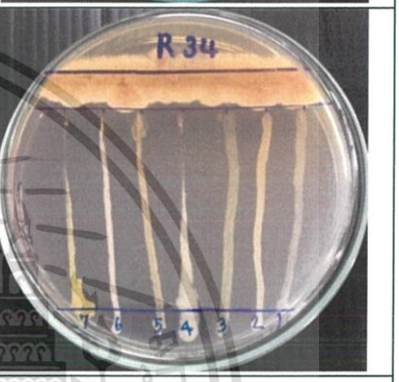
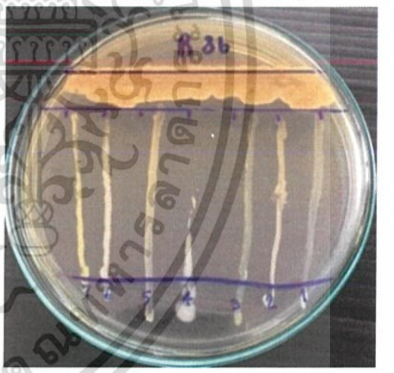
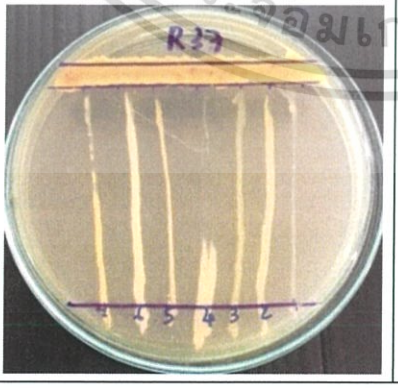
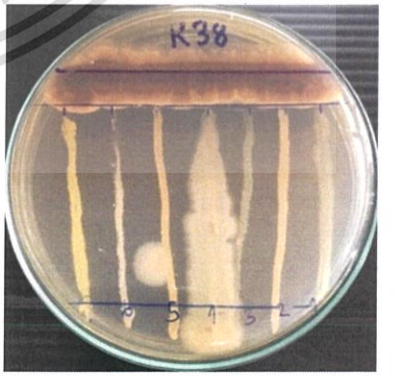
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ง6 แสดงฤทธิ์เบื้องต้นของเอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีทที่แยกได้จากกระเทียม (ต่อ)

รหัสเชื้อ	ผลการทดสอบ	รหัสเชื้อ	ผลการทดสอบ
R18		R19	
R24		R25	
R26		R27	
R28		R29	

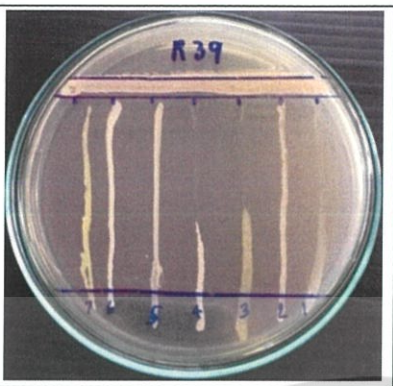
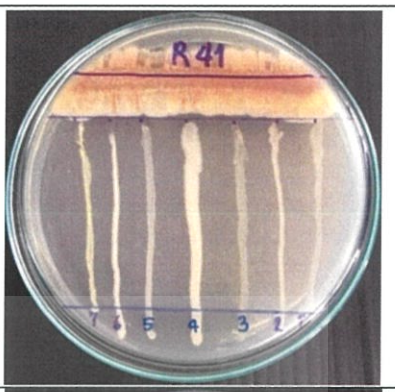
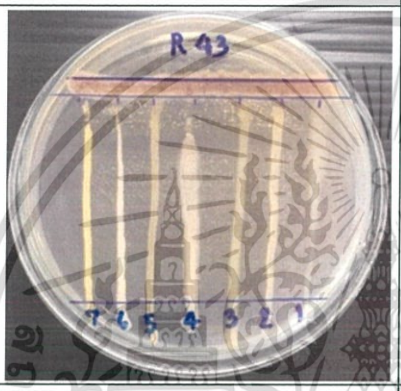
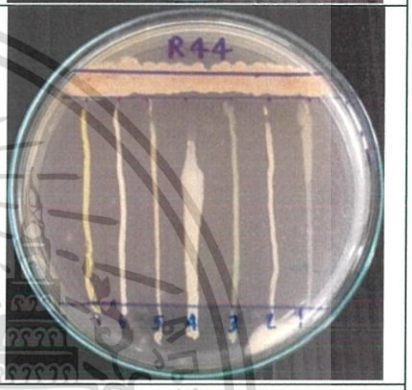
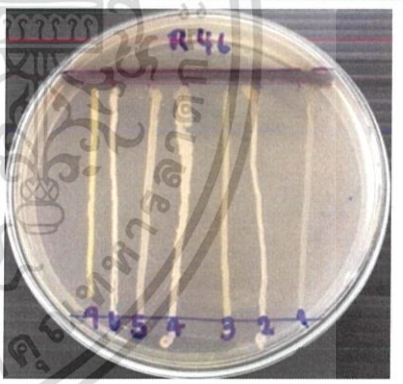
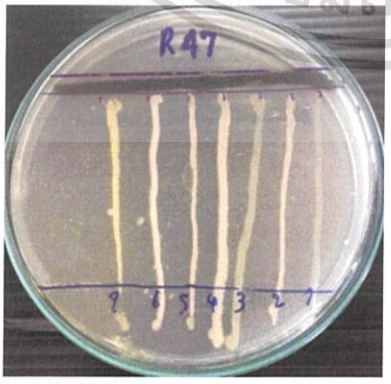
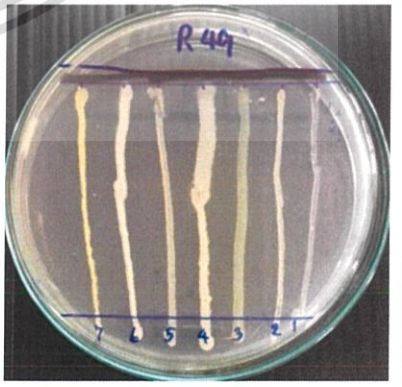
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ง6 แสดงฤทธิ์เบื้องต้นของเอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีทที่แยกได้จากกระเทียม (ต่อ)

รหัสเชื้อ	ผลการทดสอบ	รหัสเชื้อ	ผลการทดสอบ
R30		R31	
R32		R34	
R35		R36	
R37		R38	

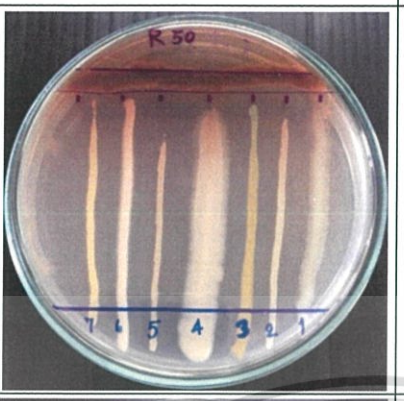
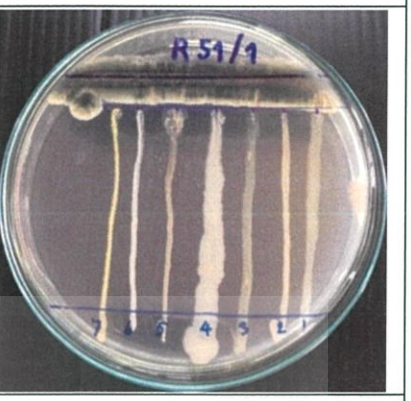
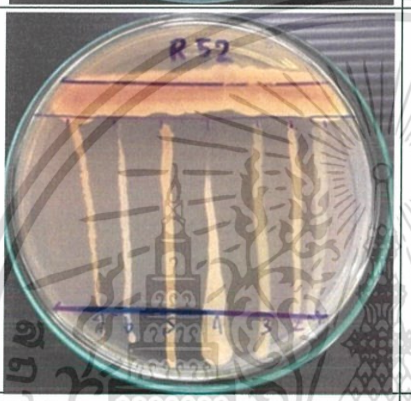
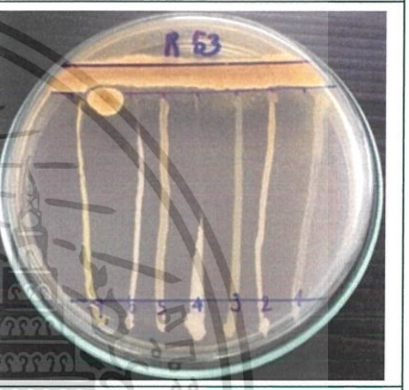
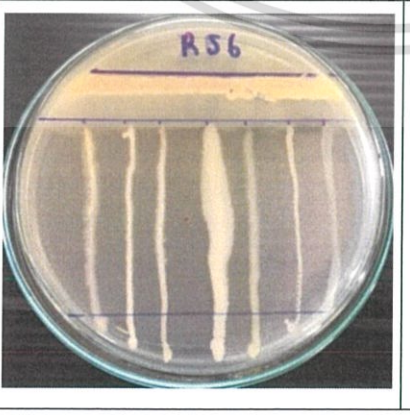
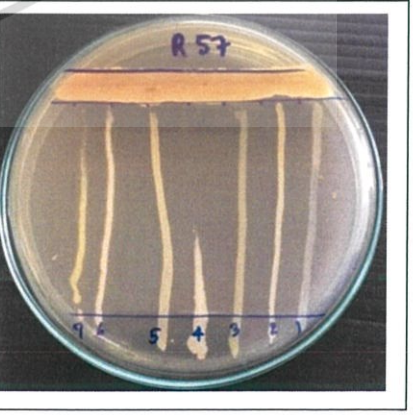
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ง6 แสดงฤทธิ์เบื้องต้นของเอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีทที่แยกได้จากกระเทียม (ต่อ)

รหัสเชื้อ	ผลการทดสอบ	รหัสเชื้อ	ผลการทดสอบ
R39		R41	
R43		R44	
R45		R46	
R47		R49	

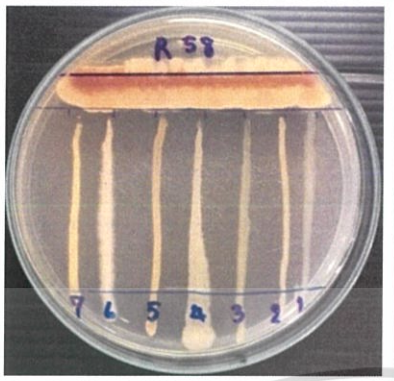
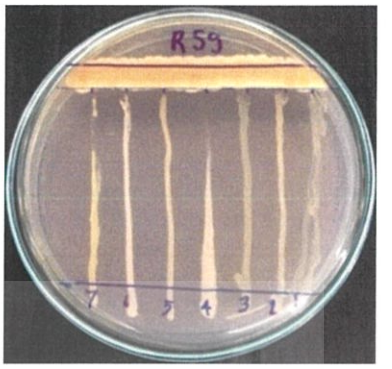
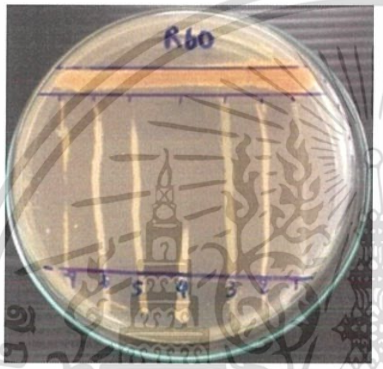
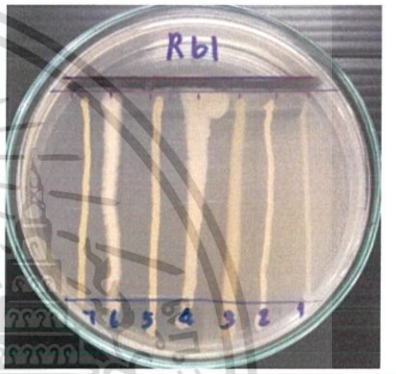
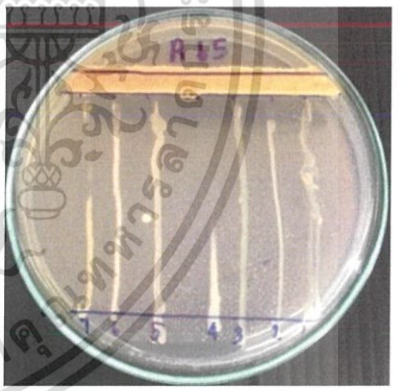
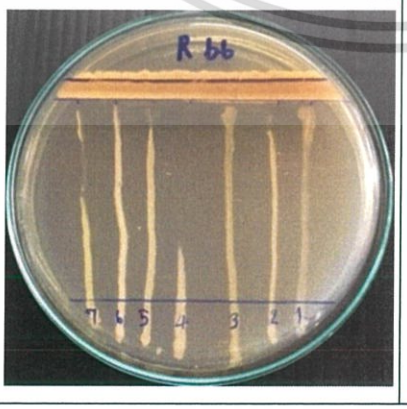
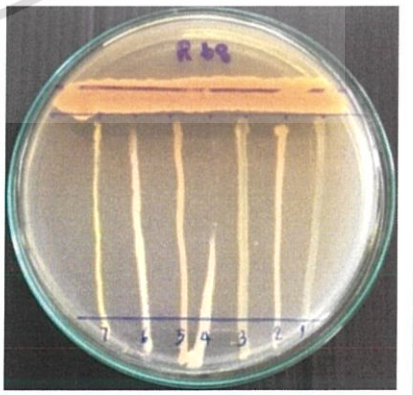
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ง6 แสดงฤทธิ์เบื้องต้นของเอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีทที่แยกได้จากกระเทียม (ต่อ)

รหัสเชื้อ	ผลการทดสอบ	รหัสเชื้อ	ผลการทดสอบ
R50		R51	
R52		R53	
R54		R55	
R56		R57	

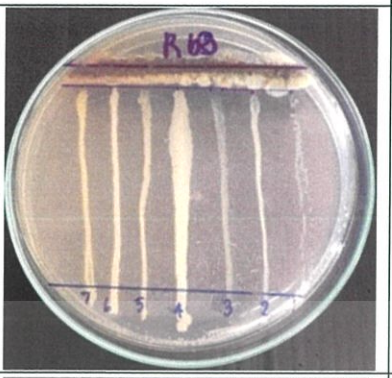
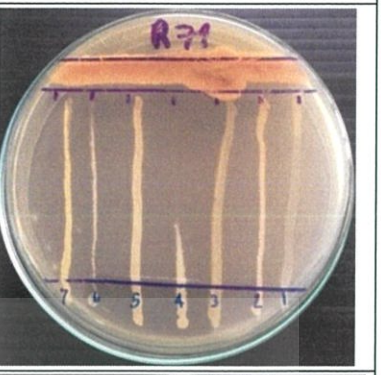
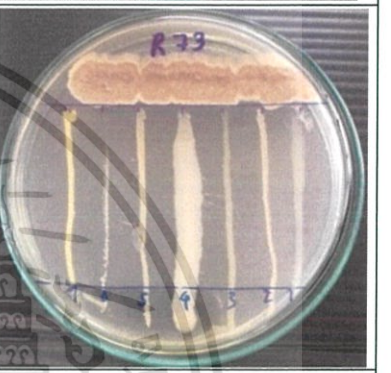
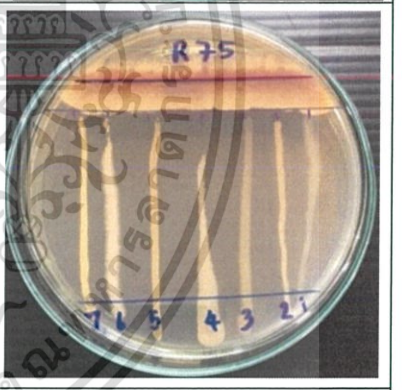
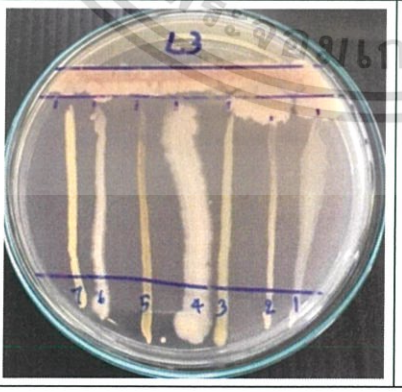
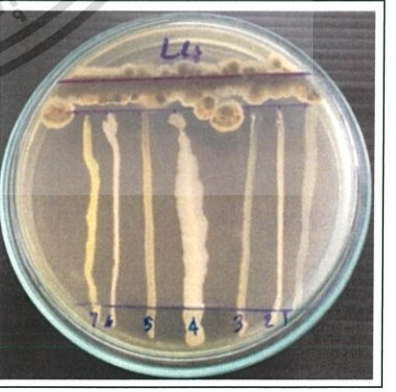
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ง6 แสดงฤทธิ์เบื้องต้นของเอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีทที่แยกได้จากกระเทียม (ต่อ)

รหัสเชื้อ	ผลการทดสอบ	รหัสเชื้อ	ผลการทดสอบ
R58		R59	
R60		R61	
R63		R65	
R66		R68	

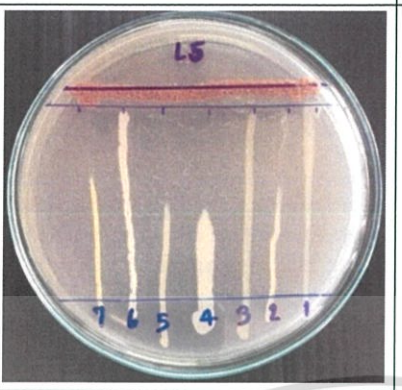
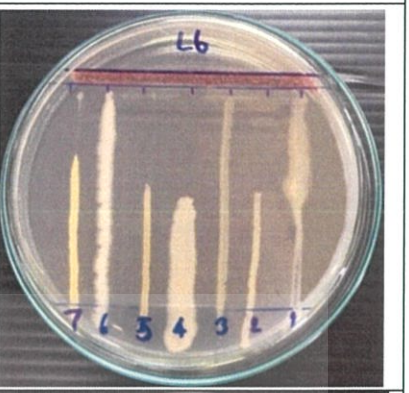
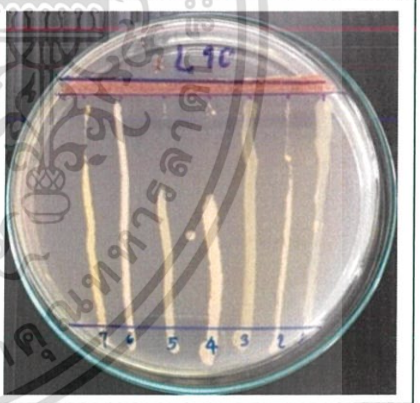
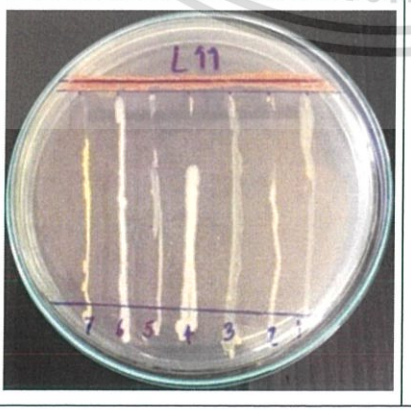
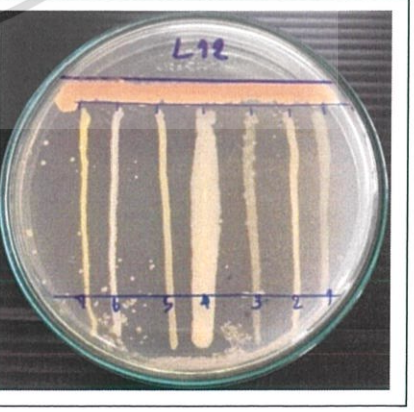
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ง6 แสดงฤทธิ์เบื้องต้นของเอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีทที่แยกได้จากกระเทียม (ต่อ)

รหัสเชื้อ	ผลการทดสอบ	รหัสเชื้อ	ผลการทดสอบ
R69		R71	
R72		R73	
R74		R75	
L3		L4	

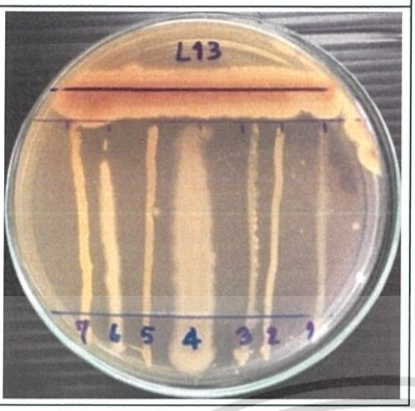
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ง6 แสดงฤทธิ์เบื้องต้นของเอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีทที่แยกได้จากกระเทียม (ต่อ)

รหัสเชื้อ	ผลการทดสอบ	รหัสเชื้อ	ผลการทดสอบ
L5		L6	
L7		L8	
L9		L10	
L11		L12	

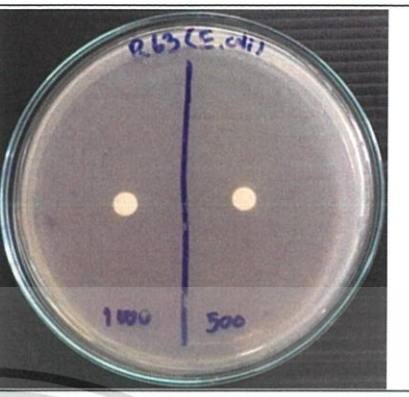
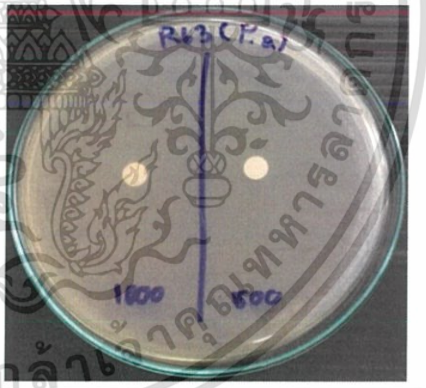
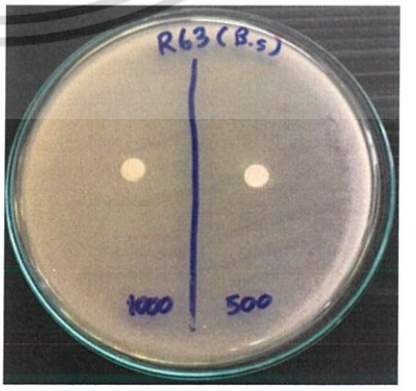
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ง6 แสดงฤทธิ์เบื้องต้นของเอนโดไฟติกแอคติโนมัยสีทที่แยกได้จากกระเทียม (ต่อ)

รหัสเชื้อ	ผลการทดสอบ
L13	

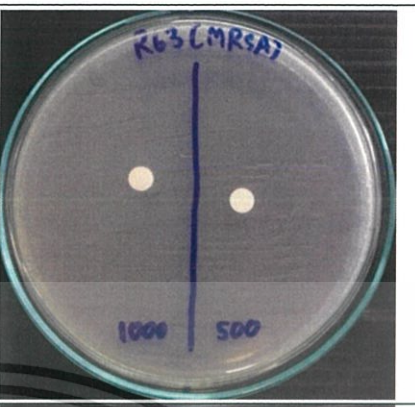
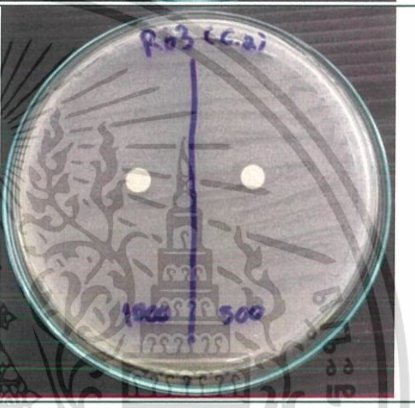
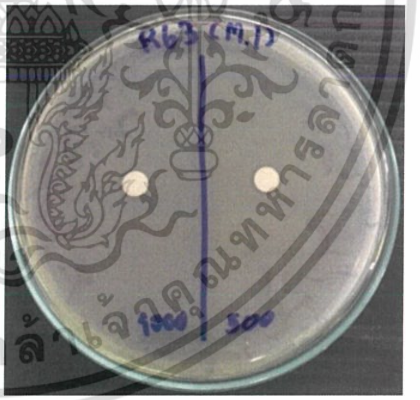
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ง7 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์โดยวิธี Agar disc diffusion ของไอโซเลท R63

รหัสเชื้อ	เชื้อทดสอบ	ที่ความเข้มข้น 1000 และ 500µg/ml
R63	*E. coli*	
	S. aureus	
	P. aeruginosa	
	B. subtilis	

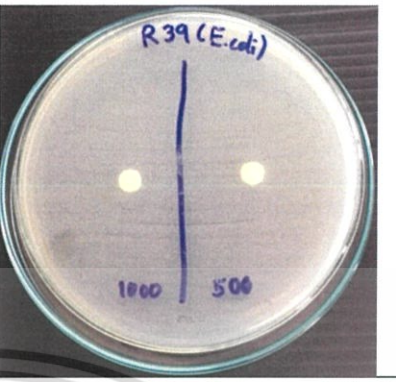
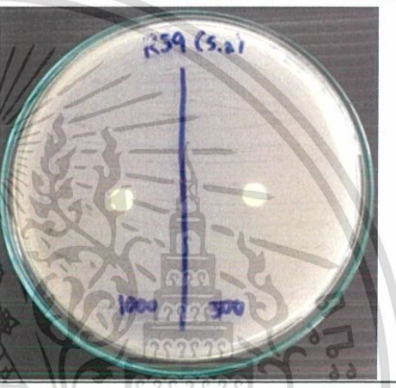
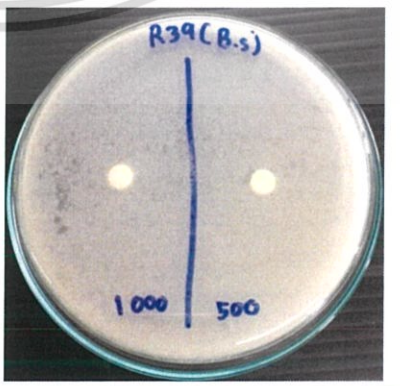
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ง7 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์โดยวิธี Agar disc diffusion ของไอโซเลท R63 (ต่อ)

รหัสเชื้อ	เชื้อทดสอบ	ที่ความเข้มข้น 1000 และ500µg/ml
R63	MRSA	
	C. albicans	
	M. luteus	

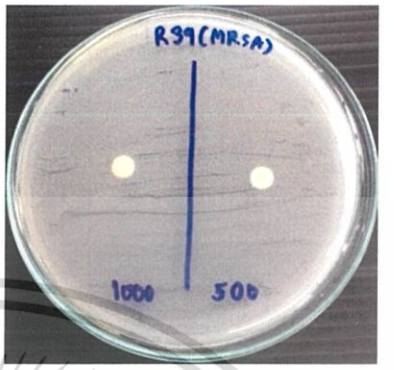
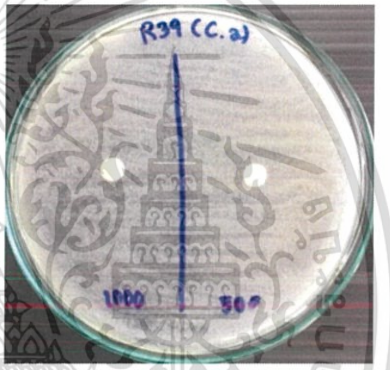
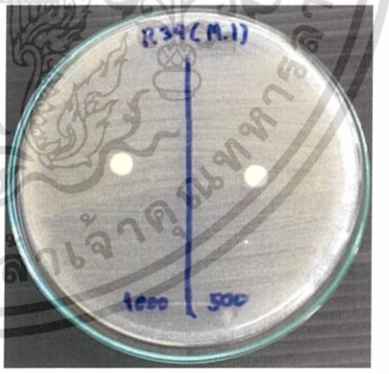
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ง7 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์โดยวิธี Agar disc diffusion ของไอโซเลท R39

รหัสเชื้อ	เชื้อทดสอบ	ที่ความเข้มข้น 1000 และ 500µg/ml
R39	*E. coli*	
	S. aureus	
	P. aeruginosa	
	B. subtilis	

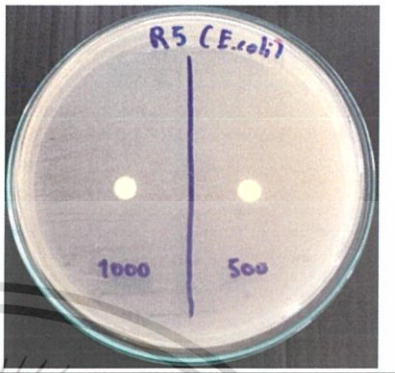
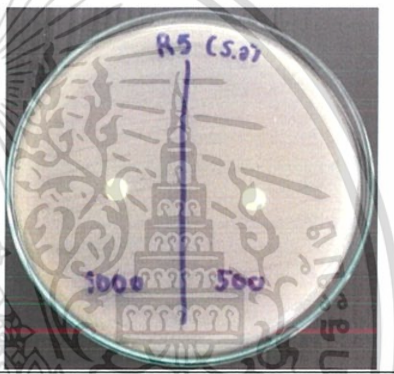
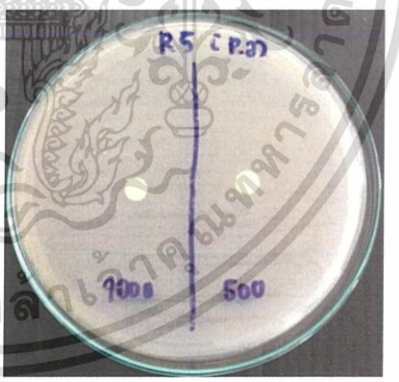
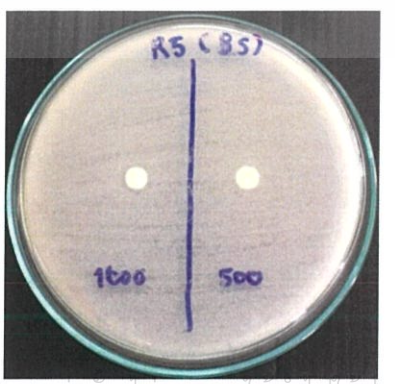
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ง7 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์โดยวิธี Agar disc diffusion ของไอโซเลท R39 (ต่อ)

รหัสเชื้อ	เชื้อทดสอบ	ที่ความเข้มข้น 1000 และ500µg/ml
R39	MRSA	
	C. albicans	
	M. luteus	

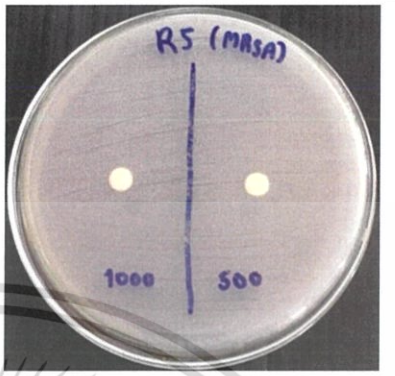
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ง7 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์โดยวิธี Agar disc diffusion ของไอโซเลท R5

รหัสเชื้อ	เชื้อทดสอบ	ที่ความเข้มข้น 1000 และ 500µg/ml
R5	*E. coli*	
	S. aureus	
	P. aeruginosa	
	B. subtilis	

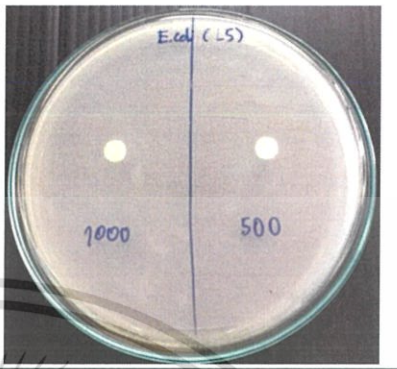
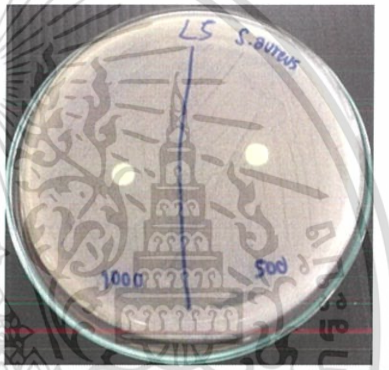
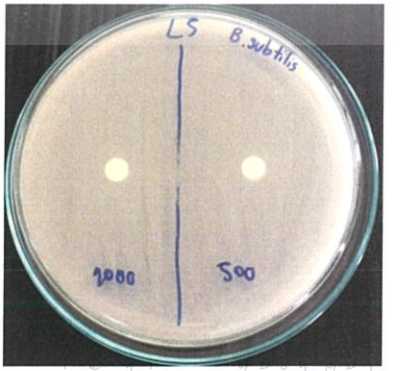
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ง7 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์โดยวิธี Agar disc diffusion ของไอโซเลท R5 (ต่อ)

รหัสเชื้อ	เชื้อทดสอบ	ที่ความเข้มข้น 1000 และ500µg/ml
R5	MRSA	
	C. albicans	
	M. luteus	

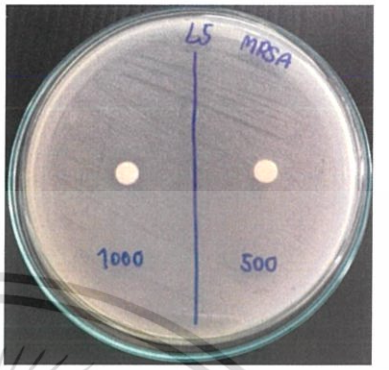
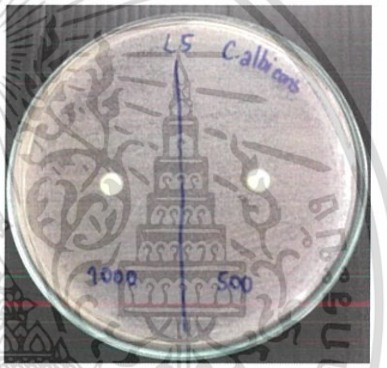
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ง7 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์โดยวิธี Agar disc diffusion ของไอโซเลท L5

รหัสเชื้อ	เชื้อทดสอบ	ที่ความเข้มข้น 1000 และ 500µg/ml
L5	*E. coli*	
	S. aureus	
	P. aeruginosa	
	B. subtilis	

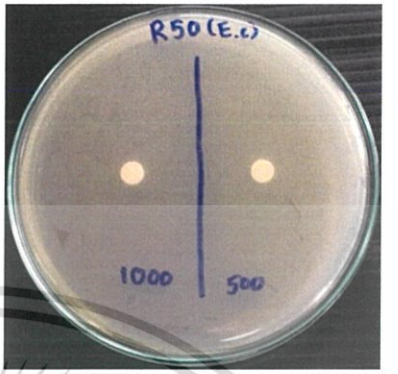
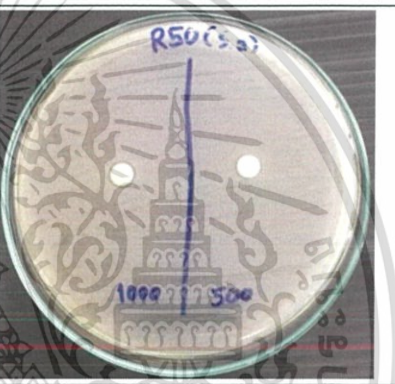
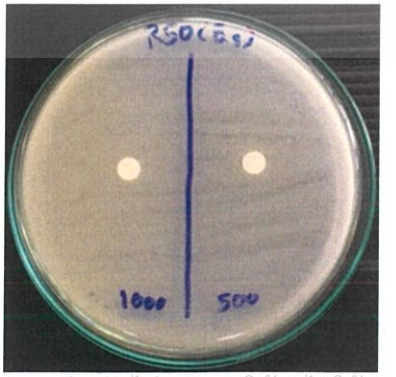
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ง7 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์โดยวิธี Agar disc diffusion ของไอโซเลท L5 (ต่อ)

รหัสเชื้อ	เชื้อทดสอบ	ที่ความเข้มข้น 1000 และ500µg/ml
L5	MRSA	
	C. albicans	
	M. luteus	

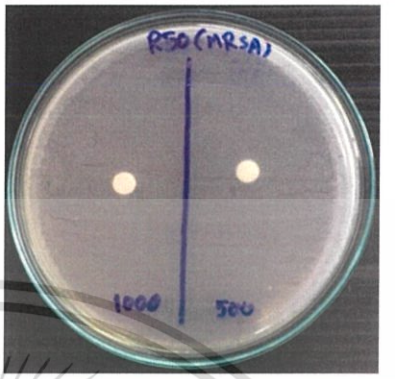
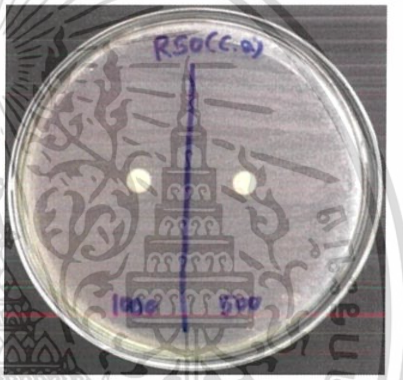
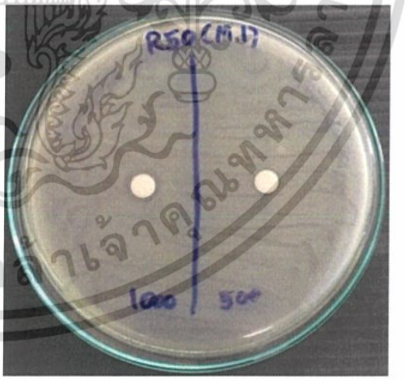
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ง7 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์โดยวิธี Agar disc diffusion ของไอโซเลท R50

รหัสเชื้อ	เชื้อทดสอบ	ที่ความเข้มข้น 1000 และ 500µg/ml
R50	*E. coli*	
	S. aureus	
	P. aeruginosa	
	B. subtilis	

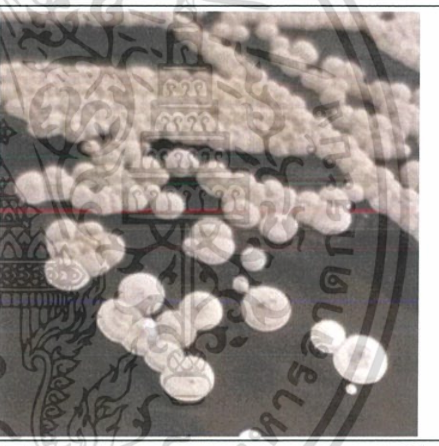
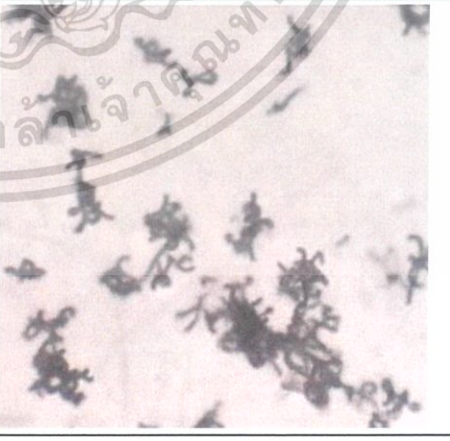
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ง7 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์โดยวิธี Agar disc diffusion ของไอโซเลท R50 (ต่อ)

รหัสเชื้อ	เชื้อทดสอบ	ที่ความเข้มข้น 1000 และ500µg/ml
R50	MRSA	
	C. albicans	
	M. luteus	

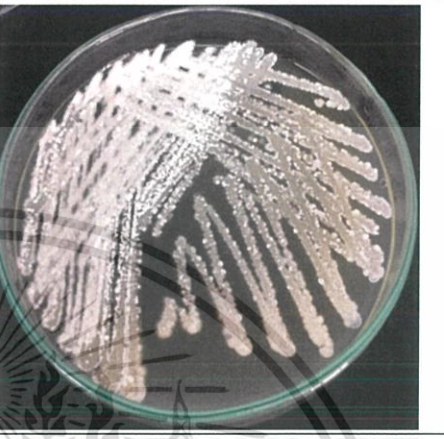
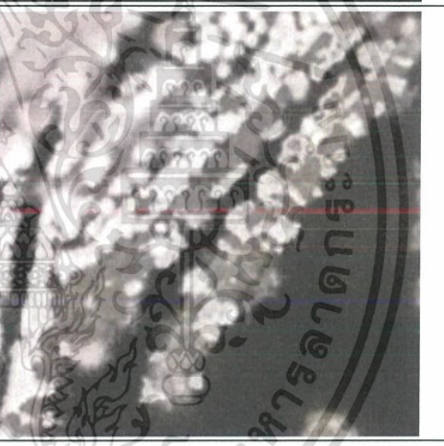
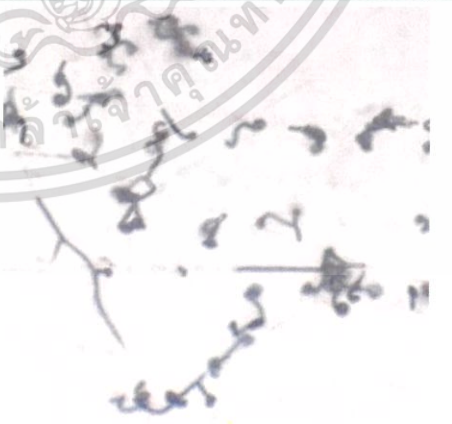
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ง8 แสดงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อแอคติโนมัยสีทที่แยกได้จากกระเทียม กลุ่มไม่มีฤทธิ์

รหัสเชื้อ	ลักษณะทางสัณฐานวิทยา	ภาพแสดงลักษณะทางสัณฐานวิทยา
R1	เส้นใยอาหารสี Moderate yellow	
	เส้นใยอากาศสี Bluish gray	
	เส้นใยมีลักษณะสั้น โค้งงอเล็กน้อยและอยู่เป็นกระจุก	

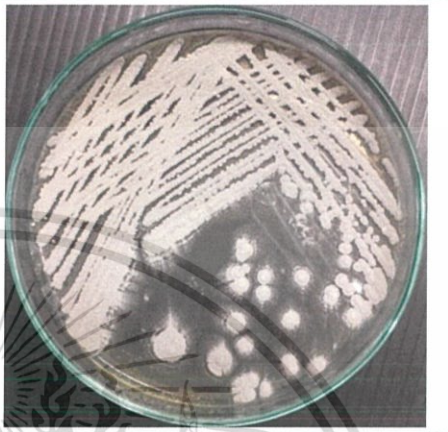
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ง8 แสดงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อแอคติโนมัยสีทที่แยกได้จากกระเทียม กลุ่มไม่มีฤทธิ์ (ต่อ)

รหัสเชื้อ	ลักษณะทางสัณฐานวิทยา	ภาพแสดงลักษณะทางสัณฐานวิทยา
R16	เส้นใยอาหารสี Moderate orange yellow	
	เส้นใยอากาศสี Grayish blue	
	เส้นใยมีลักษณะเป็นเส้นตรงปลายบิดเกลียวและมีการแตกแขนง	

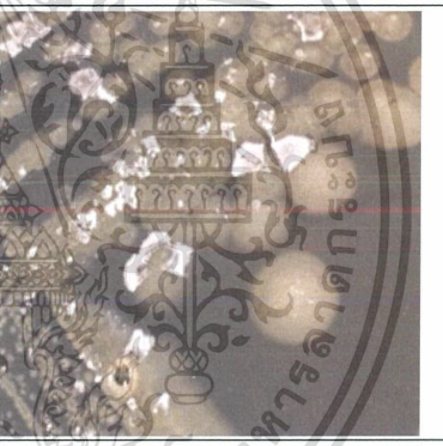
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ง8 แสดงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อแอคติโนมัยสีทที่แยกได้จากกระเทียม กลุ่มไม่มีฤทธิ์ (ต่อ)

รหัสเชื้อ	ลักษณะทางสัณฐานวิทยา	ภาพแสดงลักษณะทางสัณฐานวิทยา
R69	เส้นใยอาหารสี Grayish olive green	
	เส้นใยอากาศสี Pale blue	
	เส้นใยมีลักษณะบิดเป็นเกลียวและมีการแตกแขนง	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ง8 แสดงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อแอคติโนมัยสีทที่แยกได้จากกระเทียม กลุ่มไม่มีฤทธิ์ (ต่อ)

รหัสเชื้อ	ลักษณะทางสัณฐานวิทยา	ภาพแสดงลักษณะทางสัณฐานวิทยา
R73	เส้นใยอาหารสี Strong yellow	
	เส้นใยอากาศสี Light bluish gray	
	เส้นใยมีลักษณะปลายเส้นบิดเกลียวและมีการแตกแขนง	

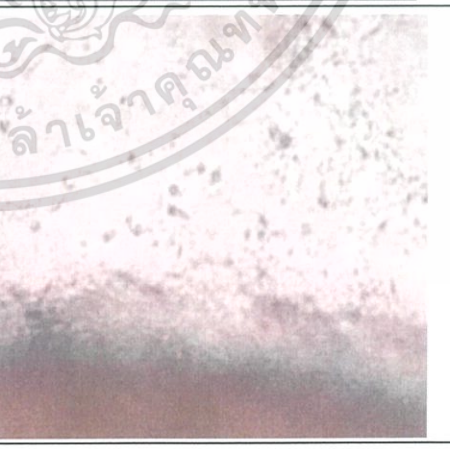
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ง8 แสดงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อแอคติโนมัยสีทที่แยกได้จากกระเทียม กลุ่มไม่มีฤทธิ์ (ต่อ)

รหัสเชื้อ	ลักษณะทางสัณฐานวิทยา	ภาพแสดงลักษณะทางสัณฐานวิทยา
R74	เส้นใยอาหารสี Moderate brown	
	เส้นใยอากาศสี Pale purplish blue	
	เส้นใยมีลักษณะปลายบิดเกลียวและมีการแตกแขนง	

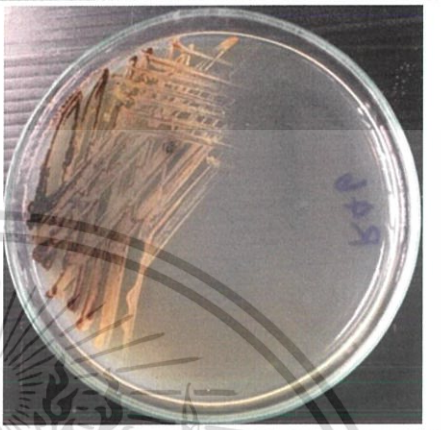
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ง8 แสดงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อแอคติโนมัยสีทที่แยกได้จากกระเทียม กลุ่มไม่มีฤทธิ์ (ต่อ)

รหัสเชื้อ	ลักษณะทางสัณฐานวิทยา	ภาพแสดงลักษณะทางสัณฐานวิทยา
R18	เส้นใยอาหารสี Brilliant orange	
	ไม่พบการสร้างเส้นใยอากาศ	
	ไม่พบการสร้างสปอร์	

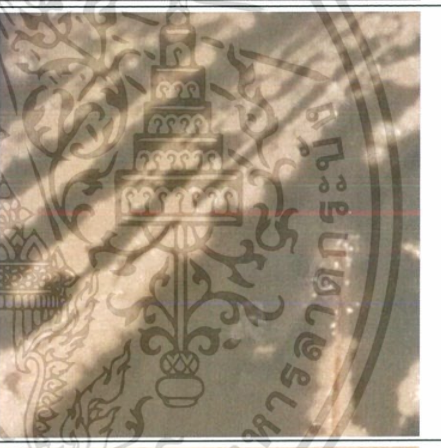
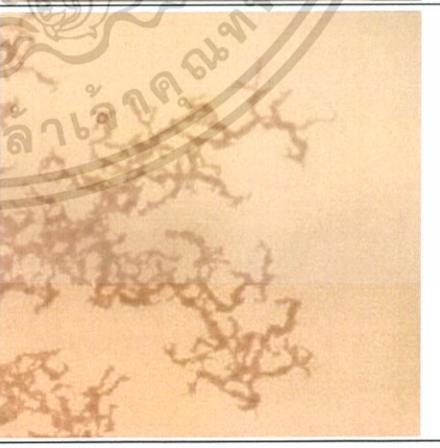
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ง8 แสดงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อแอคติโนมัยสีทที่แยกได้จากกระเทียม กลุ่มไม่มีฤทธิ์ (ต่อ)

รหัสเชื้อ	ลักษณะทางสัณฐานวิทยา	ภาพแสดงลักษณะทางสัณฐานวิทยา
R46	เส้นใยอาหารสี Dark grayish olive green	
	ไม่พบการสร้างเส้นใยอากาศ	
	ไม่พบการสร้างสปอร์	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ง8 แสดงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อแอคติโนมัยสีทที่แยกได้จากกระเทียม กลุ่มไม่มีฤทธิ์ (ต่อ)

รหัสเชื้อ	ลักษณะทางสัณฐานวิทยา	ภาพแสดงลักษณะทางสัณฐานวิทยา
L3	เส้นใยอาหารสี Pale yellowish pink	
	ไม่พบการสร้างเส้นใยอากาศ	
	ไม่พบการสร้างสปอร์	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้