

การคัดเลือกเชื้อราเอนโดไฟท์จากต้นกระมอที่มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียเบื้องต้น

SCREENING ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF ENDOPHYTIC FUNGI
FROM *Gardenia obtusifolia* Roxb



โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา
วิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานปีการศึกษา 2565 อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

SCREENING ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF ENDOPHYTIC FUNGI
FROM *Gardenia obtusifolia* Roxb



A SPECIAL PROJECT EDUCATION SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENT FOR
THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE (Industrial Microbiology)
DEPARTMENT OF BIOLOGY, SCHOOL OF SCIENCE
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้ **ACADEMIC YEAR 2022** ภาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงการพิเศษ

การคัดเลือกเชื้อราเอนโดไฟท์จากต้นกระมอบที่มีฤทธิ์ต้าน
แบคทีเรียเบื้องต้น

Screening Antibacterial Activity of Endophytic Fungi from
Gardenia obtusifolia Roxb

ชื่อนักศึกษา

นางสาว กิตติญาภรณ์ ยิ้มเขียว รหัสนักศึกษา 62050570

นางสาว นุรฮัดดีน เบ็ญซอและ รหัสนักศึกษา 62050616

ปริญญา

วิทยาศาสตร์บัณฑิต หลักสูตรปกติ

ภาควิชา

ชีววิทยา

ปีการศึกษา

2565

อาจารย์ที่ปรึกษา

ดร.นฤมล ตั้งธีระสุนันท์

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) อนุมัติให้
โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต หลักสูตรปกติ
ประจำปีการศึกษา 2565

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
รศ.ดร.สุพัตรา โพธิ์เอี่ยม ประธานกรรมการ	
ผศ.ดร.สมพิศ สอนโยธา กรรมการ	
ดร.นฤมล ตั้งธีระสุนันท์ กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา	

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงการพิเศษ	การคัดเลือกเชื้อราเอนโดไฟต์จากต้นกระมอบที่มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียเบื้องต้น
ชื่อนักศึกษา	นางสาวกิตติญาภรณ์ ยิ้มเขียว รหัสนักศึกษา 62050570 นางสาวนุร่อดนิน เบ็ญชอและ รหัสนักศึกษา 62050616
ปริญญา	วิทยาศาสตร์บัณฑิต หลักสูตรปกติ
ภาควิชา	ชีววิทยา
ปีการศึกษา	2565
อาจารย์ที่ปรึกษา	ดร. นฤมล ตั้งธีระสุนันท์

บทคัดย่อ

ศึกษาการเจริญเติบโตและลักษณะทางสัณฐานวิทยา (Morphology) เบื้องต้นของเชื้อราเอนโดไฟต์ จากต้นกระมอบทั้งหมด 21 ไอโซเลท (Isolate) ได้เปรียบเทียบการเจริญเติบโตของเชื้อราเอนโดไฟต์จากต้นกระมอบแต่ละไอโซเลทบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato dextrose agar (PDA) พบว่าเชื้อราไอโซเลท 22-010 มีค่าเฉลี่ยการเจริญเติบโตเฉลี่ยสูงสุด (54.82 ± 2.28 มิลลิเมตร) และได้ศึกษาฤทธิ์ต้านแบคทีเรียเบื้องต้นของเชื้อราเอนโดไฟต์ทั้งหมด 21 ไอโซเลท โดยวิธี Agar plug diffusion กับเชื้อแบคทีเรีย 6 ชนิด (Stain) คือ *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Micrococcus luteus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* และ *S. epidermidis* พบว่าเชื้อราเอนโดไฟต์จากต้นกระมอบมี 6 ไอโซเลทที่มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย คือ 22-013, 22-015, 22-017, 22-019, 22-020 และ 22-022 จากการศึกษาชี้ให้เห็นว่าเชื้อราเอนโดไฟต์ที่แยกได้จากต้นกระมอบมีความหลากหลายของสายพันธุ์ รวมทั้งเชื้อราที่แยกได้มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียเบื้องต้นมีความเหมาะสมใช้ในการศึกษาสารออกฤทธิ์ต้านแบคทีเรียชนิดใหม่ต่อไป

คำสำคัญ : ราเอนโดไฟต์ ฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย

Title	Screening Antibacterial Activity of Endophytic Fungi from <i>Gardenia obtusifolia</i> Roxb
Student	Kittiyaporn Yimkhaew Student ID 62050570 Nuradnin Bensoleh Student ID 62050616
Degree	Bachelor of Science (Biotechnology)
Department	Biology
Academic Year	2022
Advisor	Dr. Narumon Tangthirasunun

ABSTRACT

Study on growth and basic morphology of endophytic fungi. From a total of 21 isolates, the growth of endophytic fungi from each isolate was compared on agar medium Potato dextrose agar (PDA) showed that 22-010 isolates has highest of mean growth (54.82+2.28 mm) and the initial antibacterial activity of 21 isolates of endophytic fungi was studied by Agar plug diffusion method with against six bacterias: *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Micrococcus luteus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* and *S. epidermidis*. That six isolates of endophytic fungi from *Gardenia obtusifolia* Roxb with antibacterial activity were 22-013, 22-015, 22-017, 22-019, 22-020 and 22-022. The fungal isolates from the plant were species diverse. The fungal isolates exhibited primary antibacterial activity and therefore were suitable for further studies of new antibacterial active compounds.

Keywords: endophytic fungi, antibacterial activity

กิตติกรรมประกาศ

โครงการพิเศษฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี เนื่องมาจากความกรุณา และความร่วมมือของทุก ๆ ท่าน ขอขอบพระคุณ ดร.นฤมล ตั้งธีระสุนันท์ และ รศ.ดร.สุพัตรา โพธิ์เอี่ยม ที่คอยให้คำปรึกษาดูแลให้ความช่วยเหลือแนะนำแนวทางที่ดี เพื่อปรับปรุงข้อบกพร่องในการจัดทำโครงการพิเศษนี้ และให้ความอนุเคราะห์ในการใช้อุปกรณ์และเครื่องมือที่จำเป็นต่อโครงการพิเศษนี้

ขอขอบพระคุณ ดร.นฤมล ตั้งธีระสุนันท์ ที่ให้ความอนุเคราะห์ตัวอย่างเชื้อราต้นกระมอบ เพื่อนำมาใช้ประโยชน์ในโครงการพิเศษนี้ ขอขอบพระคุณห้องปฏิบัติการชีววิทยา อาคารพระจอมเกล้า คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่ให้ความอนุเคราะห์เชื้อแบคทีเรียก่อโรค เพื่อนำมาใช้ประโยชน์ในโครงการพิเศษนี้

ขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการชีววิทยา และพี่ ๆ นักวิทยาศาสตร์ ที่ให้ความสะดวกในการเบิกใช้อุปกรณ์เครื่องมือและสารเคมี รวมทั้งชี้แนะวิธีการใช้อย่างถูกต้อง

ขอขอบพระคุณพี่ ๆ นักศึกษาปริญญาโท สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ ภายใต้การดูแลของ รศ.ดร.สุพัตรา โพธิ์เอี่ยม และ ดร.นฤมล ตั้งธีระสุนันท์ ที่แนะนำแนวทางในการทำโครงการพิเศษฉบับนี้ รวมทั้งแนะนำวิธีการใช้อุปกรณ์เครื่องมือ และสารเคมีอย่างถูกต้อง

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณบุพการีของพวกเรา ผู้ที่คอยให้คำปรึกษา พร้อมทั้งเป็นกำลังใจเป็นแรงผลักดันในการจัดทำโครงการพิเศษนี้มาโดยตลอดจนสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

กิตติญาณภรณ์ ยิ้มเขียว
นุรอัสนิน เบ็ญชอและ

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	ฉ
สารบัญรูป	ช
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ	1
1.2 วัตถุประสงค์	1
1.3 ขอบเขต	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	3
2.1 เชื้อราเอนโดไฟต์	3
2.2 ลักษณะทั่วไปของราเอนโดไฟต์	4
2.3 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา	6
2.4 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา	9
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย	13
3.1 ตัวอย่างเชื้อราและเชื้อแบคทีเรีย	13
3.2 อุปกรณ์	13
3.3 อาหารเลี้ยงเชื้อ	14
3.4 สารเคมี	15
3.5 การเพาะเลี้ยงเชื้อราเอนโดไฟต์	15
3.6 การศึกษาการเจริญเติบโต และการสังเกตลักษณะทางสัณฐานวิทยาเบื้องต้น	15
3.7 การตรวจสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียเบื้องต้นโดย Agar plug method	15
บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล	17
4.1 การตรวจสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียเบื้องต้นของเชื้อราเอนโดไฟต์จากต้นกระมอ โดยวิธี Agar plug diffusion method	17
4.2 การเจริญเติบโตของเชื้อราเอนโดไฟต์จากต้นกระมอบนอาหาร Potato dextrose agar (PDA)	30

สารบัญ (ต่อ)

บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	36
5.1 สรุปผลวิจัย	36
5.2 ข้อเสนอแนะ	36
เอกสารอ้างอิง	37
ภาคผนวก	38



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
4.1 แสดงการเจริญเติบโตของเชื้อราเอนโดไฟต์จากต้นกระมอบบนอาหาร Potato dextrose agar (PDA)	18



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
2.1 ลักษณะการเจริญของราเอนโดไฟท์ (Neotyphodium coenophialum) ในเนื้อเยื่อใบของหญ้า tall fescue (Festuca arundinacea)	3
2.2 วงจรชีวิตของเชื้อรา	5
2.3 ลักษณะเส้นใยของเชื้อราแบบไม่มีผนังกันและแบบมีผนังกัน	6
2.4 แสดงรูปร่างของฟรุตติงบอดีหรือแอสโคคาร์ปที่สืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ	7
2.5 แสดงรูปร่างของฟรุตติงบอดีหรือแอสโคคาร์ปที่สืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ	7
2.6 แสดงลักษณะรูปร่างของสปอร์หรือโคนิเดีย	8
2.7 แสดงลักษณะพื้นผิวของสปอร์หรือโคนิเดีย	8
2.8 แสดงลักษณะรูปแบบของโคโลนี (Colony)	9
2.9 รูปที่ 2.10 การตรวจสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย (Antibacterial) โดย Agar plug method บนอาหาร PDA	12
4.1 อัตราการเจริญเติบโตของเชื้อราเอนโดไฟท์บนอาหาร PDA วันที่ 4	19
4.2 แสดงลักษณะเชื้อราไอโซเลท SP22-010	20
4.3 แสดงลักษณะเชื้อราไอโซเลท SP22-012	20
4.4 แสดงลักษณะเชื้อราไอโซเลท SP22-013	21
4.5 แสดงลักษณะเชื้อราไอโซเลท SP22-014	21
4.6 แสดงลักษณะเชื้อราไอโซเลท SP22-015	22
4.7 แสดงลักษณะเชื้อราไอโซเลท SP22-016	22
4.8 แสดงลักษณะเชื้อราไอโซเลท SP22-017	23
4.9 แสดงลักษณะเชื้อราไอโซเลท SP22-019	23
4.10 แสดงลักษณะเชื้อราไอโซเลท SP22-020	24
4.11 แสดงลักษณะเชื้อราไอโซเลท SP22-022	24
4.12 แสดงลักษณะเชื้อราไอโซเลท SP22-023	25
4.13 แสดงลักษณะเชื้อราไอโซเลท SP22-024	25
4.14 แสดงลักษณะเชื้อราไอโซเลท SP22-025	26
4.15 แสดงลักษณะเชื้อราไอโซเลท SP22-026	26
4.16 แสดงลักษณะเชื้อราไอโซเลท SP22-027	27
4.17 แสดงลักษณะเชื้อราไอโซเลท SP22-028	27
4.18 แสดงลักษณะเชื้อราไอโซเลท SP22-029	28
4.19 แสดงลักษณะเชื้อราไอโซเลท SP22-031	28

สารบัญรูป (ต่อ)

4.20 แสดงลักษณะเชื้อราไอโซเลท SP22-032	29
4.21 แสดงลักษณะเชื้อราไอโซเลท SP22-035	29
4.22 แสดงลักษณะเชื้อราไอโซเลท SP22-037	30
4.23 อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยของเชื้อราเอนโดไฟต์บนอาหาร PDA วันที่ 4	31
4.24 การตรวจสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียเบื้องต้นของตัวควบคุมชีวภาพ โดยมียา Gentamicin เป็นตัวควบคุมการต้านแบคทีเรียโดยมีกลุ่มแบคทีเรียทดสอบ 6 ชนิด	32
4.25 ตัวอย่างกลุ่มที่ไม่มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียกับเชื้อแบคทีเรีย 6 ชนิด ของราเอนโดไฟต์จากต้นกระมอปปไอโซเลท 22-013 บนอาหาร PDA	32
4.26 ตัวอย่างกลุ่มที่ไม่มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียกับเชื้อแบคทีเรีย 6 ชนิด ของราเอนโดไฟต์จากต้นกระมอปปไอโซเลท 22-015 บนอาหาร PDA	33
4.27 การตรวจสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียเบื้องต้นของราเอนโดไฟต์จาก ต้นกระมอปปไอโซเลท 22-017 บนอาหาร PDA	33
4.28 การตรวจสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียเบื้องต้นของราเอนโดไฟต์จาก ต้นกระมอปปไอโซเลท 22-019 บนอาหาร PDA	34
4.29 การตรวจสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียเบื้องต้นของราเอนโดไฟต์จาก ต้นกระมอปปไอโซเลท 22-020 บนอาหาร PDA	34
4.30 การตรวจสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียเบื้องต้นของราเอนโดไฟต์จาก ต้นกระมอปปไอโซเลท 22-022 บนอาหาร PDA	35
4.31 ตัวอย่างกลุ่มที่ไม่มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียกับเชื้อแบคทีเรีย 6 ชนิด ของราเอนโดไฟต์จากต้นกระมอปปไอโซเลท 22-016 บนอาหาร PDA	35

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ราเอนโดไฟต์ (Endophytic fungi) เป็นจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ในเนื้อเยื่อพืช โดยไม่ทำอันตรายหรือส่งผลเสียแก่พืช และสามารถพบได้ทุกส่วนของพืช การอยู่ร่วมกันของพืช และ ราเอนโดไฟต์ได้ประโยชน์ร่วมกัน โดยที่พืชจะให้สารอาหารแก่ราเอนโดไฟต์ และ ราเอนโดไฟต์ช่วยป้องกันพืชจากจุลินทรีย์ก่อโรค มีการศึกษาวิจัยจำนวนมาก เพื่อนำราเอนโดไฟต์มาใช้ประโยชน์ในการควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี โดยการศึกษาดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าราเอนโดไฟต์ช่วยส่งเสริมการเจริญของพืช และ ป้องกันอันตรายจากแบคทีเรีย และ ราก่อโรค เช่น รายงานของ (Ilyas, 2015) พบว่าราเอนโดไฟต์ *Colletotrichum* sp. C1DP-12 ที่ แยกได้จากพืชสกุลอบเชย สร้างสารออกฤทธิ์ยับยั้ง *Staphylococcus aureus* ได้เช่นเดียวกับ (Qin, 2009) พบว่าสาร Chaetomugilin A และ D ที่สร้างโดยราเอนโดไฟต์ *Chaetomium globosum* ที่แยกได้จากใบแปะก๊วย สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา และ แบคทีเรียบางชนิดได้

กระมอบ (*Gardenia obtusifolia* Roxb. ex Kurz.) จัดอยู่ในแฟมิลี RUBIACEAE เป็นพืชธรรมชาติ เกิดขึ้นทั่วไปตามป่าเต็งรัง และ ป่าเบญจพรรณที่แห้งแล้ง มีลักษณะไม้พุ่มกึ่งไม้ต้นหรือไม้ต้นขนาดเล็ก สูง 2-8 เมตร ผลัดใบขณะออกดอก ลำต้นแคระแกร็น ยอดอ่อนนิ่ม มีขนเหนียวสีเขียวอมเหลือง ใบเดี่ยว เรียงตรงข้ามสลับตั้งฉาก เป็นกลุ่มตามปลายกิ่ง รูปไข่กลับ มี 2-4 คู่ ปลายมนกว้าง โคนสอบมน เว้าเล็กน้อยตรงรอยต่อก้านใบ ขอบเรียบ หูใบระหว่างก้านใบติดกันเป็นหลอดสั้นๆ ใบอ่อนมีคราบของขนเหนียวติดค้างอยู่ตามผิวใบจนเป็นมัน ดอกใหญ่ ออกเดี่ยวๆ ที่ปลายกิ่ง สีขาวแล้วเปลี่ยนเป็นสีเหลืองอ่อน เนื้อไม้มีความขาวละเอียด จึงนิยมใช้แกะสลักได้ และยังมีสรรพคุณทางยาอีกด้วยโดย ผลของลูกกระมอบช่วยบำรุงสมอง ราก และเปลือกของลำต้นช่วยบรรเทาอาการบิดและนิยมนำลำต้นมาอย่างไฟต้มน้ำดื่มเป็นยาเจริญอาหาร ดังนั้นการคัดเลือกราเอนโดไฟต์ที่ผลิตสารยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคจากต้นกระมอบ จึงน่าจะเป็นอีกแนวทางหนึ่งในการค้นพบสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพชนิดใหม่ ๆ ที่มีประโยชน์ต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1.2.1 เพื่อเพาะเลี้ยงเชื้อราเอนโดไฟต์จากต้นกระมอบจังหวัดสุพรรณบุรี

1.2.2 เพื่อคัดเลือกราเอนโดไฟต์จากต้นกระมอบที่มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียโดยวิธี Agar plug diffusion

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

เพาะเลี้ยงเชื้อราเอนโดไฟต์ที่ได้รับความอนุเคราะห์จาก ดร.นฤมล ตั้งธีระสุนันท์ พร้อมทั้งศึกษาอัตราการเจริญเติบโตและศึกษาฤทธิ์ต้านแบคทีเรียเบื้องต้นของเชื้อราเอนโดไฟต์โดยวิธี Agar plug diffusion

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ทราบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียเบื้องต้นของเชื้อราเอนโดไฟต์ จากต้นกระมอบได้ ที่อาจมีประโยชน์ทางด้านการแพทย์ การเกษตรและอุตสาหกรรมต่อไป



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 เชื้อราเอนโดไฟต์ (Endophytic fungi)

เอนโดไฟต์ (Endophyte) มาจากคำว่า Endo หมายความว่าข้างใน และ คำว่า Phyte หมายถึงพืช ดังนั้นเอนโดไฟต์จึงหมายถึงสิ่งมีชีวิตที่อาศัยอยู่ในต้นพืช ส่วนราเอนโดไฟต์หมายถึงราที่มีช่วงชีวิตหนึ่งหรือตลอดทั้งชีวิตอาศัยอยู่ในเนื้อเยื่อพืชโดยไม่ก่อให้เกิดโรคในพืช ราเอนโดไฟต์อาศัยอยู่ในเนื้อเยื่อพืชทั้งพืชบก และ พืชน้ำ ซึ่งอาจจะอาศัยอยู่ในส่วนราก ลำต้น กิ่งหรือใบ และ สามารถใช้ชีวิตร่วมกับพืชได้หลายรูปแบบ เช่น การอยู่ร่วมกันแบบเชื้อก่อโรคที่เป็นปฏิปักษ์ ราเอนโดไฟต์เป็นตัวควบคุมทางชีวภาพ และเป็นแหล่ง Metabolite บางชนิดสามารถผลิตสารในกลุ่มของสารปฏิชีวนะที่มีคุณสมบัติด้านการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรค เช่น ต้านเชื้อรา (Antifungal) และ ต้านแบคทีเรีย (Antibacterial) ที่ก่อโรคในคนสัตว์หรือพืช (อัจฉริยา, 2557)

ราเอนโดไฟต์ คือ เชื้อราที่อาศัยอยู่ในช่องว่าง ระหว่างเซลล์ของลำต้น ก้านใบ ราก และ ใบของพืชที่มีความสมบูรณ์ โดยไม่ก่อให้เกิดอาการของโรคใด ๆ กับพืชอาศัย โดยราเอนโดไฟต์สามารถพบได้ทุกส่วนของพืช เนื้อเยื่อของพืชที่มีราเอนโดไฟต์ยังสามารถทำงานได้อย่างปกติ โดยราเอนโดไฟต์อาจอาศัยอยู่ในภาวะเกื้อกูล (Mutuality) (Martinez-Klimov, 2017)



รูปที่ 2.1 ลักษณะการเจริญของราเอนโดไฟท์ (*Neotyphodium coenophialum*) ในเนื้อเยื่อใบของหญ้า Tall fescue (*Festuca arundinacea*)

(ที่มา: นิพนธ์ สนหอม วีระพงษ์ วรประโยชน์ และ กฤตพร รำจวนเกียรติ)

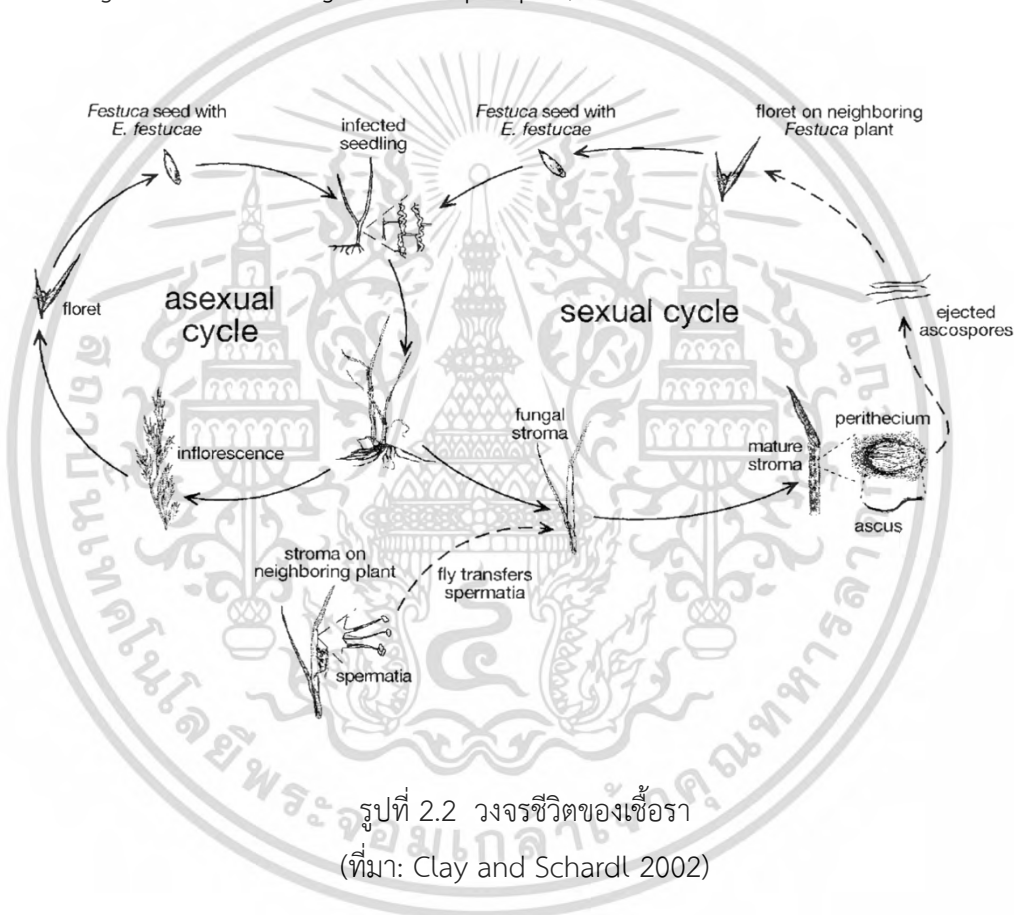
นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง โดยกล่าวว่าปัจจุบันมีผู้ให้ความสนใจศึกษาราเอนโดไฟต์ที่มีเอกสารนี้ศักยภาพในการควบคุมโรค และ แมลงศัตรูพืช จำนวนมาก เช่น ประเทศอินโดนีเซีย ศึกษาไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความสามารถของราเอนโดไฟต์ที่แยกได้จากข้าวมาบัยยังเชื้อ *Pyricularia oryzae* สาเหตุโรคไหม้ข้าว โดยพบเชื้อรา 2 สายพันธุ์คือ *Phialemonium curvatum* และ *Phaeosphaeriopsis musae* ซึ่งมีความสามารถยับยั้งเชื้อราได้ 66 และ 63.3 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (Suada, 2012) ในประเทศไทยมีการค้นพบราเอนโดไฟต์จากโสม *Talaromyces trachyspermus* *Phomopsis* sp. และ *Chaetomium globosum* ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งราสาเหตุโรคพืช 10 ชนิด ได้แก่ *Bipolaris maydis* *Alternaria alternate* *Collectotrichum* spp. *Fusarium oxysporum*, *Phytophthora palmivora* *Rhizoctonia solani* และ *Sclerotium rolfsii* (Chutima และ คณะ, 2557) และ ในปีเดียวกันนี้ได้มีการรายงานการแยกราเอนโดไฟต์จากใบของข้าวหอมกระดังงา และ ศึกษาการเป็นปฏิปักษ์ของราเอนโดไฟต์ ต่อเชื้อรา *Pyricularia grisea* สาเหตุโรคไหม้ของข้าว โดยแยกราเอนโดไฟต์จากใบข้าวได้ทั้งหมด 93 ไอโซเลท พบว่ามี 2 ไอโซเลท ที่ยับยั้งการเจริญของรา *P. grisea* ได้แก่ NHS021 และ NHS022 มีเปอร์เซ็นต์ การยับยั้งเท่ากับ 95.4 และ 91.5 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งเชื้อทั้งสองไอโซเลทจัดจำแนกภายหลังเป็น *Trichoderma* sp. (Saithong, 2557) มีการใช้ราเอนโดไฟต์จากโสมจีน ในการยับยั้งโรคที่เกิดกับโสมจีน (Park, 2015) นอกจากนี้ยังศึกษาประสิทธิภาพของราเอนโดไฟต์ต่อความรุนแรงของโรคไหม้ของข้าว (*Magnaporthe oryzae*) พบเชื้อ *Daldinia eschscholtzii* *Trichoderma harzianum* และ *Trichoderma* และ *Trichoderma ghanense* ที่มีศักยภาพในการควบคุมโรคไหม้ของข้าว (กานต์ และ อนันต์, 2559) เห็นได้ว่าราเอนโดไฟต์มีคุณสมบัติในการเป็นปฏิปักษ์ต่อราสาเหตุโรคพืช และสามารถนำมาใช้ควบคุมราสาเหตุโรคพืชได้เป็นอย่างดี

2.2 ลักษณะทั่วไปของราเอนโดไฟต์

ในระบบนิเวศวิทยา การอาศัยอยู่ร่วมกันระหว่างราเอนโดไฟต์ และ พืชเจ้าบ้าน (Host plant) อยู่ในลักษณะ ต่างพึ่งพาอาศัยกันแบบภาวะสมชีพ (Symbiosis) ความสัมพันธ์ระหว่างราเอนโดไฟต์กับพืชเจ้าบ้านจึงเป็นแบบภาวะพึ่งพากัน โดยที่ต่างฝ่ายต่างได้ประโยชน์ร่วมกัน พืชเจ้าบ้านที่มีราเอนโดไฟต์อาศัยอยู่นั้นจะให้สารอาหาร และ ที่อยู่อาศัยแก่ราเอนโดไฟต์ ส่วนราจะสร้างสารเมแทบอลิটที่สำคัญบางอย่างที่ช่วยปกป้องพืชเจ้าบ้านไม่ให้ได้รับอันตรายจากสิ่งแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม มีความทนทานต่อสภาวะแวดล้อมที่ดีขึ้น ราเป็นยูคาริโอตไม่มีคลอโรพิลล์ สามารถใช้สารอาหารได้หลายชนิด เช่น สารอนินทรีย์ ไนโตรเจน และ สารอินทรีย์ไนโตรเจนในการสร้างโปรตีน ราส่วนใหญ่เป็นพวกที่ต้องการอากาศ (Aerobe microorganism) อุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเจริญ คือ 22-30 องศาเซลเซียส ส่วนพวกที่ก่อให้เกิดโรคสามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิ 30-37 องศาเซลเซียส โดยมีการสืบพันธุ์ 2 แบบ คือ สืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ (Asexual reproduction) มีหลายแบบได้แก่ การแตกหักเป็นท่อนๆ (Fragmentation) เส้นใยจะมีการฉีกขาดเป็นท่อนๆ เจริญเป็นเส้นใยใหม่ได้ การแตกหน่อ (Budding) จนแยกจากเซลล์แม่ การแบ่งตัวแบบฟิชชัน (Fission) เซลล์แต่ละเซลล์จะคอดตรงกลางแล้วแบ่งออกเป็น 2 ส่วน พบในยีสต์บางชนิด การสร้างสปอร์ (sporulation) และสปอร์แบบไม่อาศัยเพศ (Asexual spore) ของราเกิดขึ้น โดยการแบ่งแบบไมโทซิส และ ไม่มีการรวมกันของนิวเคลียส

ของเซลล์ และ สืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ (Sexual reproduction) มีการรวมกันของนิวเคลียส เริ่มจาก โพรโทพลาสต์มารวมกันเป็นเซลล์เดี่ยว เรียกว่า Plasmogamy ต่อมานิวเคลียสมารวมกันเรียกว่า Karyogamy เป็น เรียกว่า Plasmogamy ต่อมานิวเคลียสมารวมกันเรียกว่า Karyogamy เป็น $2n$ ใน ราชันสูงระยะทั้ง สองจะเกิดไม่ต่อเนื่องกัน เมื่อเกิด Plasmogamy แล้วจะได้ 2 นิวเคลียสเรียกเซลล์ นั้นว่า Dikaryon และ อาจอยู่ในลักษณะ Dikaryon ได้นาน โดยนิวเคลียสต่างก็แบ่งตัวไปพร้อมกับการแบ่งเซลล์ จนระยะต่อมาจึงมีการรวมนิวเคลียส แล้วเกิดไมโอซิสลดโครโมโซมลงเป็นแฮพลอยด์ อีก ออร์แกเนลล์ที่เกี่ยวกับเพศ เรียกว่า Gametangium ภายในมีเซลล์สืบพันธุ์ ถ้า Gametangium ทั้ง 2 เพศต่างกัน Gametangium เพศผู้เรียกว่า Antheridium ส่วน Gametangium เพศเมีย เรียกว่า Oogonium และ Ascogonium (Praphaiphit, 2017)



ราเอนโดไฟต์ส่วนใหญ่ที่พบอยู่ในไฟลัม Ascomycota สามารถพบได้ในพืชอาศัยทุกชนิด ทั้ง พืชน้ำ และ พืชบก พืชใบเลี้ยงเดี่ยว และ พืชใบเลี้ยงคู่ ราเอนโดไฟต์ที่พบบ่อย ได้แก่ *Colletotrichum*, *Fusarium*, *Pestalotiopsis*, *Phoma*, *Phomopsis* และ *Xylariaceae* (Suwannarach, 2012) ปัจจุบันมีรายงานวิจัยจำนวนมาก พบว่าจุลินทรีย์เป็นแหล่งทรัพยากรที่น่าสนใจในการค้นหาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ในปัจจุบัน โดยเฉพาะกลุ่มเชื้อรา จากรายงานมีการ ค้นพบเชื้อราบางกลุ่มที่มีความสัมพันธ์ในลักษณะแบบพึ่งพาอาศัยกันโดยไม่ก่อให้เกิดโรคต่อพืชอาศัย เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า และอาศัยอยู่ในเนื้อเยื่อของพืช เรียกว่า ราเอนโดไฟต์ (Sandhu, 2014) ซึ่งเราตั้งกล่าวจะทำ ไม่วางกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หน้าที่ผลิตสารบางกลุ่มที่สามารถป้องกันอันตรายแก่พืชที่ราอาศัยอยู่ และ ยังช่วยยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย (Mathan,2013)

2.3 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา (Morphological characteristics)

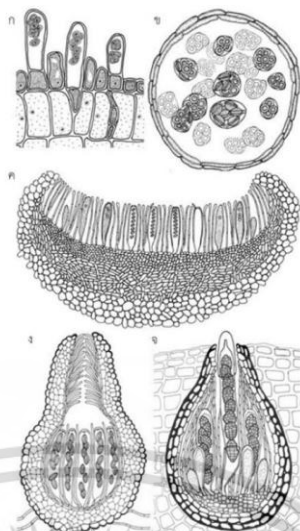
เชื้อราในกลุ่มเส้นสายหรือเชื้อที่มีหลายเซลล์ เป็นกลุ่มของสิ่งมีชีวิตที่มีรูปร่าง และ โครงสร้างที่หลากหลาย มีลักษณะเฉพาะดังนั้นการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรานั้นสามารถสังเกตได้จากลักษณะ ดังนี้

2.3.1 ลักษณะของเส้นใย (Hyphae) เส้นใยเชื้อราสามารถเจริญหรือมีความยาวออกไปได้ไม่จำกัด โดยเส้นใยแบ่งออกเป็น 2 ประเภท คือ แบบไม่มีผนังกั้น (Nonseptate hyphae หรือ Coenocytic hyphae) ซึ่งเป็นท่อที่สามารถทะลุถึงได้ทั้งไซโทพลาซึมและนิวเคลียสที่พบได้ในเชื้อราขั้นต่ำ และแบบมีผนังกั้น (Septate hyphae) ซึ่งพบได้ในเชื้อราขั้นสูง (รูปที่ 2.3)

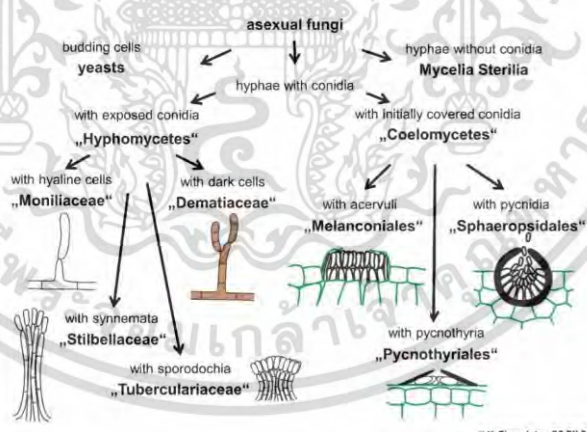


รูปที่ 2.3 ลักษณะเส้นใยของเชื้อราแบบไม่มีผนังกั้น และแบบมีผนังกั้น
(ที่มา: <https://search.library.wisc.edu/digital/ATCP4273TD7FYM8I>)

2.3.2 ลักษณะฟรุติงบอดี้ (Fruiting body) หรือแอสโคคาร์ป (Ascocarp) ฟรุติงบอดี้หรือแอสโคคาร์ป สามารถพบได้ทั้งในการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ (Sexual reproduction) ที่มีลักษณะรูปร่างฟรุติงบอดี้หรือแอสโคคาร์ปหลากหลาย เช่น แบบคลิสสโตที่เซียม (Cleistothecium) แบบอะโพทีเซียม (Apothecium) และ แบบเพอริทีเซียม (Peritheclum) (รูปที่ 2.5) และการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ (Asexual reproduction) หรือราไม่สมบูรณ์เพศ (Imperfect fungi) ที่มีการสร้างฟรุติงบอดี้หรือแอสโคคาร์ปได้ เช่น คลาสไพรีโนมัยซิส (Pyrenomycetes) สร้างฟรุติงบอดี้หรือแอสโคคาร์ป แบบเพอริทีเซีย คลาสโคโลไมซิส (Coelomycetes) สร้างโคนิเดียใน พิศนินเดีย (Pyanidia) และ คลาสไฮโฟไมซิส (Hyphomycetes) เป็นการสร้างโคนิเดียบนโคนิดิโอสปอร์ (Conidiospore) แต่ไม่มีการสร้างฟรุติงบอดี้หรือแอสโคคาร์ป (รูปที่ 2.5) ฐานข้อมูลออนไลน์นี้มาจาก Wikimedia (<https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Hyphae.jpg>) สืบค้น 29 พ.ค. 2566



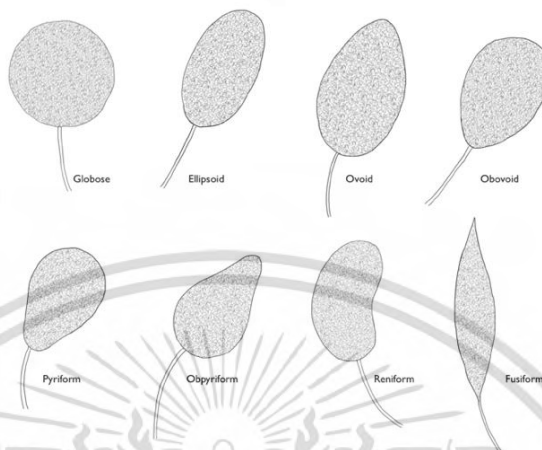
รูปที่ 2.4 แสดงรูปร่างของฟรุตติ้งบอดีหรือแอสโคคาร์ปที่สืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ ดังนี้ แอสไซของเชื้อราสกุล *Taphrina* (ก) แอสโคคาร์ปแบบคลีสโตทีเทียม (Cleistothecium) ของเชื้อราสกุล *Aspergillus* (ข) แอสโคคาร์ปแบบอะโพทีเทียม (Apothecium) ของเชื้อราสกุล *Peziza* (ค) แอสโคคาร์ปแบบเพอริทีเทียม (Perithecium) ของเชื้อราสกุล *Neurospora* (ง) แอสไซของเชื้อราสกุล *Pleospora* ที่มีเส้นใยพาราไฟซิสเทียม (Pseudoparaphyses) ห่อหุ้ม (จ)
(ที่มา: ดัดแปลงจาก Liu และ Hall, 2004)



รูปที่ 2.5 แสดงรูปร่างของฟรุตติ้งบอดีหรือแอสโคคาร์ปที่สืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ
(ที่มา: <http://biology.ipst.ac.th/?p=983>)

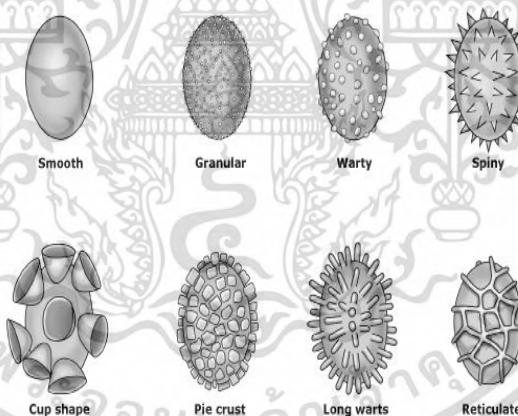
2.3.3 ลักษณะของสปอร์ (Spore) และโคนิเดีย (Conidia) สปอร์หรือโคนิเดียมีลักษณะได้หลายแบบ เช่น รูปร่างกลม (Globose) รูปไข่ (Ovate) รูปวงรี (Elliptical) และรูปทรงกระสวย (Fusiform) (รูปที่ 2.6) นอกจากนี้สปอร์หรือโคนิเดียมีลักษณะ พื้นผิวได้หลายแบบ เช่น แบบเรียบ (Smooth) แบบขรุขระ (Granule) แบบปุ่มปม (Warty) แบบหนาม (Spiny) แบบปุ่มถ้วย (Cup-

shape) แบบคล้ายเม็ดแป้งพาย (Pie crust) แบบหนามยาว (Long warts) และแบบร่างแห (Reticulate)



รูปที่ 2.6 แสดงลักษณะรูปร่างของสปอร์หรือโคินิเดีย

(ที่มา: <https://forestphytophthoras.org/glossary?order=title&sort=desc>)

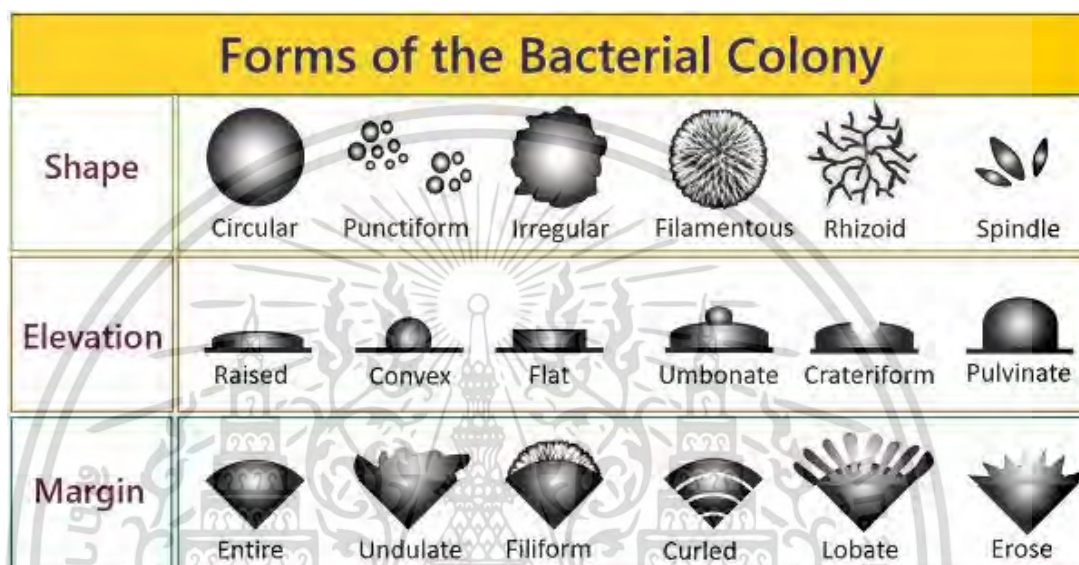


รูปที่ 2.7 แสดงลักษณะพื้นผิวของสปอร์หรือโคินิเดีย

(ที่มา: <https://www.uptodate.com/contents/image/print?imageKey>)

2.3.4 ลักษณะโคโลนี (Colony morphology) ลักษณะรูปร่างโคโลนี (Colony form) แบ่งออกเป็น 6 แบบ คือ รูปร่างกลม (Circular) รูปร่างกลมที่มีลักษณะเป็นจุดเล็ก ๆ (Punctiform) รูปร่างไม่แน่นอน (Irregular) รูปร่างเส้นสาย (Filamentous) รูปร่างคล้ายราก (Rhizoid) และรูปร่างกระสวยยาวรี หรือรูปกระสวย (Spindle) (รูปที่ 2.8) ลักษณะการยกตัวของโคโลนี (Colony elevation) แบ่งออกเป็น 6 แบบ คือ ยกขึ้นจากผิวหน้าอาหาร (Raised) โค้งนูนขึ้นจากผิวหน้าอาหาร ไม้วากกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งยังมีเหตุดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เล็กน้อย (Convex) แบนราบ (Flat) โค้งนูนขึ้นจากผิวหน้าอาหาร และมีปุ่มตรงกลาง (Umbonate) โค้งนูนมีรูตรงกลาง (Crateriform) และ โค้งนูนสูงขึ้นจากผิวหน้าอาหาร (Pulvinate) (รูปที่ 2.8) ลักษณะขอบโคโลนี (Colony margin) แบ่งออกเป็น 6 แบบ คือ ขอบเรียบ (Entire) ขอบหยัก และ โค้งเว้าเล็กน้อย (Undulate) ขอบเป็นเส้นสาย (Filiform) ขอบหยักขนาบกัน (Curled) ขอบโค้งเว้ามาก (Lobate) และขอบหยักเป็นซี่ไม่สม่ำเสมอ (Erose) (รูปที่ 2.8)



รูปที่ 2.8 แสดงลักษณะรูปแบบของโคโลนี (Colony)

(ที่มา: <https://biologyreader.com/colony-morphology-of-bacteria.html?fbclid=IwAR0KwTS-ErBlrNWN-tGkWS8WmbEnj34htK5IYZ84nlkC2pjF-N1atyPlmm8>)

2.4 ฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย (Antibacterial activity)

เชื้อแบคทีเรียเป็นสาเหตุสำคัญต่อการเกิดโรคต่าง ๆ มากมาย ซึ่งปนเปื้อนกระจายอยู่ตามแหล่งต่าง ๆ แบคทีเรียก่อโรคสำคัญ ได้แก่ *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Micrococcus luteus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis* เป็นต้น ซึ่งในปัจจุบันพบเชื้อแบคทีเรียดื้อยาเพิ่มสูงขึ้น จึงต้องหาแหล่งของ สิ่งมีชีวิตใหม่ที่ผลิตสารออกฤทธิ์ต้านแบคทีเรียก่อโรคได้ รวมถึงตรวจสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียเพื่อค้นหาสารออกฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย (กัญญาและพรพิมล, 2558)

วิธีที่นิยมใช้ในการตรวจสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากเชื้อรา ได้แก่วิธี Agar disk diffusion แบคทีเรียที่เลือกใช้ในการศึกษานี้ คือ แกรมบวก 4 ชนิด คือ *B. subtilis*, *S. aureus*, *S. epidermidis* และ *E. coli* เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

subtilis, *M. luteus*, *S. aureus* และ *S. epidermidis* แบคทีเรียแกรมลบ 2 ชนิด คือ *E. coli* และ *P. aeruginosa*

B. subtilis เดิมมีชื่อว่า *Vibrio subtilis* ค้นพบโดย Christian Gottfried Ehrenberg ปี ค.ศ. 1835 จัดอยู่ในวงศ์ *Bacillaceae* (NCBI, 2022) เป็นแบคทีเรียแกรมบวก (Gram positive bacteria) พบทั่วไปในธรรมชาติ ดิน น้ำ เซลล์มีลักษณะเป็นรูปท่อน เคลื่อนที่ได้โดยใช้แฟลกเจลลา (Flagella) โคลนีสีสีชมพู เหลือง ส้ม หรือน้ำตาล มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5-2.5 ไมโครเมตร อยู่ในกลุ่ม Facultative anaerobe ต้องการออกซิเจนในการหายใจบางครั้งเจริญได้ในที่ไม่มีออกซิเจน สปอร์สามารถทนอยู่ในสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมได้โดยเฉพาะอย่างยิ่งความสามารถทนต่อความร้อนที่อุณหภูมิสูง และ สภาพเป็นด่างได้อย่างดี อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตอยู่ในช่วง 30-37 องศาเซลเซียส *B. subtilis* เป็นสาเหตุหนึ่งของการเกิดโรคอาหารเป็นพิษ แต่ก็ได้รับความสนใจเป็นอย่างมากในทางอุตสาหกรรม ในด้านอุตสาหกรรมการผลิตเอนไซม์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งเอนไซม์ที่ใช้ใน ผงซักฟอกหรือน้ำยา ทำความสะอาดต่างๆ ส่วนใหญ่ที่นำมาใหญ่คือเอนไซม์ Protease จากการที่แบคทีเรียชนิด *B. subtilis* มีความปลอดภัยต่อการใช้สูง ทั้งยังสามารถหลั่งสารที่ผลิตขึ้นออกสู่นอกเซลล์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Martinez, 2013)

E. coli อยู่ในวงศ์ Enterobacteriaceae เป็นแบคทีเรียแกรมลบ (Gram negative bacteria) รูปร่างเป็นแท่ง (Rod shape) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของแบคทีเรีย 0.5 -1.5 ไมครอน ไม่สามารถสร้างสปอร์ สามารถเจริญได้ทั้งในสภาวะที่มีออกซิเจน และไม่มีออกซิเจน (Facultative anaerobe) ในสภาวะที่มีออกซิเจนจะใช้กระบวนการหายใจ ส่วนสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนจะใช้การหมัก (Fermentation) *E. coli* สามารถก่อโรคในมนุษย์ และ สัตว์เป็นแบคทีเรียที่จัดอยู่ในกลุ่มโคลิฟอร์ม (Coliform) ประเภท Fecal coliform ซึ่งเป็นโคลิฟอร์มที่พบ ในอุจจาระของมนุษย์ และ สัตว์เลือดอุ่น (พรเฉลิมพงศ์ & รัตนาพานนท์, 2560)

M. luteus เป็นแบคทีเรียแกรมบวก (Gram positive bacteria) พบทั่วไปในดิน ผุ่น น้ำ และ บนผิวหนังของคน และ สัตว์ ซากสัตว์ ลักษณะของเซลล์รูปร่างกลมมน ผิวหน้าและขอบไม่เรียบ มีสีเหลืองอ่อนถึงเหลืองเข้ม ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5-3.5 ไมโครเมตร เรียงตัวเป็นกลุ่มหรือ 4 เซลล์เกาะติดกัน ไม่เคลื่อนที่ ต้องการออกซิเจนในการเจริญเติบโต อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต 25-35 องศาเซลเซียส สามารถทนเกลือสูงถึง 5 เปอร์เซ็นต์ สร้างสารสีเหลืองเมื่อ เติบโตบนอาหารทำให้ผิวหนังอาหารเปลี่ยนสีไป เป็นแบคทีเรียที่ไม่ก่อให้เกิดโรค แต่เป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้อาหารเน่าเสีย (Microbial spoilage) ของอาหารหลายประเภท เช่น การเสื่อมเสียของ นม การเสื่อมเสียของไข่ การเสื่อมเสียของเนื้อสัตว์ สัตว์ปีก อาหารกึ่งแห้ง อาหารทะเล ปลา หอย รวมทั้งผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์ เช่น ไส้กรอก แฮม (Da-Cheng Hao, 2019)

เอกสารนี้เป็นเอกสาร *P. aeruginosa* เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปร่างแท่ง เคลื่อนที่ได้ด้วยแฟลกเจลลาที่อยู่ตรงปลายด้านหนึ่งของเซลล์ (Monotrichous flagella) เจริญในสภาวะที่มีออกซิเจน โคลนีสีแบน ขอบไม่เรียบ

สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส พบได้ทั่วไปในธรรมชาติ มีกลิ่นเฉพาะตัว ส่วนใหญ่มีกลิ่นอับคล้ายดินหรือคล้ายองุ่น สายพันธุ์ที่สร้างแคปซูลมักจะมีลักษณะโคโลนีเป็นเมือก สามารถสร้างรงควัตถุได้ คือ สีเขียวน้ำเงิน (Pyocyanin) สีเหลืองสะท้อนแสง (Pyoverdin) สีแดง (Pyorubin) และสีน้ำตาลดำ (Pyomelanin) เป็นเชื้อฉวยโอกาส (Opportunistic pathogen) ก่อโรคในคนที่มีร่างกายอ่อนแอ เช่น ในผู้ป่วยที่มีระบบภูมิคุ้มกันบกพร่อง หรือผู้ป่วยที่มีโรคเรื้อรังต้องรักษาตัวอยู่ในโรงพยาบาลเป็นเวลานาน สามารถก่อให้เกิดการติดเชื้อได้ในหลายระบบ เช่น ระบบทางเดินปัสสาวะ ชั้นผิวหนังหรือเยื่อบุผิว ปอด และ กระแสโลหิต เป็นต้น สามารถดื้อต่อยาต้านจุลชีพหลายชนิด ซึ่งมีสาเหตุจาก Outer membrane Lipopolysaccharide (LPS) การสร้าง Biofilm ของเชื้อเองทำให้ยาปฏิชีวนะไม่สามารถแทรกเข้าไปได้ และ การที่เชื้อมี Antibiotic resistant plasmid อยู่ภายในเซลล์ โดยปกติยาปฏิชีวนะที่ใช้รักษาการติดเชื้อ ได้แก่ Fluoroquinolones, Gentamicin, Carbenicillin และ Imipenem เป็นต้น (Kriengkrai, 2017)

S. aureus Alexander Coston เป็นผู้ค้นพบในปี ค.ศ. 1880 โดยจัดอยู่ในวงศ์ของ *Staphylococcaceae* (NCHI, 2022) เป็นแบคทีเรียชนิดหนึ่งในสกุล (Genus) *Staphylococcus* อยู่ในวงศ์ แบคทีเรียชนิดนี้ย้อมติดสีเกาะ (Family) *Micrococcaceae* แบคทีเรียชนิดนี้ย้อมติดสีแกรมบวก (Gram Positive) รูปร่างกลม (Cocci) (พรเฉลิมพงศ์ & รัตนาพานนท์, 2560) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของแบคทีเรีย 0.5 -1.5 ไมครอน เซลล์แบคทีเรียเรียงตัวเป็นคู่ (Diplococcus) หรือสี่ (Tetrad) เซลล์อยู่เป็นกลุ่มเรียงตัว คล้ายพวงองุ่น (Grape like cluster) อาจเรียงตัวกันเป็นสายสั้นๆ ประมาณ 3-4 เซลล์ (Chain) *S. aureus* ไม่สามารถเคลื่อนไหว ไม่สามารถสร้างสปอร์ บางสายพันธุ์อาจสร้างแคปซูลได้ เมื่ออยู่ในสภาวะที่เหมาะสมผนังเซลล์ของ *S. aureus* ประกอบด้วย โครงสร้างหลักคือแบคทีโกลแคน (Peptidoglycan) และกรดไคโคอิก (Teichoic acid) *S. aureus* สามารถเจริญได้ดีบนอาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียทั่วไป เช่น Nutrient agar (NA) และ Tryptic soy agar (TSA) เป็นต้น แบคทีเรียสามารถเจริญได้ทั้งในอาหารเหลว (Broth) และ บนอาหารแข็ง (Agar) โดยลักษณะของโคโลนีของแบคทีเรียบนอาหารแข็ง มีลักษณะเป็นโคโลนีสีเหลือง เข้มหรือสีเหลืองทอง กลม ขอบเรียบ มันวาว โค้งนูน และ สีขุ่นทึบแสง ส่วนแบคทีเรียที่เจริญเติบโตใน (Orathai, 2018)

S. epidermidis Alexander Oeston เป็นผู้ค้นพบในปี ค.ศ. 1880 โดยจัดอยู่ในวงศ์ *Staphylococcaceae* (NCBI, 2022) เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างกลม อาจอยู่เป็นเซลล์เดี่ยวหรืออยู่รวมกันเป็นกลุ่มคล้าย พวงองุ่น สามารถเจริญได้ทั้งในสภาวะที่มีออกซิเจนหรือมีออกซิเจนเพียงเล็กน้อย เจริญได้ดีที่ 37 องศาเซลเซียส ลักษณะโคโลนีมีขนาดเล็ก สีขาว ไม่สร้างเอ็นไซม์ Coagulase ไม่สามารถใช้ Mannitol ไม่สลายเม็ดเลือดแดงบน Blood agar พบได้ตามผิวหนังทั่วไปและเยื่อบุบางแห่ง เช่น จมูก หู ปากและหลอดปัสสาวะส่วนปลาย ปกติเป็นเชื้อประจำถิ่นที่ผิวหนังของคนไม่ก่อโรค แต่ในสภาวะที่ภูมิคุ้มกันอ่อนแอ สามารถทำให้เกิดโรคได้ ส่วนใหญ่เกิดจากการติดเชื้อในโรงพยาบาล เช่น การคาสายยางในร่างกายเป็นเวลานาน เชื้อสามารถสร้างไบโอฟิล์ม (Biofilm) ซึ่งป้องกันการกิน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์สำหรับงานวิจัยของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี ไม่สามารถนำข้อมูลไปใช้ประโยชน์อื่นใดโดยไม่ได้รับอนุญาต
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ของเม็ดเลือดขาว และการจับของแอนติบอดี *S. epidermidis* เป็นเชื้อที่มีแบบแผนการดื้อยาไม่แน่นอน และ แตกต่างจาก *S. aureus* พบการดื้อต่อยากลุ่ม Penicillinase-resistant penicillin และ Cephalosporin เขาทั้งสองกลุ่มนี้ได้ผลดีกับ *S. aureus* การรักษาจึงจำเป็นต้องใช้ผลการมากกว่า *S. aureus* ซึ่งยาทดสอบความไวต่อยาปฏิชีวนะเป็นแนวทาง (Thamonwan คณะ, 2018)

2.4.1. การตรวจสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียโดยวิธี Agar plug diffusion ระหว่างที่เชื้อทดสอบ เจริญบนอาหารแข็งเชื้อจะหลั่งสารแพร่ไปในอาหารแข็ง (Mouny และคณะ 2016) วิธี Agar plug diffusion เป็นวิธีที่ใช้ในการตรวจสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียเบื้องต้น นิยมทำก่อนที่จะสกัดสารเพื่อ ตรวจสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียในวิธีต่าง ๆ ต่อไป เนื่องจากวิธีนี้เป็นวิธีที่ได้สะดวก ประหยัด และ ใช้เวลาน้อย ซึ่งคล้ายกับการตรวจสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียโดยอาหารเลี้ยงเชื้อที่เจาะรูโดยที่เจาะ จุกคอร์ก (Cork borer) ย้ายมาวางบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีการสวอปเชื้อ (Swab) ที่ต้องการทดสอบ จากนั้นบ่มเลี้ยงเชื้อ อ่านผลการทดสอบโดยการวัดขนาดของ เส้นผ่าศูนย์กลางบริเวณใส (Clear zone) ที่เกิดขึ้น (Mounmy และคณะ, 2016, Amith และคณะ, 2021)



รูปที่ 2.9 การตรวจสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย (Antibacterial) โดยวิธี Agar plug diffusion บนอาหาร PDA

(ที่มา: <https://microbiologyjournal.org/antimicrobial-activity-and-phytochemical-analysis-of-endophytic-fungal-extracts-isolated-from-ethno-pharmaceutical-plant-rauwolfia-tetraphylla-l/>)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 ตัวอย่างเชื้อราและเชื้อแบคทีเรีย

3.1.1 เชื้อรา

เชื้อราเอนโดไฟต์ที่ได้รับอนุเคราะห์จาก ดร.นฤมล ตั้งธีระสุนันท์ คัดแยกมาจากต้นกระมอบ ศูนย์วิจัยและถ่ายทอดวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ตำบลองค์พระ อำเภอด่านช้าง จังหวัดสุพรรณบุรี โดยมีทั้งหมด 21 ไอโซเลท ดังนี้ 22-002, 22-004, 22-007, 22-010, 22-012, 22-013, 22-014, 22-015, 22-016, 22-017, 22-019, 22-020, 22-023, 22-024, 22-025, 22-026, 22-027, 22-028, 22-029, 22-031, 22-032, 22-035 และ 22-037

3.1.2 เชื้อแบคทีเรีย

เชื้อแบคทีเรีย 6 ชนิด (Stain) จากภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ สจล. ได้แก่ แกรมบวก 4 ชนิด คือ *Bacillus subtilis*, *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus aureus* และ *S. epidermidis* แกรมลบ 2 ชนิด คือ *Escherichia coli* และ *Pseudomonas aeruginosa*

3.2 อุปกรณ์

3.2.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการตรวจสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย

- 3.2.1.1 หลอดทดลองแก้ว (Test tube)
- 3.2.1.2 ตู้บ่มเลี้ยงเชื้อแบบควบคุมอุณหภูมิ (Incubator)
- 3.2.1.3 ไม้พันสำลี (Cotton swab)
- 3.2.1.4 เครื่องวิเคราะห์ค่าดูดกลืนแสง (UV-visible spectrophotomet)
- 3.2.1.5 ห่วงเขี่ยเชื้อ (Loop)
- 3.2.1.6 คิวเวทพลาสติกกึ่งไมโคร (Semi-micro cuvette plastic)
- 3.2.1.7 ที่เจาะจุกคอร์ก (Cork borer)
- 3.2.1.8 เข็มเขี่ยเชื้อ (Needle)
- 3.2.1.9 ตู้ปลอดเชื้อ (Biological safety cabinet)
- 3.2.1.10 ตู้อบลมร้อน (Hot air oven)
- 3.2.1.11 ตู้บ่มเลี้ยงเชื้อแบบควบคุมอุณหภูมิ (Incubator)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3 อาหารเลี้ยงเชื้อ

3.3.1 อาหารเลี้ยงเชื้อรา

3.3.2.1 Potato dextrose agar (PDA)

3.3.2 อาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย

3.3.2.1 Mueller-Hinton agar (MHA)

3.3.2.2 Mueller-Hinton broth (MHB)

3.4 สารเคมี

3.4.1 สารเคมีที่ใช้ในการตรวจสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย

3.4.1.1 ยาปฏิชีวนะเจนตามัยซิน (Gentamicin)

3.4.1.2 น้ำเกลือ (Norma salin solution)

3.5 การเพาะเลี้ยงเชื้อราเอนโดไฟต์

นำเชื้อราเอนโดไฟต์ที่ได้รับอนุเคราะห์จาก ดร.นฤมล ตั้งธีระสุนันท์ มาเตรียมเชื้อเริ่มต้น (Starter) โดยนำเชื้อไปเลี้ยงบนอาหารใหม่ (Subculture) บนจานเพาะเลี้ยงที่มีอาหาร PDA จากนั้นนำจานเพาะเลี้ยงเชื้อไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง (30 ± 2 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 5 วัน เพื่อนำไปศึกษาในขั้นตอนต่อไป

3.6 การศึกษาการเจริญเติบโต และสังเกตลักษณะทางสัณฐานวิทยาเบื้องต้น

โดยนางานเพาะเลี้ยงเชื้อเริ่มต้นที่เตรียมไว้มาเจาะด้วยจุกคอร์ก (ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร) จากนั้นย้ายชิ้นหุ่นลงบนจานเพาะเลี้ยงเชื้อที่มีอาหาร PDA โดยวางชิ้นหุ่นจำนวน 1 ชิ้นกันต่อจานเพาะเลี้ยงเชื้อ ทำทั้งหมด 3 จานนั้นนำไปเลี้ยงบ่มที่อุณหภูมิห้อง และ ทำการบันทึกผลการเจริญเติบโตของเชื้อราในวันที่ 2 และวันที่ 4 โดยวัดขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนี (Colony) ในแนวแกน X และแกน Y การยกตัวของโคโลนี (Colony elevation) 1 โดยใช้ดิจิตอลเวอร์เนียคาลิเปอร์ พร้อมทั้งสังเกต และ บันทึกลักษณะทางสัณฐานวิทยาเบื้องต้น เช่น สีของโคโลนี (Colony colour) รูปร่างโคโลนี (Colony form) ขอบโคโลนี (Colony-margin)

3.7 การคัดเลือกฤทธิ์ต้านแบคทีเรียเบื้องต้นโดยวิธี Agar plug diffusion method

โดยวิธีการทดสอบปรับมาจาก Kesinee Saowongjan และ คณะ, 2019 นำแบคทีเรีย 6 ชนิด คือ *B. subtilis*, *E. coli*, *M. luteus*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* และ *S. epidermidis* นำมาเตรียมเชื้อเบื้องต้น โดยใช้เทคนิคขีดเชื้อ (Streak plate technique) บนจานเพาะเลี้ยงเชื้อที่มีอาหาร MHA จากนั้นนำไปเลี้ยงบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง คัดเลือกโคโลนีเดี่ยว (Single colony) ไม่วากกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมีเหตุดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

colony) ลงหลอดทดลองที่มีอาหาร MHB ปริมาตร 5 มิลลิลิตร แล้วนำหลอดทดลองไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 วัน จากนั้นนำแบคทีเรียที่ได้มาปรับความขุ่น โดยใช้ น้ำเกลือเป็นตัวเจือจาง และ นำไปวัดด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 625 นาโนเมตร เพื่อให้ได้ค่าการดูดกลืนแสงเท่ากับ 0.09 ± 0.005 จากนั้นนำเชื้อแบคทีเรียที่ได้ไปทำการเกลี่ยเชื้อ (Swab) ด้วยไม้พันสำลีสวอปลงบนจานเพาะเลี้ยงเชื้อที่มีอาหาร MHA ทิ้งไว้ให้ผิวหน้าจานเพาะเลี้ยงเชื้อแห้ง นำเชื้อราเริ่มต้นที่เพาะเลี้ยงไว้มาเจาะด้วยที่เจาะจุกคอร์กขนาด 5 มิลลิเมตร ย้ายขึ้นวุ้นเส้นใยเชื้อราลงบนจานเพาะเลี้ยงที่มีอาหาร MHA ที่เกลี่ยเชื้อแบคทีเรีย 6 ชนิด ที่เตรียมไว้ โดยวางขึ้นวุ้น 4 ขึ้นวุ้นต่อหนึ่งจานเพาะเลี้ยงเชื้อ ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นตรวจผลการทดลองโดยสังเกตการเกิดบริเวณใส (Clear zone) ถ้ามีการเกิดบริเวณโซนใสเกิดขึ้นหมายความว่าเชื้อไอโซเลทนั้นสามารถสร้างสารที่มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียได้ และ ทำการวัดขนาดโซนใสทั้งในแนวแกน X และ แกน Y โดยดิจิตอลเวอร์เนียร์คาลิปเปอร์ พร้อมทั้งบันทึกผล และ ถ่ายภาพ



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

4.1 สันฐานวิทยาเบื้องต้นของเชื้อราเอนโดไฟต์

การเจริญเติบโตของเชื้อราเอนโดไฟต์จากต้นกระมอบทุกไอโซเลท วัดจากเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีบนอาหาร Potato dextrose agar (PDA) ในวันที่ 2 และ 4 วัน (ภาคผนวก ก. ตารางที่ 1) พบว่าเชื้อราเอนโดไฟต์แต่ละไอโซเลทเจริญเติบโตค่อนข้างเร็ว ดังนั้นผลการศึกษาก็เปรียบเทียบการเจริญเติบโตของเชื้อราเอนโดไฟต์ในวันที่ 4 โดยมีรายละเอียดดังนี้ (ตารางที่ 4.1)

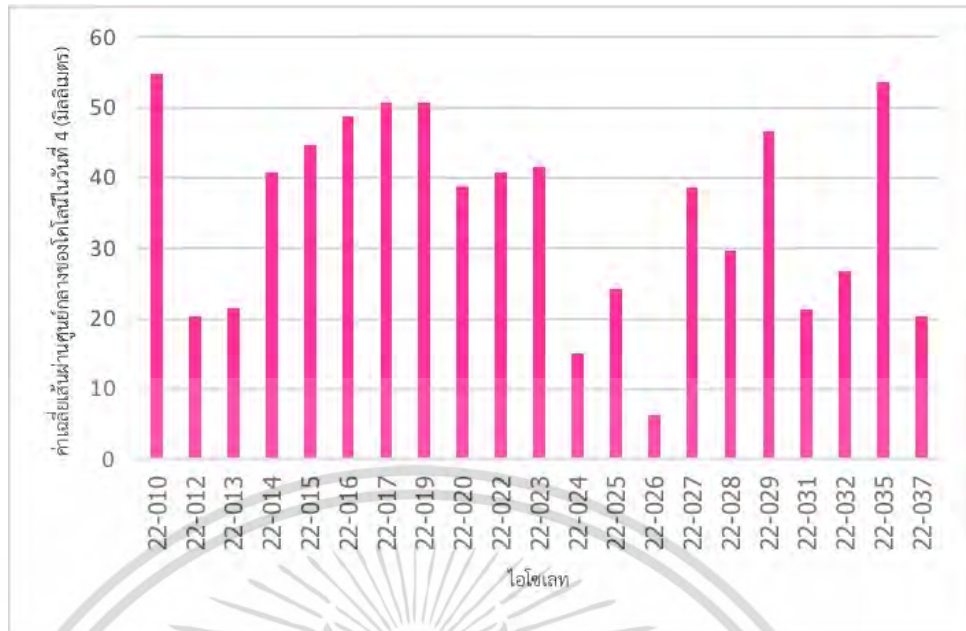
เชื้อราเอนโดไฟต์จากต้นกระมอบมีอัตราการเจริญเติบโตที่สูงสุด 3 อันดับแรกในวันที่ 4 คือ ไอโซเลท 22-010 มีค่าเฉลี่ยการเจริญเติบโตของเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีเท่ากับ 54.82 ± 2.28 มิลลิเมตร (รูปที่ 4.2) และ มีอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวันเท่ากับ 18.76 มิลลิเมตรต่อวัน ไอโซเลท 22-035 มีค่าเฉลี่ยการเจริญเติบโตของเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีเท่ากับ 53.60 ± 3.12 มิลลิเมตร (รูปที่ 4.21) และ มีอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวันเท่ากับ 20.57 มิลลิเมตรต่อวัน และไอโซเลท 22-019 มีค่าเฉลี่ยการเจริญเติบโตของเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีเท่ากับ 50.81 ± 2.44 มิลลิเมตร (รูปที่ 4.9) และ มีอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวันเท่ากับ 32.34 มิลลิเมตรต่อวัน ตามลำดับ ส่วนไอโซเลทที่มีการเจริญเติบโตช้าที่สุด คือ ไอโซเลท 22-026 มีค่าเฉลี่ยการเจริญเติบโตของเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีเท่ากับ 6.25 ± 0.80 มิลลิเมตร (รูปที่ 4.15) และ มีอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวันเท่ากับ 2.63 มิลลิเมตรต่อวัน

จากงานวิจัยของ เทตศักดิ์ สวัสดิ์สุข และคณะ (2562) ได้ศึกษาอัตราการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato dextrose agar (PDA) *Fusarium* sp. มีอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยสูงสุด คือ เจริญเติบโตเต็มจานเลี้ยงเชื้อภายใน 2 วัน และงานวิจัยของ วัชรมาศ ม่วงแก้ว และคณะ (2016) ได้ศึกษาอัตราการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Aschersonia placen* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ 4 ชนิด รวมถึงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato dextrose agar (PDA) พบว่าจะมีลักษณะโคโลนีที่แผ่กว้างคล้ายกัน

ตารางที่ 4.1 แสดงการเจริญเติบโตของเชื้อราเอนโดไฟต์จากต้นกระมอบนอาหาร Potato dextrose agar (PDA) วันที่ 4

ไอโซเลข	ค่าเฉลี่ยการเจริญเติบโต (มิลลิเมตร)	อัตราการเจริญเฉลี่ย (มิลลิเมตร/วัน)
22-010	54.82±2.28	18.76
22-012	20.39±2.89	11.19
22-013	21.50±1.33	8.59
22-014	40.69±1.13	22.54
22-015	44.77±1.83	7.52
22-016	48.78±4.96	32.98
22-017	50.64±3.97	34.67
22-019	50.81±2.44	32.34
22-020	38.82±2.19	22.38
22-022	40.77±2.03	23.77
22-023	41.60±2.04	24.44
22-024	24.30±0.76	4.08
22-025	14.15±1.48	15.24
22-026	6.25±0.80	2.63
22-027	29.74±1.77	15.84
22-028	46.61±1.72	15.35
22-029	21.24±7.60	23.59
22-031	26.69±3.42	12.02
22-035	53.60±3.12	20.57
22-037	20.23±4.77	10.25

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

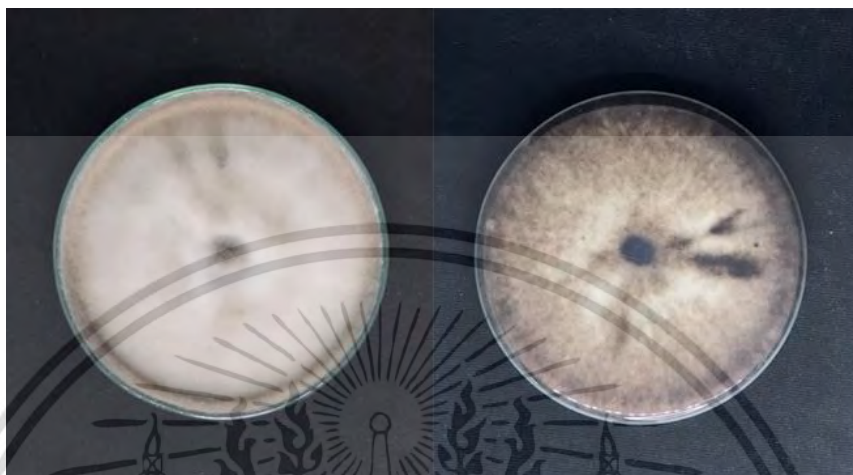


รูปที่ 4.1 อัตราการเจริญเติบโตของเชื้อราเอนโดไฟต์บนอาหาร Potato dextrose agar (PDA) วันที่ 4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไอโซเลท SP22-010

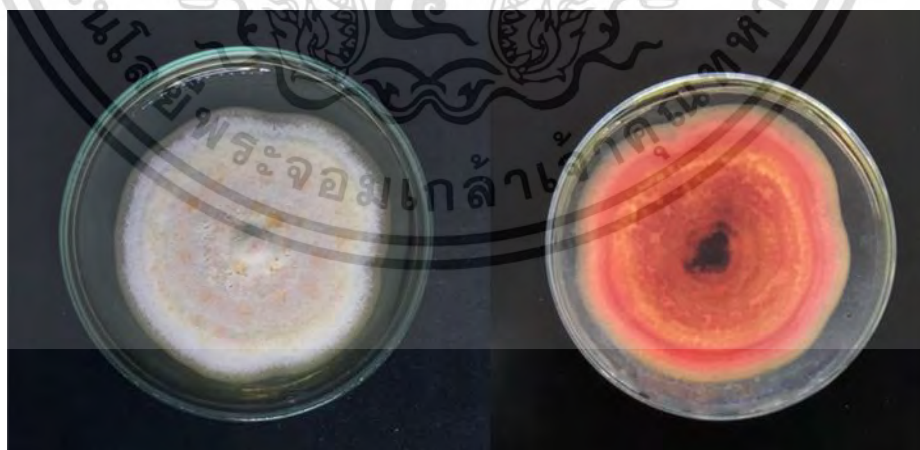
การเจริญของโคโลนีบนอาหาร PDA มีลักษณะของผิวหน้าโคโลนีเป็นวงแหวนซ้อนกันเป็นชั้น การยกตัวของโคโลนี มีลักษณะโค้งงอไปกับผิวหน้าอาหารเล็กน้อย รูปร่างโคโลนี มีลักษณะกลม



รูปที่ 4.2 แสดงลักษณะเชื้อราไอโซเลท SP22-010 เพาะเลี้ยงบนอาหาร Potato dextrose agar (PDA)

ไอโซเลท SP22-012

การเจริญของโคโลนีบนอาหาร PDA มีลักษณะของผิวหน้าโคโลนีเป็นวงแหวนซ้อนกันเป็นชั้น การยกตัวของโคโลนี มีลักษณะโค้งงอไปกับผิวหน้าอาหารเล็กน้อย รูปร่างโคโลนี มีลักษณะกลม

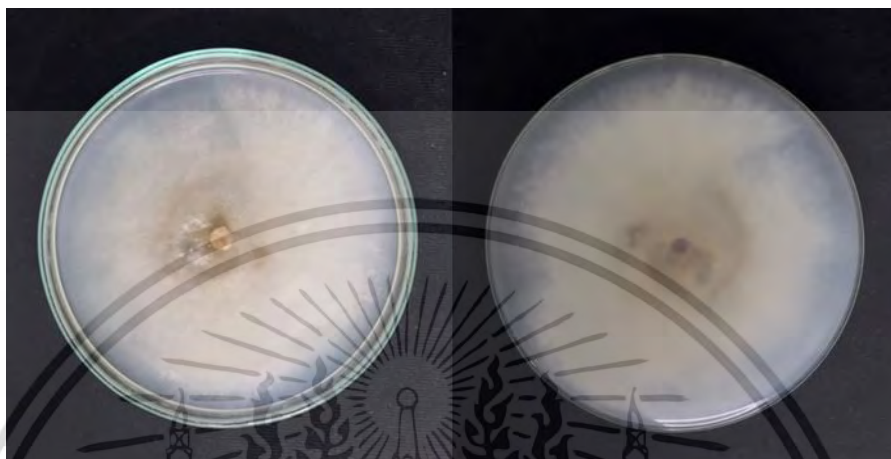


รูปที่ 4.3 แสดงลักษณะเชื้อราไอโซเลท SP22-012 เพาะเลี้ยงบนอาหาร Potato dextrose agar (PDA)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไอโซเลท SP22-013

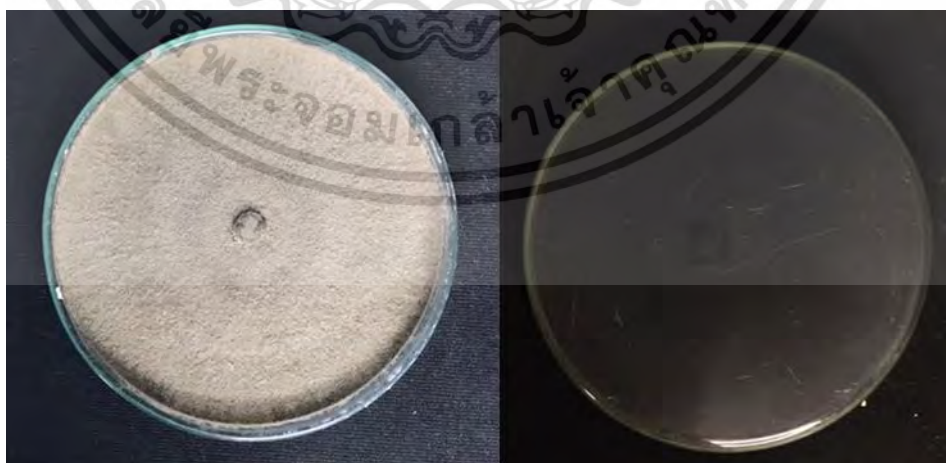
การเจริญของโคโลนีบนอาหาร PDA มีลักษณะของผิวหน้าโคโลนีเป็นวงแหวนซ้อนกันการยกตัวของโคโลนีมีลักษณะแบนราบไปกับผิวหน้าอาหาร รูปร่างโคโลนีมีลักษณะกลม



รูปที่ 4.4 แสดงลักษณะเชื้อราไอโซเลท SP22-013 เพาะเลี้ยงบนอาหาร Potato dextrose agar (PDA)

ไอโซเลท SP22-014

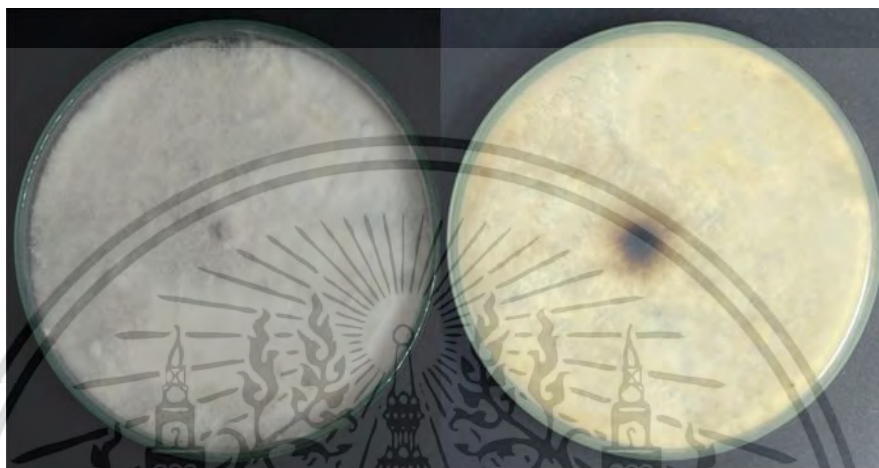
การเจริญของโคโลนีบนอาหาร PDA มีลักษณะของผิวหน้าโคโลนีเหี่ยวย่น การยกตัวของโคโลนีมีลักษณะแบนราบไปกับผิวหน้าอาหารรูปร่างโคโลนีมีลักษณะกลม



รูปที่ 4.5 แสดงลักษณะเชื้อราไอโซเลท SP22-014 เพาะเลี้ยงบนอาหาร Potato dextrose agar เอกสารนี้(PDA)สารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไอโซเลท SP22-015

การเจริญของโคโลนีบนอาหาร PDA มีลักษณะของผิวหน้าโคโลนีเป็นวงแหวนซ้อนกันเป็นชั้น การยกตัวของโคโลนีมีลักษณะยกตัวจากผิวหน้าอาหาร รูปร่างโคโลนีมีลักษณะแบนราบไปกับผิวหน้าอาหาร



รูปที่ 4.6 แสดงลักษณะเชื้อราไอโซเลท SP22-015 เพาะเลี้ยงบนอาหาร Potato dextrose agar (PDA)

ไอโซเลท SP22-016

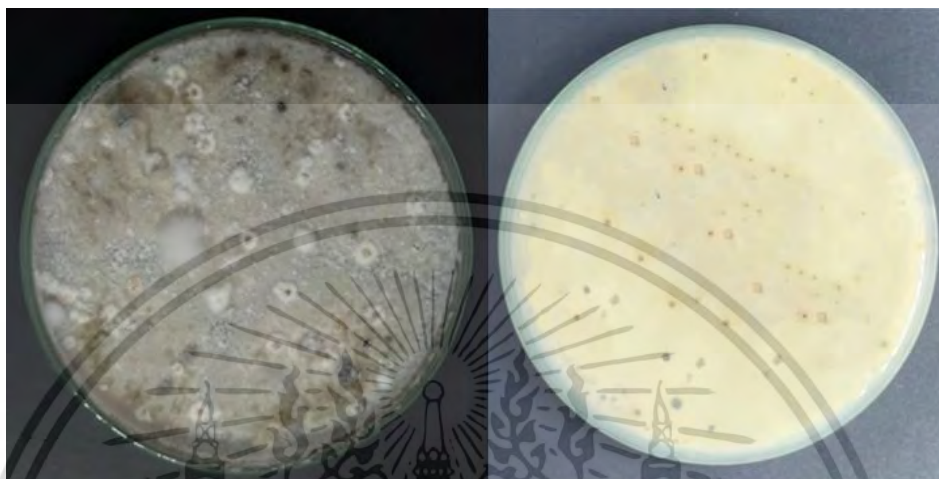
การเจริญของโคโลนีบนอาหาร PDA เจริญโดยมีลักษณะเป็นวงแหวนซ้อนกันเป็นชั้น การยกตัวของโคโลนีมีลักษณะแบนราบไปกับผิวหน้าอาหาร รูปร่างลักษณะโคโลนีมีลักษณะกลม



รูปที่ 4.7 แสดงลักษณะเชื้อราไอโซเลท SP22-016 เพาะเลี้ยงบนอาหาร Potato dextrose agar เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปเผยแพร่บนสื่อออนไลน์
(PDA) ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไอโซเลท SP22-017

การเจริญของโคโลนีบนอาหาร PDA เจริญโดยมีลักษณะเป็นวงแหวนซ้อนกันเป็นชั้น การยักตัวของโคโลนีมีลักษณะแบนราบไปกับผิวหน้าอาหาร รูปร่างลักษณะโคโลนีมีลักษณะกลม



รูปที่ 4.8 แสดงลักษณะเชื้อราไอโซเลท SP22-017 เพาะเลี้ยงบนอาหาร Potato dextrose agar (PDA)

ไอโซเลท SP22-019

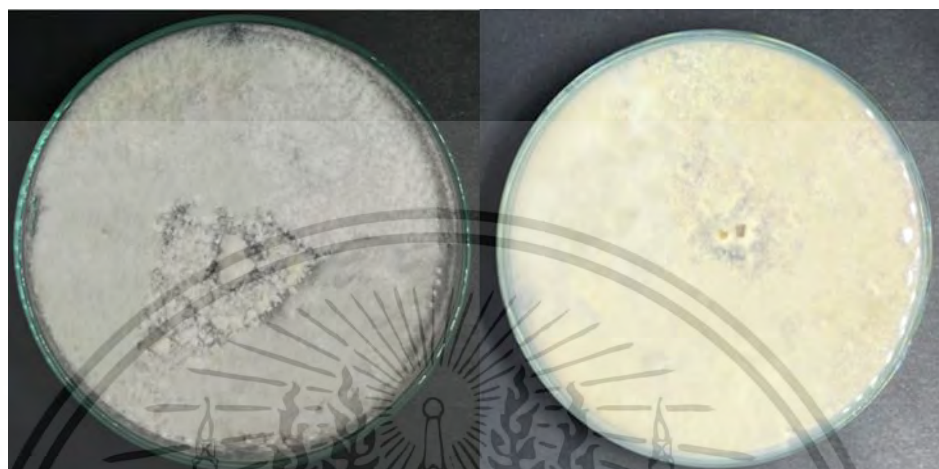
การเจริญของโคโลนีบนอาหาร PDA เจริญโดยมีลักษณะเป็นวงแหวนซ้อนกันเป็นชั้น การยักตัวของโคโลนีมีลักษณะยกจากผิวหน้าอาหารเล็กน้อย รูปร่างลักษณะโคโลนีมีลักษณะกลม



เอกสารนี้รูปที่ 4.9 แสดงลักษณะเชื้อราไอโซเลท SP22-019 เพาะเลี้ยงบนอาหาร Potato dextrose agar (PDA) ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไอโซเลท SP22-020

การเจริญของโคโลนีบนอาหาร PDA เจริญโดยมีลักษณะเป็นวงแหวนซ้อนกันเป็นชั้น การยักตัวของโคโลนีมีลักษณะแบนราบไปกับผิวหน้าอาหาร รูปร่างลักษณะโคโลนีมีลักษณะกลม



รูปที่ 4.10 แสดงลักษณะเชื้อราไอโซเลท SP22-020 เพาะเลี้ยงบนอาหาร Potato dextrose agar (PDA)

ไอโซเลท SP22-022

การเจริญของโคโลนีบนอาหาร PDA เจริญโดยมีลักษณะเป็นวงแหวนซ้อนกันเป็นชั้น การยักตัวของโคโลนีมีลักษณะยกนูนไปกับผิวหน้าอาหารเล็กน้อย รูปร่างลักษณะโคโลนีมีลักษณะกลม

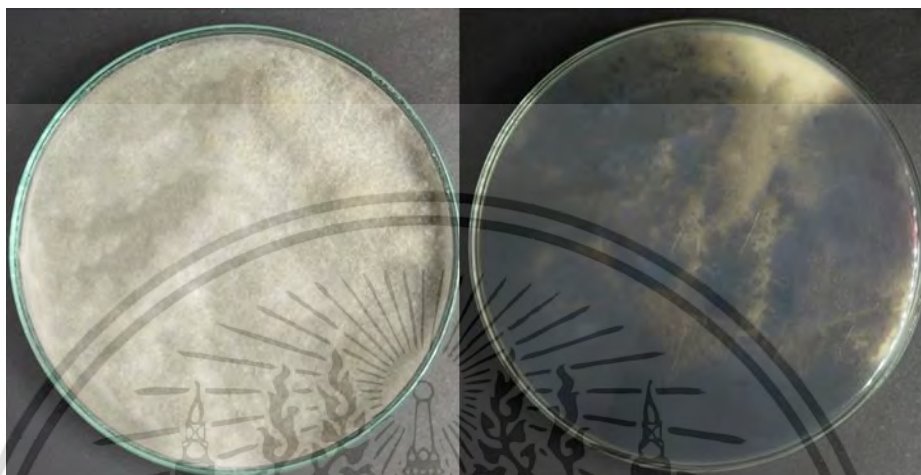


รูปที่ 4.11 แสดงลักษณะเชื้อราไอโซเลท SP22-022 เพาะเลี้ยงบนอาหาร Potato dextrose agar (PDA)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไอโซเลท SP22-023

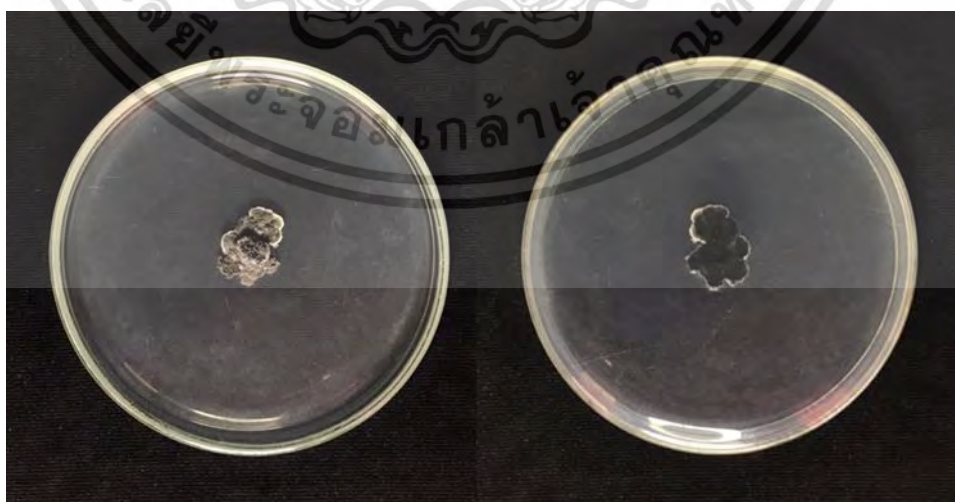
การเจริญของโคโลนีบนอาหาร PDA เจริญโดยมีลักษณะเป็นวงแหวนซ้อนกันเป็นชั้น การยกตัวของโคโลนีมีลักษณะยกนูนไปกับผิวหน้าอาหารเล็กน้อย รูปร่างลักษณะโคโลนีมีลักษณะกลม



รูปที่ 4.12 แสดงลักษณะเชื้อราไอโซเลท SP22-023 เพาะเลี้ยงบนอาหาร Potato dextrose agar (PDA)

ไอโซเลท SP22-024

การเจริญของโคโลนีบนอาหาร PDA เจริญโดยมีลักษณะของผิวหน้าที่เรียบ การยกตัวของโคโลนีมีลักษณะยกตัวจากผิวหน้าอาหารเล็กน้อย รูปร่างลักษณะโคโลนีที่ไม่แน่นอน



รูปที่ 4.13 แสดงลักษณะเชื้อราไอโซเลท SP22-024 เพาะเลี้ยงบนอาหาร Potato dextrose agar เอกสารนี้เป็นเอกสารทสวงนโสภาหรับการใชงานเพื่การศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปเผยแพร่หรืดำเนินการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไอโซเลท SP22-025

การเจริญของโคโลนีบนอาหาร PDA เจริญโดยมีลักษณะเป็นวงแหวนซ้อนกันเป็นชั้น การยักตัวของโคโลนีมีลักษณะแบนราบไปกับผิวหน้าอาหาร รูปร่างลักษณะโคโลนีมีลักษณะกลม



รูปที่ 4.14 แสดงลักษณะเชื้อราไอโซเลท SP22-025 เพาะเลี้ยงบนอาหาร Potato dextrose agar (PDA)

ไอโซเลท SP22-026

การเจริญเติบโตของโคโลนีบนอาหาร PDA โดยมีการเจริญเติบโตที่ช้าและไม่สามารถบอกลักษณะเบื้องต้นได้



รูปที่ 4.15 แสดงลักษณะเชื้อราไอโซเลท SP22-026 เพาะเลี้ยงบนอาหาร Potato dextrose agar เอกสารนี้ (PDA) าสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไอโซเลท SP22-027

การเจริญของโคโลนีบนอาหาร PDA โดยมีการเจริญมีลักษณะของผิวหน้าที่เรียบ การยักตัวของโคโลนีมีลักษณะยกตัวจากผิวหน้าอาหารเล็กน้อย รูปร่างลักษณะโคโลนีไม่แน่นอน



รูปที่ 4.16 แสดงลักษณะเชื้อราไอโซเลท SP22-027 เพาะเลี้ยงบนอาหาร Potato dextrose agar (PDA)

ไอโซเลท SP22-028

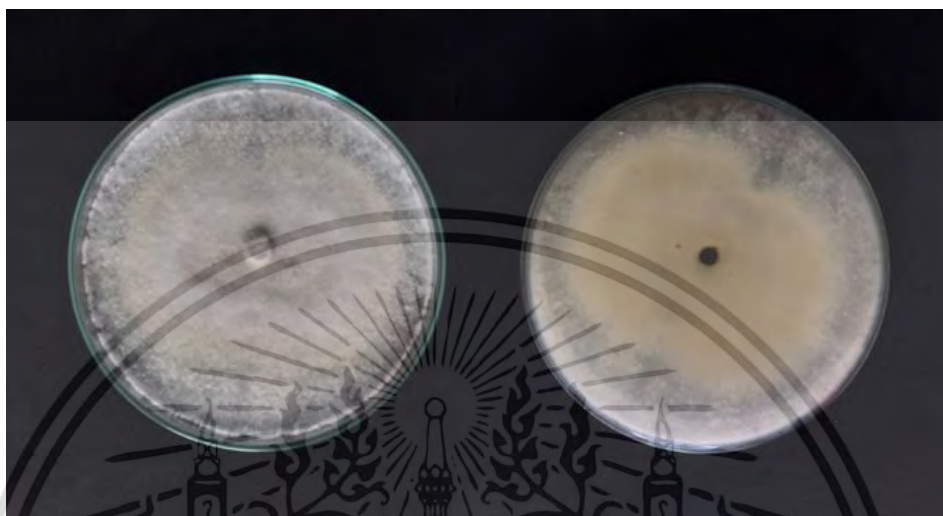
การเจริญของโคโลนีบนอาหาร PDA เจริญโดยมีลักษณะของผิวหน้าที่เรียบ การยักตัวของโคโลนีมีลักษณะยกตัวจากผิวหน้าอาหารเล็กน้อย รูปร่างลักษณะโคโลนีไม่แน่นอน



เอกสารนี้รูปที่ 4.17 แสดงลักษณะเชื้อราไอโซเลท SP22-028 เพาะเลี้ยงบนอาหาร Potato dextrose agar (PDA) ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไอโซเลท SP22-029

การเจริญของโคโลนีบนอาหาร PDA เจริญโดยมีลักษณะเป็นวงแหวนซ้อนกันเป็นชั้น การยกตัวของโคโลนีมีลักษณะแบนราบไปกับผิวหน้าอาหาร รูปร่างลักษณะโคโลนีมีลักษณะกลม



รูปที่ 4.18 แสดงลักษณะเชื้อราไอโซเลท SP22-029 เพาะเลี้ยงบนอาหาร Potato dextrose agar (PDA)

ไอโซเลท SP22-031

การเจริญของโคโลนีบนอาหาร PDA เจริญโดยมีลักษณะของผิวหน้าที่เรียบ การยกตัวของโคโลนีมีลักษณะยกตัวจากผิวหน้าอาหารเล็กน้อย รูปร่างลักษณะโคโลนีไม่แน่นอน



เอกสารนี้รูปที่ 4.19 แสดงลักษณะเชื้อราไอโซเลท SP22-031 เพาะเลี้ยงบนอาหาร Potato dextrose agar (PDA) ไม่ว่าจะ (PDA) ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไอโซเลท SP22-032

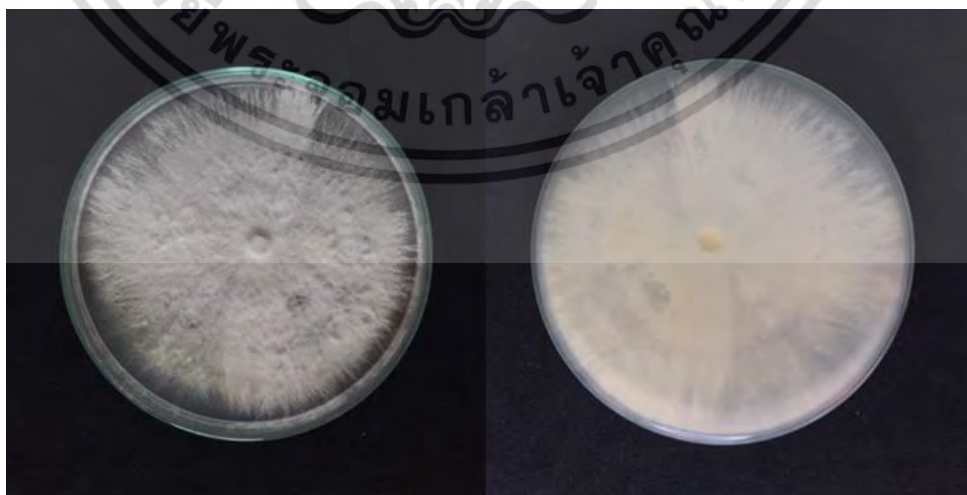
การเจริญของโคโลนีบนอาหาร PDA เจริญโดยมีลักษณะเป็นวงแหวนซ้อนกันเป็นชั้น การยักตัวของโคโลนีมีลักษณะแบนราบไปกับผิวหน้าอาหาร รูปร่างลักษณะโคโลนีมีลักษณะกลม



รูปที่ 4.20 แสดงลักษณะเชื้อราไอโซเลท SP22-032 เพาะเลี้ยงบนอาหาร Potato dextrose agar (PDA)

ไอโซเลท SP22-035

การเจริญของโคโลนีบนอาหาร PDA เจริญโดยมีลักษณะเป็นวงแหวนซ้อนกันเป็นชั้น การยักตัวของโคโลนีมีลักษณะแบนราบไปกับผิวหน้าอาหาร รูปร่างลักษณะโคโลนีมีลักษณะกลม



เอกสารนี้รูปที่ 4.21 แสดงลักษณะเชื้อราไอโซเลท SP22-035 เพาะเลี้ยงบนอาหาร Potato dextrose agar (PDA) ไม่ว่าจะ (PDA) ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไอโซเลท SP22-037

การเจริญของโคโลนีบนอาหาร PDA เจริญโดยมีลักษณะของผิวหน้าที่เรียบ การยกตัวของโคโลนีมีลักษณะยกตัวจากผิวหน้าอาหารเล็กน้อย รูปร่างลักษณะโคโลนีที่ไม่แน่นอน

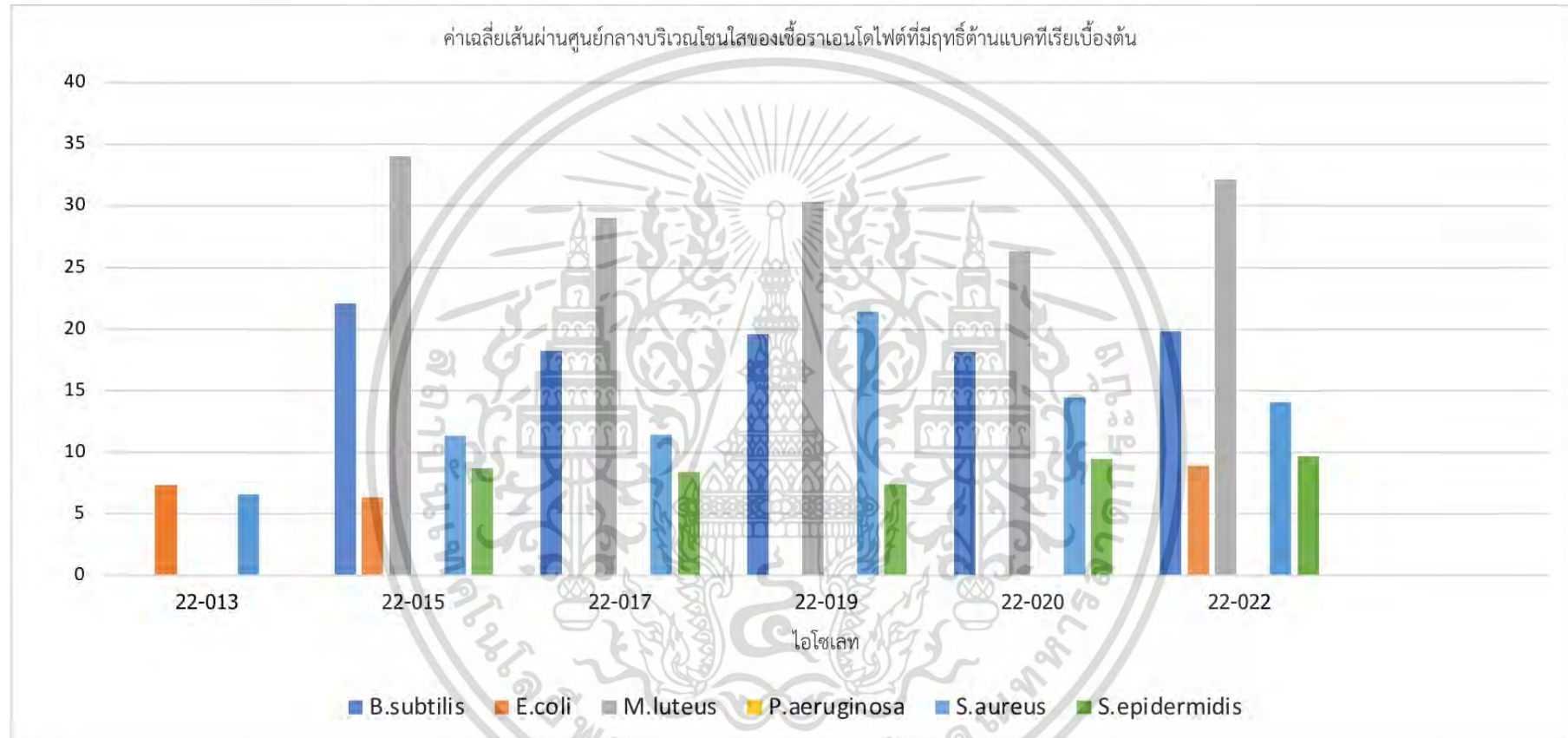


รูปที่ 4.22 แสดงลักษณะเชื้อราไอโซเลท SP22-037 เพาะเลี้ยงบนอาหาร Potato dextrose agar (PDA)

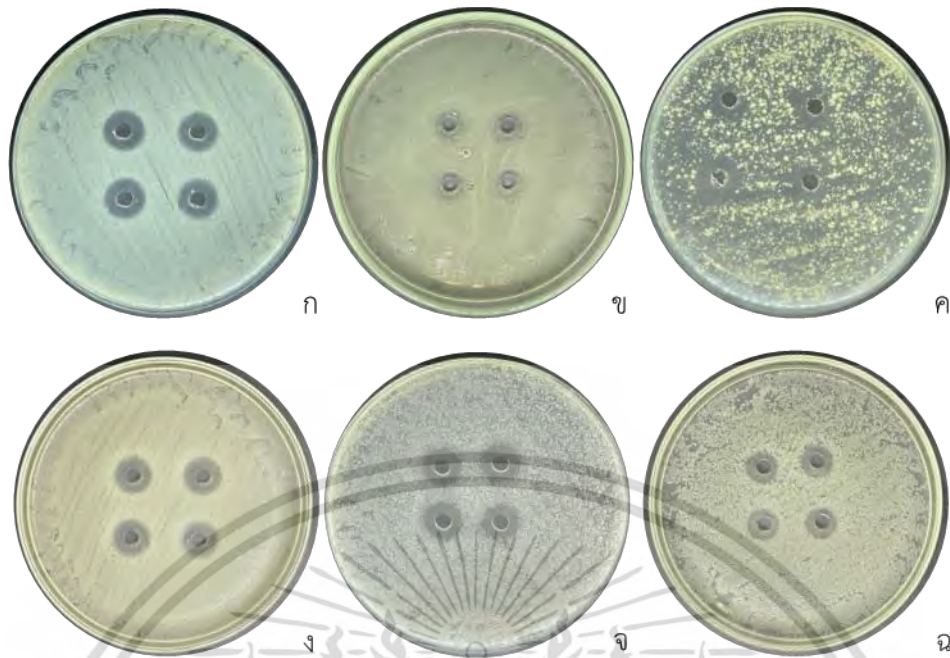
4.2 การคัดเลือกฤทธิ์ต้านแบคทีเรียเบื้องต้นของเชื้อราเอนโดไฟต์จากต้นกระมอขบโดยวิธี Agar plug diffusion

ผลการทดสอบของเชื้อราเอนโดไฟต์ทั้งหมด 21 ไอโซเลท พบว่ามี 15 ไอโซเลทที่ไม่เกิดบริเวณโซนใส (Clear zone) (รูปที่ 4.8) หรือไม่สร้างสารที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียทั้ง 6 ชนิด (Stain) คือ *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Micrococcus luteus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* และ *S. epidermidis* แต่พบว่าที่มีเกิดบริเวณโซนใสกับเชื้อแบคทีเรีย 6 ชนิด (Stain) โดยมีรายละเอียดดังนี้ แบคทีเรียแกรมบวกนั้นมี 5 ไอโซเลท คือ 22-015, 22-017, 22-019, 22-020 และ 22-022 ที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อ *B. subtilis*, *M. luteus*, *S. aureus* และ *S. epidermidis* และยังมีไอโซเลท 22-013 ที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อ *S. aureus* ได้ สำหรับแบคทีเรียแกรมลบนั้นพบว่าเชื้อราเอนโดไฟต์มีเพียง 3 ไอโซเลท คือ 22-013, 22-015 และ 22-022 ที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อ *E. coli* เท่านั้น รูปที่ (4.25, 4.26 และ 4.30) และไม่มีไอโซเลทไหนที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อ *P. aeruginosa* ดังมีรายละเอียดแสดงในตารางที่ 4.1 และรูปที่ 4.2 ตามการรายงานของ Rio Janina และคณะ (2022) ได้ศึกษาฤทธิ์ต้านแบคทีเรียจาก *Christella* sp. ในส่วนของวิธี Agar plug diffusion พบว่ามีฤทธิ์ต้าน *B. subtilis* และ *S. aureus*

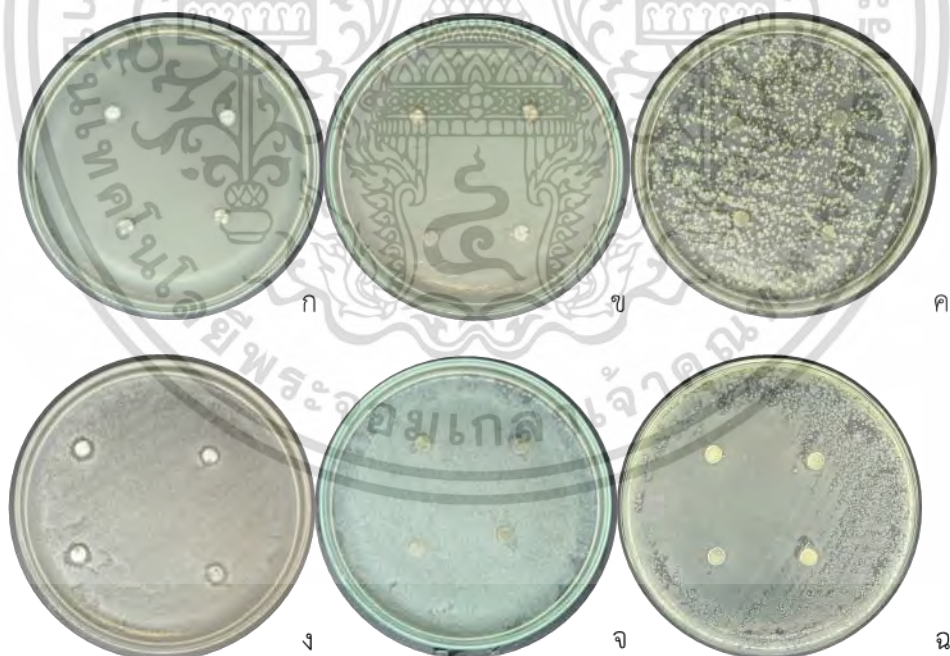
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.23 ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณโซนใส (Clear zone) ของไอโซเลทเชื้อราเอนโดไฟต์จากต้นกระมอบที่มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียเบื้องต้น

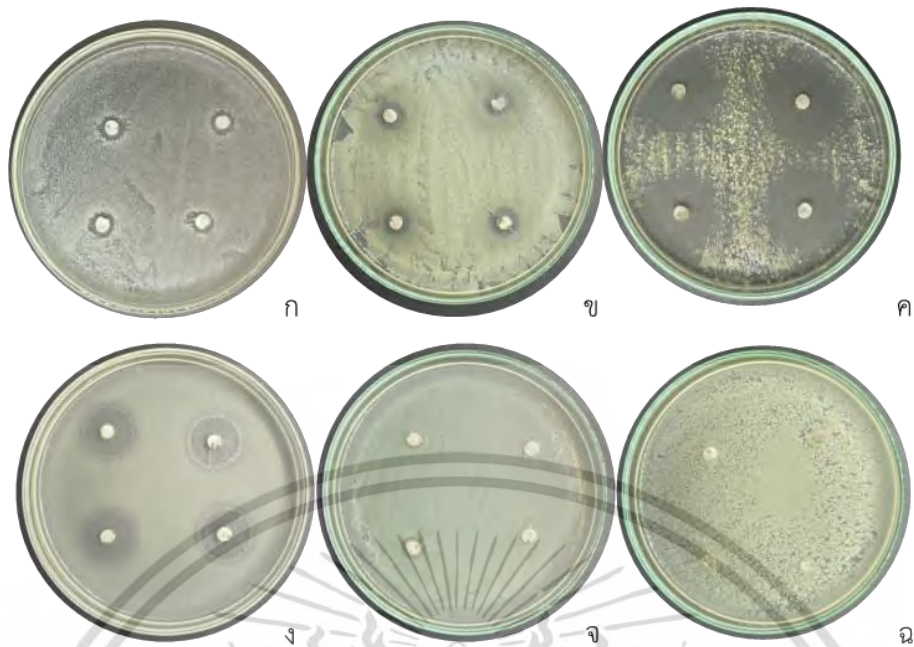


รูปที่ 4.24 การตรวจสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียเบื้องต้นของตัวควบคุมชีวภาพ โดยมียา Gentamicin เป็นตัวควบคุมการต้านแบคทีเรียโดยมีกลุ่มแบคทีเรียทดสอบ คือ *B. subtilis* (ก) *E. coli* (ข) *M. luteus* (ค) *S. aureus* (ง) *S. epidermidis* (จ) *P. aeruginosa* (ฉ)

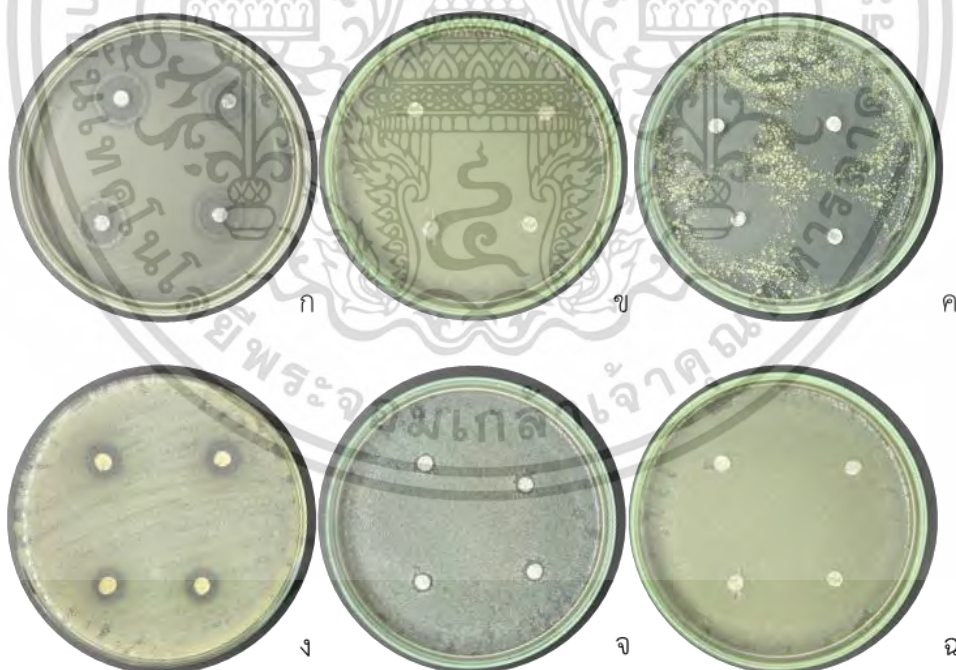


รูปที่ 4.25 ตัวอย่างกลุ่มที่มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียกับเชื้อแบคทีเรีย 6 ชนิดของราเอนโดไฟต์จากต้นกระมอโบโฮเลขที่ 22-013 บนอาหาร PDA โดยมีกลุ่มแบคทีเรียทดสอบ คือ *B. subtilis* (ก) *E. coli* (ข) *M. luteus* (ค) *S. aureus* (ง) *S. epidermidis* (จ) *P. aeruginosa* (ฉ)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

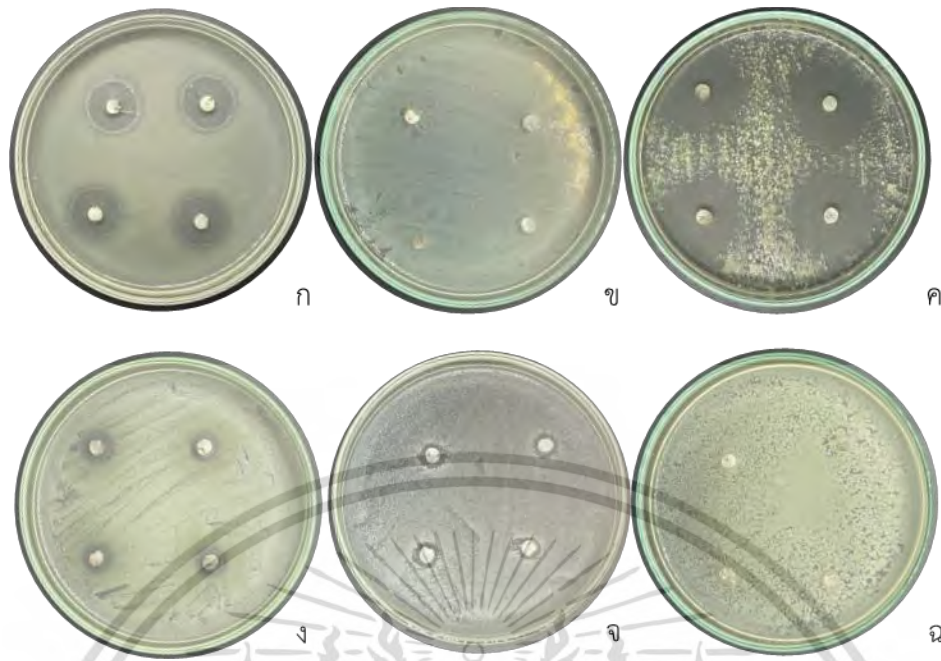


รูปที่ 4.26 ตัวอย่างกลุ่มที่มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียกับเชื้อแบคทีเรีย 6 ชนิดของราเอนโดไฟต์จากต้นกระมอบไอโซเลท 22-015 บนอาหาร PDA โดยมีกลุ่มแบคทีเรียทดสอบ คือ *B. subtilis* (ก) *E. coli* (ข) *M. luteus* (ค) *S. aureus* (ง) *S. epidermidis* (จ) *P. aeruginosa* (ฉ)

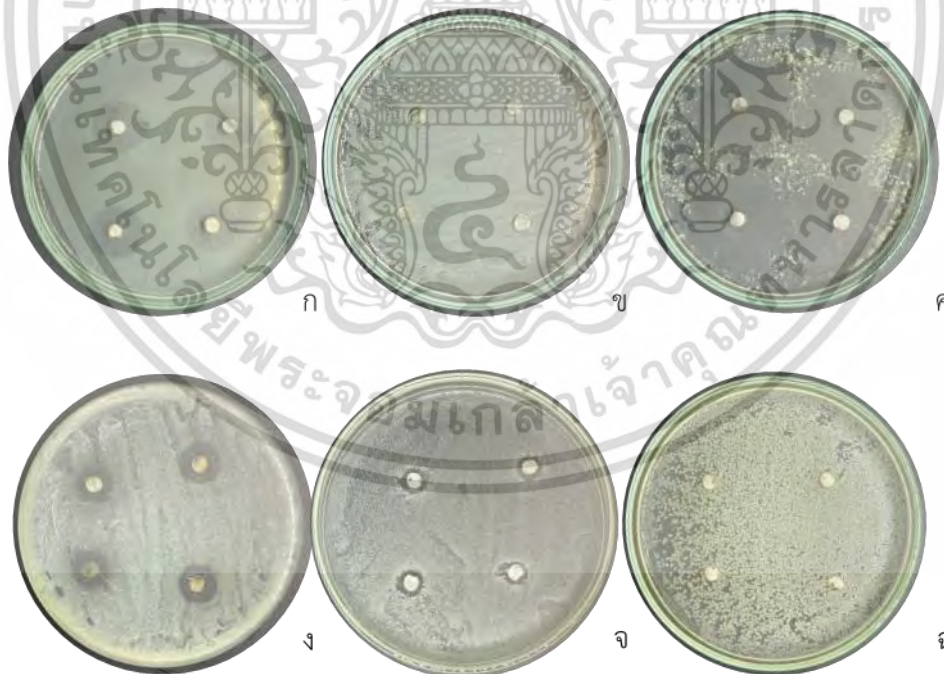


รูปที่ 4.27 ตัวอย่างกลุ่มที่มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียกับเชื้อแบคทีเรีย 6 ชนิดของราเอนโดไฟต์จากต้นกระมอบไอโซเลท 22-017 บนอาหาร PDA โดยมีกลุ่มแบคทีเรียทดสอบ คือ *B. subtilis* (ก) *E. coli* (ข) *M. luteus* (ค) *S. aureus* (ง) *S. epidermidis* (จ) *P. aeruginosa* (ฉ)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

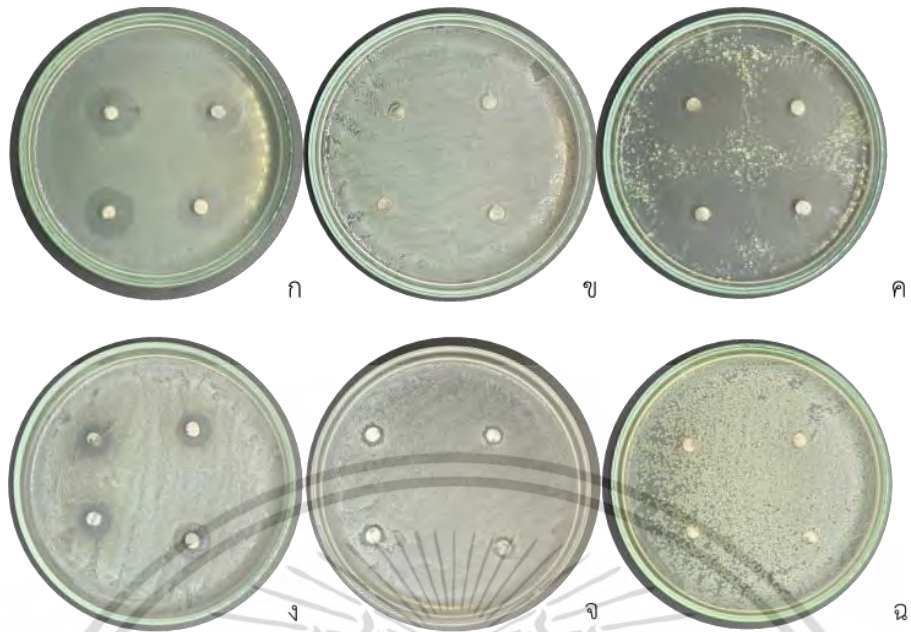


รูปที่ 4.28 ตัวอย่างกลุ่มที่มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียกับเชื้อแบคทีเรีย 6 ชนิดของราเอนโดไฟต์จากต้นกระมอบไอโซเลท 22-019 บนอาหาร PDA โดยมีกลุ่มแบคทีเรียทดสอบ คือ *B. subtilis* (ก) *E. coli* (ข) *M. luteus* (ค) *S. aureus* (ง) *S. epidermidis* (จ) *P. aeruginosa* (ฉ)

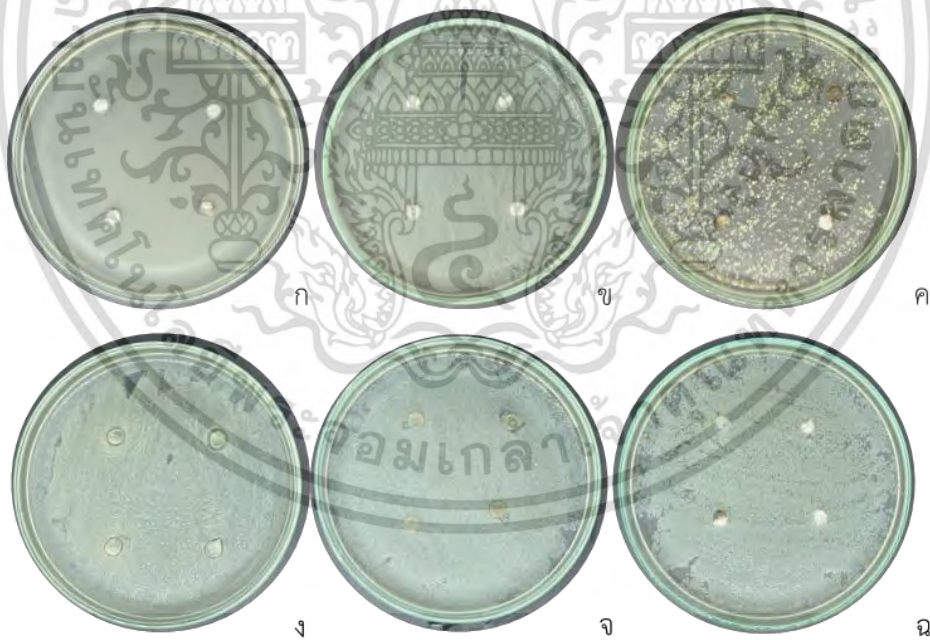


รูปที่ 4.29 ตัวอย่างกลุ่มที่มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียกับเชื้อแบคทีเรีย 6 ชนิดของราเอนโดไฟต์จากต้นกระมอบไอโซเลท 22-020 บนอาหาร PDA โดยมีกลุ่มแบคทีเรียทดสอบ คือ *B. subtilis* (ก) *E. coli* (ข) *M. luteus* (ค) *S. aureus* (ง) *S. epidermidis* (จ) *P. aeruginosa* (ฉ)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.30 ตัวอย่างกลุ่มที่มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียกับเชื้อแบคทีเรีย 6 ชนิดของราเอนโดไฟต์จากต้นกระมอบไอโซเลท 22-022 บนอาหาร PDA โดยมีกลุ่มแบคทีเรียทดสอบ คือ *B. subtilis* (ก) *E. coli* (ข) *M. luteus* (ค) *S. aureus* (ง) *S. epidermidis* (จ) *P. aeruginosa* (ฉ)



รูปที่ 4.31 ตัวอย่างกลุ่มที่ไม่มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียกับเชื้อแบคทีเรีย 6 ชนิดของราเอนโดไฟต์จากต้นกระมอบไอโซเลท 22-016 บนอาหาร PDA โดยมีกลุ่มแบคทีเรียทดสอบ คือ *B. subtilis* (ก) *E. coli* (ข) *M. luteus* (ค) *S. aureus* (ง) *S. epidermidis* (จ) *P. aeruginosa* (ฉ)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาการเจริญเติบโตของเชื้อราเอนโดไฟต์จากต้นกระบองบอนอาหาร Potato dextrose agar (PDA) พบว่าเชื้อราไอโซเลท 22-010 มีค่าเฉลี่ยการเจริญเติบโตเร็วที่สุด ซึ่งใกล้เคียงงานเพาะเลี้ยงเชื้อภายใน 4 วัน (54.82 มิลลิเมตร) และ เชื้อราไอโซเลท 22-026 มีค่าเฉลี่ยการเจริญเติบโตน้อยสุด โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลาง (6.25 มิลลิเมตร) ในวันที่ 4

จากการตรวจสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียเบื้องต้นโดยวิธี Agar plug diffusion ของเชื้อราเอนโดไฟต์จากต้นกระบองบอนทั้ง 21 ไอโซเลทกับเชื้อแบคทีเรีย 6 ชนิด (*Stain*) *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Micrococcus luteus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* และ *S. epidermidis* พบว่าเชื้อราเอนโดไฟต์จากต้นกระบองบอนมี 6 ไอโซเลทที่มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย คือ 22-013, 22-015, 22-017, 22-019, 22-020 และ 22-022 และมี 15 ไอโซเลทที่ไม่มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียเบื้องต้น

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 สกัดสารที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพจากราเอนโดไฟต์ แล้วนำสารที่ได้มาพัฒนาต่อไป

5.2.2 ตรวจสอบฤทธิ์ด้านอื่น ๆ เพิ่มเติม อย่างเช่น การตรวจสอบชีวเคมี (Biochemical) และ ฤทธิ์ต้านเชื้อรา (Antifungal)

เอกสารอ้างอิง

- เจนจิรา มารมย์, นิสา ไกรรักษ์ และ อภิรดี ปิรันธนภคย.2555. ฤทธิ์ของสารสกัดจากราเอนโดไฟท์พืชชายเลนในการยับยั้งราปนเปื้อนบนเมล็ดพันธุ์ข้าวเปลือก. [Online]. https://www.ubu.ac.th/web/files_up/32f2016110317380328.pdf
- Donnenberg S, M. and Whittam S, T. 2001. Pathogenesis and evolution of virulence in enteropathogenic and enterohemorrhagic *Escherichia coli*. *J Clin Invest*. 107(5):539–548.
- Cheung C, G. Bae S, J. and Otto M. 2021. Pathogenicity and virulence of *Staphylococcus aureus*. 12(1): 547-569.
- Donnenberg S, M. and Whittam S, T. 2001. Pathogenesis and evolution of virulence in enteropathogenic and enterohemorrhagic *Escherichia coli*. *J Clin Invest*. 107(5):539–548.
- Earl M, A. Losick R. and Kolter R. 2008. Ecology and genomics of *Bacillus subtilis*. *Trends Microbiol*. 16(6): 269. <https://actamedicaphilippina.upm.edu.ph/index.php/acta/article/download/1417/2428/1railto>
- Kevin D. Hyde, Jayarama D. Bhat และคณะ.2018.การจำแนกเชื้อราเอนโดไฟต์. <https://medthai.com/%e0%b8%ad%e0%b8%99/> | Medthai
- Rio Janina B. Arenas, Ren Mark D. Villanueva และคณะ .2022.agar plug diffussion. file:///C:/Users/NITRO%205/Downloads/pruksa
- Prazeres, dos Santos และ คณะ 2015 การจำแนกเชื้อราเอนโดไฟต์ <https://mycokeys.pensoft.net/article/23670/file:///C:/Users/NITRO%205/Downloads/knwarang>

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนี

ตารางที่ 1 แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีบนอาหาร Potato dextros w agar (PDA)

ไอโซเลท	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนี (มิลลิเมตร) บนอาหาร PDA		
	วันที่ 0	วันที่ 2	วันที่ 4
22-010	5.00	45.7	54.82
22-012	5.00	15.61	20.39
22-013	5.00	17.09	21.50
22-014	5.00	29.10	40.69
22-015	5.00	34.11	44.77
22-016	5.00	28.01	48.78
22-017	5.00	31.30	50.64
22-019	5.00	34.01	50.81
22-020	5.00	29.76	38.82
22-022	5.00	30.85	40.77
22-023	5.00	28.94	41.60
22-024	5.00	13.67	14.99
22-025	5.00	15.96	24.30
22-026	5.00	6.04	6.25
22-027	5.00	32.54	38.63
22-028	5.00	23.87	29.74
22-029	5.00	34.41	46.60
22-031	5.00	15.14	21.24
22-032	5.00	18.48	26.69
22-035	5.00	45.84	53.60
22-037	5.00	11.20	20.23

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2 เส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณโซนใสของเชื้อราเอนโดไฟต์ที่แยกได้จากต้นกระบองทั้ง 21 ไอโซเลทโดยวิธี Agar plug diffusion method

ไอโซเลท	เชื้อแบคทีเรีย	ชุดควบคุมการทดสอบ (มิลลิเมตร)	เส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณโซนใส (มิลลิเมตร)	การอ่านผลขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง บริเวณโซนใส(มิลลิเมตร)
22-010	<i>B. subtilis</i>	12.23±1.14	0.00±0.00	-
	<i>E. coli</i>	16.37±0.31	0.00±0.00	-
	<i>M. luteus</i>	13.5±0.17	0.00±0.00	-
	<i>S. aureus</i>	14.95±0.57	0.00±0.00	-
	<i>S. epidermidis</i>	13.94±1.25	0.00±0.00	-
	<i>P. aeruginosa</i>	12.80±0.79	0.00±0.00	-
22-012	<i>B. subtilis</i>	12.23±1.14	0.00±0.00	-
	<i>E. coli</i>	16.37±0.31	0.00±0.00	-
	<i>M. luteus</i>	13.5±0.17	0.00±0.00	-
	<i>S. aureus</i>	14.95±0.57	0.00±0.00	-
	<i>S. epidermidis</i>	13.94±1.25	0.00±0.00	-
	<i>P. aeruginosa</i>	12.80±0.79	0.00±0.00	-

ตารางที่ 2 เส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณโซนใสของเชื้อราเอนโดไฟต์ที่แยกได้จากต้นกระบองทั้ง 21 ไอโซเลทโดยวิธี Agar plug diffusion method(ต่อ)

ไอโซเลท	เชื้อแบคทีเรีย	ชุดควบคุมการทดสอบ (มิลลิเมตร)	เส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณโซนใส (มิลลิเมตร)	การอ่านผลขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง บริเวณโซนใส(มิลลิเมตร)
22-013	<i>B. subtilis</i>	12.23±1.14	0.00±0.00	-
	<i>E. coli</i>	16.37±0.31	7.34±0.91	++
	<i>M. luteus</i>	13.5±0.17	0.00±0.00	-
	<i>S. aureus</i>	14.95±0.57	6.58±0.51	++
	<i>S. epidermidis</i>	13.94±1.25	0.00±0.00	-
	<i>P. aeruginosa</i>	12.80±0.79	0.00±0.00	-
22-014	<i>B. subtilis</i>	12.23±1.14	0.00±0.00	-
	<i>E. coli</i>	16.37±0.31	0.00±0.00	-
	<i>M. luteus</i>	13.5±0.17	0.00±0.00	-
	<i>S. aureus</i>	14.95±0.57	0.00±0.00	-
	<i>S. epidermidis</i>	13.94±1.25	0.00±0.00	-
	<i>P. aeruginosa</i>	12.80±0.79	0.00±0.00	-

ตารางที่ 2 เส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณโซนใสของเชื้อราเอนโดไฟต์ที่แยกได้จากต้นกระบองทั้ง 21 ไอโซเลทโดยวิธี Agar plug diffusion method(ต่อ)

ไอโซเลท	เชื้อแบคทีเรีย	ชุดควบคุมการทดสอบ (มิลลิเมตร)	เส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณโซนใส (มิลลิเมตร)	การอ่านผลขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง บริเวณโซนใส(มิลลิเมตร)
22-015	<i>B. subtilis</i>	12.23±1.14	22.12±1.77	+++
	<i>E. coli</i>	16.37±0.31	6.36±0.63	++
	<i>M. luteus</i>	13.5±0.17	34.05±2.24	+++
	<i>S. aureus</i>	14.95±0.57	11.37±1.51	+++
	<i>S. epidermidis</i>	13.94±1.25	8.76±0.88	++
	<i>P. aeruginosa</i>	12.80±0.79	0.00±0.00	-
22-016	<i>B. subtilis</i>	12.23±1.14	0.00±0.00	-
	<i>E. coli</i>	16.37±0.31	0.00±0.00	-
	<i>M. luteus</i>	13.5±0.17	0.00±0.00	-
	<i>S. aureus</i>	14.95±0.57	0.00±0.00	-
	<i>S. epidermidis</i>	13.94±1.25	0.00±0.00	-
	<i>P. aeruginosa</i>	12.80±0.79	0.00±0.00	-

ตารางที่ 2 เส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณโซนใสของเชื้อราเอนโดไฟต์ที่แยกได้จากต้นกระบองทั้ง 21 ไอโซเลทโดยวิธี Agar plug diffusion method(ต่อ)

ไอโซเลท	เชื้อแบคทีเรีย	ชุดควบคุมการทดสอบ (มิลลิเมตร)	เส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณโซนใส (มิลลิเมตร)	การอ่านผลขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง บริเวณโซนใส(มิลลิเมตร)
22-017	<i>B. subtilis</i>	12.23±1.14	18.28±0.84	+++
	<i>E. coli</i>	16.37±0.31	0.00±0.00	-
	<i>M. luteus</i>	13.5±0.17	29.04±7.95	+++
	<i>S. aureus</i>	14.95±0.57	11.45±1.64	+++
	<i>S. epidermidis</i>	13.94±1.25	8.4±1.41	++
	<i>P. aeruginosa</i>	12.80±0.79	0.00±0.00	-
22-019	<i>B. subtilis</i>	12.23±1.14	19.60±1.28	+++
	<i>E. coli</i>	16.37±0.31	21.45±2.76	+++
	<i>M. luteus</i>	13.5±0.17	7.46±1.02	++
	<i>S. aureus</i>	14.95±0.57	0.00±0.00	-
	<i>S. epidermidis</i>	13.94±1.25	30.32±1.79	+++
	<i>P. aeruginosa</i>	12.80±0.79	0.00±0.00	-

ตารางที่ 2 เส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณโซนใสของเชื้อราเอนโดไฟต์ที่แยกได้จากต้นกระบองทั้ง 21 ไอโซเลทโดยวิธี Agar plug diffusion method(ต่อ)

ไอโซเลท	เชื้อแบคทีเรีย	ชุดควบคุมการทดสอบ (มิลลิเมตร)	เส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณโซนใส (มิลลิเมตร)	การอ่านผลขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง บริเวณโซนใส(มิลลิเมตร)
22-020	<i>B. subtilis</i>	12.23±1.14	18.15±1.63	+++
	<i>E. coli</i>	16.37±0.31	0.00±0.00	-
	<i>M. luteus</i>	13.5±0.17	26.32±1.77	+++
	<i>S. aureus</i>	14.95±0.57	14.47±1.46	+++
	<i>S. epidermidis</i>	13.94±1.25	9.51±0.48	++
	<i>P. aeruginosa</i>	12.80±0.79	0.00±0.00	-
22-022	<i>B. subtilis</i>	12.23±1.14	19.83±0.73	+++
	<i>E. coli</i>	16.37±0.31	8.92±0.88	++
	<i>M. luteus</i>	13.5±0.17	32.12±0.61	+++
	<i>S. aureus</i>	14.95±0.57	14.12±0.61	+++
	<i>S. epidermidis</i>	13.94±1.25	9.7±0.60	++
	<i>P. aeruginosa</i>	12.80±0.79	0.00±0.00	-

ตารางที่ 2 เส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณโซนใสของเชื้อราเอนโดไฟต์ที่แยกได้จากต้นกระบองทั้ง 21 ไอโซเลทโดยวิธี Agar plug diffusion method(ต่อ)

ไอโซเลท	เชื้อแบคทีเรีย	ชุดควบคุมการทดสอบ (มิลลิเมตร)	เส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณโซนใส (มิลลิเมตร)	การอ่านผลขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง บริเวณโซนใส(มิลลิเมตร)
22-023	<i>B. subtilis</i>	12.23±1.14	0.00±0.00	-
	<i>E. coli</i>	16.37±0.31	0.00±0.00	-
	<i>M. luteus</i>	13.5±0.17	0.00±0.00	-
	<i>S. aureus</i>	14.95±0.57	0.00±0.00	-
	<i>S. epidermidis</i>	13.94±1.25	0.00±0.00	-
	<i>P. aeruginosa</i>	12.80±0.79	0.00±0.00	-
22-024	<i>B. subtilis</i>	12.23±1.14	0.00±0.00	-
	<i>E. coli</i>	16.37±0.31	0.00±0.00	-
	<i>M. luteus</i>	13.5±0.17	0.00±0.00	-
	<i>S. aureus</i>	14.95±0.57	0.00±0.00	-
	<i>S. epidermidis</i>	13.94±1.25	0.00±0.00	-
	<i>P. aeruginosa</i>	12.80±0.79	0.00±0.00	-

ตารางที่ 2 เส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณโซนใสของเชื้อราเอนโดไฟต์ที่แยกได้จากต้นกระบองทั้ง 21 ไอโซเลทโดยวิธี Agar plug diffusion method(ต่อ)

ไอโซเลท	เชื้อแบคทีเรีย	ชุดควบคุมการทดสอบ (มิลลิเมตร)	เส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณโซนใส (มิลลิเมตร)	การอ่านผลขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง บริเวณโซนใส(มิลลิเมตร)
22-025	<i>B. subtilis</i>	12.23±1.14	0.00±0.00	-
	<i>E. coli</i>	16.37±0.31	0.00±0.00	-
	<i>M. luteus</i>	13.5±0.17	0.00±0.00	--
	<i>S. aureus</i>	14.95±0.57	0.00±0.00	-
	<i>S. epidermidis</i>	13.94±1.25	0.00±0.00	--
	<i>P. aeruginosa</i>	12.80±0.79	0.00±0.00	-
22-026	<i>B. subtilis</i>	12.23±1.14	0.00±0.00	-
	<i>E. coli</i>	16.37±0.31	0.00±0.00	-
	<i>M. luteus</i>	13.5±0.17	0.00±0.00	-
	<i>S. aureus</i>	14.95±0.57	0.00±0.00	-
	<i>S. epidermidis</i>	13.94±1.25	0.00±0.00	-
	<i>P. aeruginosa</i>	12.80±0.79	0.00±0.00	-

ตารางที่ 2 เส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณโซนใสของเชื้อราเอนโดไฟต์ที่แยกได้จากต้นกระบองทั้ง 21 ไอโซเลทโดยวิธี Agar plug diffusion method(ต่อ)

ไอโซเลท	เชื้อแบคทีเรีย	ชุดควบคุมการทดสอบ (มิลลิเมตร)	เส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณโซนใส (มิลลิเมตร)	การอ่านผลขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง บริเวณโซนใส(มิลลิเมตร)
22-027	<i>B. subtilis</i>	12.23±1.14	0.00±0.00	-
	<i>E. coli</i>	16.37±0.31	0.00±0.00	-
	<i>M. luteus</i>	13.5±0.17	0.00±0.00	-
	<i>S. aureus</i>	14.95±0.57	0.00±0.00	-
	<i>S. epidermidis</i>	13.94±1.25	0.00±0.00	-
	<i>P. aeruginosa</i>	12.80±0.79	0.00±0.00	-
22-028	<i>B. subtilis</i>	12.23±1.14	0.00±0.00	-
	<i>E. coli</i>	16.37±0.31	0.00±0.00	-
	<i>M. luteus</i>	13.5±0.17	0.00±0.00	-
	<i>S. aureus</i>	14.95±0.57	0.00±0.00	-
	<i>S. epidermidis</i>	13.94±1.25	0.00±0.00	-
	<i>P. aeruginosa</i>	12.80±0.79	0.00±0.00	-

ตารางที่ 2 เส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณโซนใสของเชื้อราเอนโดไฟต์ที่แยกได้จากต้นกระบองทั้ง 21 ไอโซเลทโดยวิธี Agar plug diffusion method(ต่อ)

ไอโซเลท	เชื้อแบคทีเรีย	ชุดควบคุมการทดสอบ (มิลลิเมตร)	เส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณโซนใส (มิลลิเมตร)	การอ่านผลขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง บริเวณโซนใส(มิลลิเมตร)
22-029	<i>B. subtilis</i>	12.23±1.14	0.00±0.00	-
	<i>E. coli</i>	16.37±0.31	0.00±0.00	-
	<i>M. luteus</i>	13.5±0.17	0.00±0.00	-
	<i>S. aureus</i>	14.95±0.57	0.00±0.00	-
	<i>S. epidermidis</i>	13.94±1.25	0.00±0.00	-
	<i>P. aeruginosa</i>	12.80±0.79	0.00±0.00	-
22-031	<i>B. subtilis</i>	12.23±1.14	0.00±0.00	-
	<i>E. coli</i>	16.37±0.31	0.00±0.00	-
	<i>M. luteus</i>	13.5±0.17	0.00±0.00	-
	<i>S. aureus</i>	14.95±0.57	0.00±0.00	-
	<i>S. epidermidis</i>	13.94±1.25	0.00±0.00	-
	<i>P. aeruginosa</i>	12.80±0.79	0.00±0.00	-

ตารางที่ 2 เส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณโซนใสของเชื้อราเอนโดไฟต์ที่แยกได้จากต้นกระบองทั้ง 21 ไอโซเลทโดยวิธี Agar plug diffusion method(ต่อ)

ไอโซเลท	เชื้อแบคทีเรีย	ชุดควบคุมการทดสอบ (มิลลิเมตร)	เส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณโซนใส (มิลลิเมตร)	การอ่านผลขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง บริเวณโซนใส(มิลลิเมตร)
22-032	<i>B. subtilis</i>	12.23±1.14	0.00±0.00	-
	<i>E. coli</i>	16.37±0.31	0.00±0.00	-
	<i>M. luteus</i>	13.5±0.17	0.00±0.00	-
	<i>S. aureus</i>	14.95±0.57	0.00±0.00	-
	<i>S. epidermidis</i>	13.94±1.25	0.00±0.00	-
	<i>P. aeruginosa</i>	12.80±0.79	0.00±0.00	-
22-035	<i>B. subtilis</i>	12.23±1.14	0.00±0.00	-
	<i>E. coli</i>	16.37±0.31	0.00±0.00	-
	<i>M. luteus</i>	13.5±0.17	0.00±0.00	-
	<i>S. aureus</i>	14.95±0.57	0.00±0.00	-
	<i>S. epidermidis</i>	13.94±1.25	0.00±0.00	-
	<i>P. aeruginosa</i>	12.80±0.79	0.00±0.00	-

ตารางที่ 2 เส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณโซนใสของเชื้อราเอนโดไฟต์ที่แยกได้จากต้นกระบองทั้ง 21 ไอโซเลทโดยวิธี Agar plug diffusion method(ต่อ)

ไอโซเลท	เชื้อแบคทีเรีย	ชุดควบคุมการทดสอบ (มิลลิเมตร)	เส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณโซนใส (มิลลิเมตร)	การอ่านผลขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง บริเวณโซนใส(มิลลิเมตร)
22-037	<i>B. subtilis</i>	12.23±1.14	0.00±0.00	-
	<i>E. coli</i>	16.37±0.31	0.00±0.00	-
	<i>M. luteus</i>	13.5±0.17	0.00±0.00	-
	<i>S. aureus</i>	14.95±0.57	0.00±0.00	-
	<i>S. epidermidis</i>	13.94±1.25	0.00±0.00	-
	<i>P. aeruginosa</i>	12.80±0.79	0.00±0.00	-

หมายเหตุ : ขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณโซนใสแสดงเป็นค่าเฉลี่ย \pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD)

การอ่านผล

- หมายถึง ไม่เกิดบริเวณใส
- + หมายถึง เกิดบริเวณใสและมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณโซนใสอยู่ในช่วงน้อยกว่า 5 มิลลิเมตร
- ++ หมายถึง เกิดบริเวณใส และมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณใสอยู่ในช่วง 5-10 มิลลิเมตร
- +++ หมายถึง เกิดบริเวณใส และมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณใสอยู่ในช่วงมากกว่า 10 มิลลิเมตร



งานทะเบียนคณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
คำรับรองเล่มโครงการพิเศษ

วันที่ 28 เดือน มิถุนายน พ.ศ. 2566

ข้าพเจ้า นางสาว กิตติญาภรณ์ ยิ้มเขียว รหัสประจำตัว 62050570

นางสาว นูรอัดนิน เบ็ญซอและ รหัสประจำตัว 62050616

นักศึกษาหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม ภาควิชาชีววิทยา ขอรับรองว่า
โครงการพิเศษ เรื่อง

การคัดเลือกเชื้อราเอนโดไฟท์จากต้นกระมอที่มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียเบื้องต้น

Screening Antibacterial Activity of Endophytic Fungi from *Gardenia obtusifolia* Roxb

ปีการศึกษา 2565

เป็นผลงานวิจัยที่มีได้คัดลอกหรือละเมิดลิขสิทธิ์ของผู้อื่นและได้ผ่านการตรวจสอบความซ้ำซ้อน
เรียบร้อยแล้ว และได้แนบเอกสารการตรวจสอบการลอกเลียนงานวรรณกรรมที่ตรวจสอบจากเล่มโครงการ
พิเศษฉบับสมบูรณ์แล้วโปรแกรมอักขราวิสุทธิ 3.96 %

ลงชื่อ กิตติญาภรณ์ ยิ้มเขียว

(กิตติญาภรณ์ ยิ้มเขียว)

นักศึกษา

ลงชื่อ นูรอัดนิน เบ็ญซอและ

(นูรอัดนิน เบ็ญซอและ)

นักศึกษา

ข้าพเจ้า ดร. นฤมล ตั้งธีระสุนันท์ อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการพิเศษ ได้ตรวจสอบโครงการพิเศษของ
นักศึกษาข้างต้นแล้ว ขอรับรองว่าเป็นผลงานวิจัยของนักศึกษาจริงและมีเนื้อหาสมบูรณ์ จึงลงชื่อไว้เป็น
หลักฐาน

ลงชื่อ นฤมล ตั้งธีระสุนันท์

(ดร.นฤมล ตั้งธีระสุนันท์)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มาไปใช้
อาจารย์ที่ปรึกษา