สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การคัดกรองเชื้อราเอนโดไฟท์ที่สร้างสารปฏิชีวนะจากพืชสมุนไพร

นายทศพล อภิรัตน์โชติกุล
นางสาววิลาสินี สมมโนน้อม

ปพ.
ท 2381
2550

เลขหมู่ 83984
เลขทะเบียน
วัน,เดือน,ปี 23 ก.ย. 2551

b 11983280
i

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ
ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา พ.ศ. 2550

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Screening of Antibiotic Producing – Endophytic Fungi from Medicinal Plants

Mr. Thodsapol Apiratchotikul

Ms. Wilasinee Sommanonom

A Special Project Submitted in Partial Fulfillment of the Requirement

for the Degree of Bachelor of Science

Biotechnology Program

Department of Applied Biology, Faculty of Science

King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang

Academic Year 2007

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษเรื่อง การคัดกรองเชื้อราเอนโดไฟท์ที่สร้างสารปฏิชีวนะจากพืชสมุนไพร

นักศึกษา ทศพล อภิรัตน์โชติกุล รหัส 47050125

วิลาสินี สมมโนน้อม รหัส 47050162

สาขาวิชา เทคโนโลยีชีวภาพ

ภาควิชา ชีววิทยาประยุกต์

อาจารย์ที่ปรึกษา ดร. จิตติ ท่าไว

ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อนุมัติให้ทำโครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

คณะกรรมการตรวจสอบ		ลายมือชื่อ
ประธานกรรมการ	ผศ. วีนา ชูโชติ	
กรรมการ	ดร. จิตติ ท่าไว	
กรรมการ	อ. ดนึงกานต์ กลั่นบุศย์	

.....

(รศ.ดร. นวลพรรณ ณ ระนอง)

หัวหน้าภาควิชาชีววิทยาประยุกต์

ลิขสิทธิ์ของภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษเรื่อง การคัดกรองเชื้อราเอนโดไฟท์ที่สร้างสารปฏิชีวนะจากพืชสมุนไพร

นักศึกษา ทศพล อภิรัตน์โชติกุล รหัส 47050125

วิลาสินี สมมโนน้อม รหัส 47050162

สาขาวิชา เทคโนโลยีชีวภาพ

ภาควิชา ชีววิทยาประยุกต์

ปีการศึกษา พ.ศ. 2550

อาจารย์ที่ปรึกษา ดร. จิตติ ท่าไว

บทคัดย่อ

การทดลองนี้ได้แยกเชื้อราเอนโดไฟท์จากใบที่สมบูรณ์ของพืชสมุนไพร 5 ชนิด ได้แก่ ไฟเดือนห้า (*Asclepias curassavica* Linn.) ต้อยติ่ง (*Ruellia tuberose* Linn.) ฝรั่ง (*Psidium guajava* Linn.) ทองหลาง (*Erythrina variegata* Linn.) และราชพฤกษ์ (*Cassia fistula* Linn.) สามารถแยกเชื้อราเอนโดไฟท์ได้ทั้งหมด 46 ไอโซเลต และจัดกลุ่มโดยแบ่งตามลักษณะทางสัณฐานวิทยาได้ 20 กลุ่ม ทำการคัดเลือกตัวแทนจากแต่ละกลุ่มมาเลี้ยงบนอาหาร CMA PDA SDA TWA และ YES ในที่มืด ณ อุณหภูมิห้อง นาน 14 วัน จากนั้นนำมาทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบโดยวิธี Dual-Culture Agar Diffusion Assay กับเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ 6 ชนิด ได้แก่ *Bacillus subtilis* ATCC 6633 *Candida albicans* ATCC 10231 *Escherichia coli* ATCC 25922 *Micrococcus luteus* ATCC 9341 *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 และ *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 พบว่ามีเชื้อราเอนโดไฟท์ 16 กลุ่มที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบได้ โดยชนิดของอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมต่อการสร้างสารปฏิชีวนะคือ YES รองลงมาคือ SDA PDA TWA และ CMA ตามลำดับ นอกจากนี้พบว่าเชื้อราเอนโดไฟท์ไอโซเลต AC-L10 เป็นเชื้อที่มีประสิทธิภาพซึ่งแสดงฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ได้ทุกชนิดยกเว้น *P. aeruginosa* ATCC 27853

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Special Project Title	Screening of Antibiotic Producing – Endophytic Fungi from Medicinal Plants	
Student	Thodsapol Apiratchotikul	Student ID. 47050125
	Wilasinee Sommanonom	Student ID. 47050162
Department	Applied Biology	
Program	Biotechnology	
Academic Year	2007	
Special Project Advisor	Dr. Chitti Thawai	

ABSTRACT

Forty-six endophytic fungi were isolated from healthy leaves of five medicinal plants, *Asclepias curassavica* Linn., *Ruellia tuberosa* Linn., *Psidium guajava* Linn., *Erythrina variegata* Linn. and *Cassia fistula* Linn.. All of the fungal isolates were observed on PDA medium to classify and categorize according to their morphology into twenty groups, then randomly selected for one representative isolate from each groups to cultivate on several media (CMA, PDA, SDA, TWA and YES) in the dark at room temperature for fourteen days. After that, the representative fungal isolates were evaluated for antimicrobial activities against the tested microorganisms such as *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Candida albicans* ATCC 10231, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Micrococcus luteus* ATCC 9341, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 and *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 by Dual-Culture Agar Diffusion Assay. The results revealed that sixteen representative fungal isolates could inhibit the growth of tested microorganisms. This study demonstrated that YES medium was the suitable medium for antibiotic production, followed by SDA, PDA, TWA and CMA, respectively. Furthermore, the isolate AC-L10 was the effectively representative fungal isolate that showed the antimicrobial activity against all of tested microorganisms except *P. aeruginosa* ATCC 27853.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

รายงานฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของโครงงานพิเศษในหัวข้อเรื่อง การคัดกรองเชื้อราเอนโดไฟท์ที่สร้างสารปฏิชีวนะจากพืชสมุนไพร โครงงานพิเศษนี้จะไม่สามารถบรรลุจุดประสงค์ไปได้ด้วยดี หากไม่ได้รับความช่วยเหลือจากบุคคลเหล่านี้

ทางผู้จัดทำขอขอบพระคุณ ดร.จิตติ ท่าไว ที่ให้คำปรึกษา ความรู้ต่างๆเกี่ยวกับการทดลอง ข้อเสนอแนะ และช่วยแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ ที่เกิดขึ้นในการทดลอง จนกระทั่งโครงงานพิเศษนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณ ผศ.วีนา ชูโชติ และ อ. คนึงกานต์ กลั่นบุศย์ ที่ให้คำปรึกษาและช่วยตรวจแก้ไขงานวิจัยนี้ให้สมบูรณ์

ขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่วิทยาศาสตร์ทุกท่าน ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการเบิกเครื่องมืออุปกรณ์ และสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง รวมทั้งอำนวยความสะดวกในการใช้ห้องปฏิบัติการต่างๆ เพื่อทำการทดลอง

ขอขอบพระคุณภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่กรุณาให้ใช้สถานที่เพื่อปฏิบัติงานวิจัยในครั้งนี้จนสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอกราบขอบพระคุณบิดามารดาของผู้จัดทำที่ช่วยสนับสนุนและเป็นกำลังใจในการทำโครงงานพิเศษนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ขอขอบคุณเพื่อนๆ ที่คอยเป็นกำลังใจ ให้ความช่วยเหลือ และอำนวยความสะดวกในเรื่องต่างๆ ทำให้โครงงานพิเศษนี้สามารถดำเนินการได้อย่างราบรื่น

สุดท้ายนี้ผู้จัดทำหวังเป็นอย่างยิ่งว่ารายงานฉบับนี้อาจเป็นประโยชน์ต่อผู้ที่สนใจ หรือผู้ที่ต้องการศึกษาหาความรู้เกี่ยวกับโครงงานพิเศษนี้ หากมีข้อผิดพลาดประการใดผู้จัดทำต้องกราบขออภัยมา ณ ที่นี้ด้วย

นายทศพล อภิรัตน์โชติกุล
นางสาววิลาสินี สมมโนน้อม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	ช
สารบัญรูป	ซ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความสำคัญและที่มาของโครงงานพิเศษ	1
1.2 วัตถุประสงค์ของโครงงานพิเศษ	2
1.3 ขอบเขตของโครงงานพิเศษ	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
บทที่ 2 ทฤษฎีและหลักการ	3
2.1 พืชสมุนไพร	3
2.1.1 การจำแนกตามลักษณะการใช้ประโยชน์	4
2.1.2 การจำแนกตามลักษณะภายนอกของพืช	5
2.2 วิธีการเก็บสมุนไพรส่วนที่ใช้เป็นยา	5
2.2.1 เก็บรากหรือหัว	5
2.2.2 ประเภทใบหรือเก็บทั้งต้น	5
2.2.3 ประเภทใบหรือเปลือกของพืช	5
2.2.4 ประเภทดอก	6
2.2.5 ประเภทผลและเมล็ด	6
2.3 ปัจจัยกำหนดสรรพคุณของพืชสมุนไพร	6
2.3.1 สารปฐมภูมิ (Primary metabolite)	6
2.3.2 สารทุติยภูมิ (Secondary metabolite)	6
2.4 พืชสมุนไพรที่ใช้ในการทดลอง	7
2.4.1 ต้อยติ่ง	7
2.4.2 ทองหลาง	8

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
2.4.3 ฝรั่ง	9
2.4.4 ไฟเดือนห้า	10
2.4.5 ราชพฤกษ์	11
2.5 ความรู้เบื้องต้นเกี่ยวกับเชื้อรา	13
2.5.1 สัณฐานวิทยา (morphology)	13
2.5.2 การสืบพันธุ์ของเชื้อรา	16
2.5.3 การเก็บรักษาเชื้อรา	19
2.6 เอนโดไฟท์ (Endophyte)	22
2.6.1 สารพิษที่เป็นประโยชน์จากเชื้อราเอนโดไฟท์	24
2.6.2 ผลกระทบของสารพิษจากเอนโดไฟท์	24
2.7 การแยกและความหลากหลายของเชื้อราเอนโดไฟท์ในพืชต่างๆ	25
2.8 เชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค	28
2.8.1 *Staphylococcus aureus*	29
2.8.2 *Pseudomonas aeruginosa*	30
2.8.3 *Escherichia coli*	31
2.8.4 *Candida albicans*	32
2.8.5 *Bacillus subtilis*	33
2.8.6 *Micrococcus luteus*	33
บทที่ 3 วิธีการดำเนินการวิจัย	34
3.1 อุปกรณ์	34
3.2 สารเคมี	34
3.3 อาหารเลี้ยงเชื้อ	35
3.4 วิธีการทดลอง	35
3.4.1 การเก็บตัวอย่างพืชสมุนไพร	35
3.4.2 การคัดแยกเชื้อราเอนโดไฟท์ออกจากใบพืช	36
3.4.3 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา	37

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.4.4 การศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของเชื้อราเอนโดไฟท์ที่มีต่อเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบโดยวิธี Dual-Culture Agar Diffusion Assay	37
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง	40
4.1 เชื้อราเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากพืชสมุนไพร	40
4.2 ลักษณะทางสัณฐานวิทยา	42
4.3 การจัดกลุ่มเชื้อราเอนโดไฟท์	48
4.4 การศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของเชื้อราเอนโดไฟท์ที่มีต่อเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ	70
4.4.1 การศึกษาชนิดของอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมในการผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของเชื้อราเอนโดไฟท์	70
4.4.2 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบโดยเชื้อราเอนโดไฟท์	81
บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง	88
เอกสารอ้างอิง	90
ภาคผนวก ก	95
ภาคผนวก ข	106
ภาคผนวก ค	128

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
3.1	ตัวอย่างพืชสมุนไพรที่นำมาศึกษา	36
3.2	ชนิดของยาปฏิชีวนะและความเข้มข้นที่ใช้เป็นชุดควบคุมการทดลอง	38
4.1	เชื้อราเอนโดไฟท์ไอโซเลตต่างๆ ที่แยกได้จากพืชสมุนไพร	40
4.2	ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อราเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากพืชสมุนไพร	42
4.3	ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อราเอนโดไฟท์ตัวแทนกลุ่มบนอาหารชนิดต่างๆ	70
4.4	ฤทธิ์การยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบของเชื้อราเอนโดไฟท์	82

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
2.1	ต้อยติ่ง	7
2.2	ทองหลาง	8
2.3	ฝรั่ง	9
2.4	ไฟเดือนห้า	10
2.5	ราชพฤกษ์	11
2.6	การแตกหน่อและการเกิดสายราของยีสต์	13
2.7	ลักษณะผิวหน้าโคโลนีของเชื้อราสาย	14
2.8	สายราอากาศและสายราดูดอาหาร	15
2.9	เชื้อราสายชนิดที่มีผนังกั้น	16
2.10	เชื้อราสายชนิดที่ไม่มีผนังกั้น	16
2.11	*Staphylococcus aureus*	30
2.12	*Pseudomonas aeruginosa*	31
2.13	*Escherichia coli*	32
2.14	*Candida albicans*	32
2.15	*Bacillus subtilis*	33
2.16	*Micrococcus luteus*	33
4.1	แผนภูมิลำดับการจัดกลุ่มเชื้อราแอนโดไฟท์	49
4.2	ลักษณะโคโลนีของเชื้อราแอนโดไฟท์ตัวแทนกลุ่มที่ 1 ไอโซเลต AC-L4	50
4.3	ลักษณะโคโลนีของเชื้อราแอนโดไฟท์ตัวแทนกลุ่มที่ 2 ไอโซเลต AC-L11	51
4.4	ลักษณะโคโลนีของเชื้อราแอนโดไฟท์ตัวแทนกลุ่มที่ 3 ไอโซเลต AC-L19	52
4.5	ลักษณะโคโลนีของเชื้อราแอนโดไฟท์ตัวแทนกลุ่มที่ 4 ไอโซเลต PG-LV6	53
4.6	ลักษณะโคโลนีของเชื้อราแอนโดไฟท์ตัวแทนกลุ่มที่ 5 ไอโซเลต CF-LM4	54
4.7	ลักษณะโคโลนีของเชื้อราแอนโดไฟท์ตัวแทนกลุ่มที่ 6 ไอโซเลต PG-L13	55
4.8	ลักษณะโคโลนีของเชื้อราแอนโดไฟท์ตัวแทนกลุ่มที่ 7 ไอโซเลต AC-L7	56
4.9	ลักษณะโคโลนีของเชื้อราแอนโดไฟท์ตัวแทนกลุ่มที่ 8 ไอโซเลต AC-L10	57
4.10	ลักษณะโคโลนีของเชื้อราแอนโดไฟท์ตัวแทนกลุ่มที่ 9 ไอโซเลต AC-L12	58
4.11	ลักษณะโคโลนีของเชื้อราแอนโดไฟท์ตัวแทนกลุ่มที่ 10 ไอโซเลต AC-L13	59

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่		หน้า
4.12	ลักษณะโคโลนีของเชื้อราเอนโดไฟท์ตัวแทนกลุ่มที่ 11 ไอโซเลต AC-L14	60
4.13	ลักษณะโคโลนีของเชื้อราเอนโดไฟท์ตัวแทนกลุ่มที่ 12 ไอโซเลต AC-L15	61
4.14	ลักษณะโคโลนีของเชื้อราเอนโดไฟท์ตัวแทนกลุ่มที่ 13 ไอโซเลต AC-L16	62
4.15	ลักษณะโคโลนีของเชื้อราเอนโดไฟท์ตัวแทนกลุ่มที่ 14 ไอโซเลต AC-L17	63
4.16	ลักษณะโคโลนีของเชื้อราเอนโดไฟท์ตัวแทนกลุ่มที่ 15 ไอโซเลต AC-L18	64
4.17	ลักษณะโคโลนีของเชื้อราเอนโดไฟท์ตัวแทนกลุ่มที่ 16 ไอโซเลต AC-L20	65
4.18	ลักษณะโคโลนีของเชื้อราเอนโดไฟท์ตัวแทนกลุ่มที่ 17 ไอโซเลต PG-L1	66
4.19	ลักษณะโคโลนีของเชื้อราเอนโดไฟท์ตัวแทนกลุ่มที่ 18 ไอโซเลต PG-LV2	67
4.20	ลักษณะโคโลนีของเชื้อราเอนโดไฟท์ตัวแทนกลุ่มที่ 19 ไอโซเลต PG-LV7	68
4.21	ลักษณะโคโลนีของเชื้อราเอนโดไฟท์ตัวแทนกลุ่มที่ 20 ไอโซเลต PG-LV8	69

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของโครงงานพิเศษ

ปัจจุบันปัญหาเรื่องโรคติดเชื้อยังคงเป็นปัญหาที่สำคัญในการรักษาโรคของผู้ป่วยในโรงพยาบาลต่างๆ จากข้อมูลของกรมเศรษฐกิจการพาณิชย์ในปี พ.ศ. 2535 พบว่าโรงพยาบาลหลายแห่งมีค่าใช้จ่ายสำหรับยาปฏิชีวนะมูลค่าสูงถึงร้อยละ 20-40 ของมูลค่ายาทั้งหมด และมีแนวโน้มจะเพิ่มสูงขึ้นตลอดเวลา ยาปฏิชีวนะและสารเคมีสังเคราะห์ต่างๆ ที่ใช้รักษาโรคติดเชื้ออยู่ในปัจจุบันมีโอกาสชักนำให้เกิดการดื้อยา และเกิดอันตรายจากผลข้างเคียงของยาด้วย ดังนั้นจึงมีการหันมาสนใจและทำการศึกษาเกี่ยวกับสมุนไพรไทย รวมถึงการนำสมุนไพรมาใช้ในการรักษาโรคต่างๆ มากขึ้น ซึ่งสมุนไพรที่ใช้ส่วนใหญ่จะอ้างอิงข้อมูลจากตำรายาแผนโบราณ แต่พบว่าผลการรักษาไม่แน่นอนและต้องใช้พืชสมุนไพรในปริมาณมาก เนื่องจากสารที่มีฤทธิ์ทำลายเชื้อก่อโรคติดเชื้อที่มีในสมุนไพรนั้นมีปริมาณน้อย (รอยา, 2550) เมื่อได้มีการศึกษาเพิ่มเติมพบว่าในพืชมีเชื้อราชนิดหนึ่งที่อาศัยอยู่ภายในเนื้อเยื่อของพืชโดยที่ไม่มีผลไปทำลายเซลล์ของพืชซึ่งเป็นผู้ให้อาศัย (host) รากลุ่มนี้เรียกว่า ราเอนโดไฟท์ พืชและเชื้อราเอนโดไฟท์อยู่ร่วมกันแบบพึ่งพาอาศัยกัน (Mutaulistic symbiosis) คือ พืชให้อาหารและที่อยู่อาศัยแก่ราเอนโดไฟท์ ส่วนเชื้อราเอนโดไฟท์สามารถสร้างสารทุติยภูมิที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ ซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญของศัตรู (แมลง แบคทีเรีย รากอโรคในพืช สัตว์) ของเจ้าบ้านและช่วยให้พืชสามารถทนความแห้งแล้งได้ ราเป็นสิ่งมีชีวิตที่มีความหลากหลายมากที่สุดกลุ่มหนึ่ง และเป็นแหล่งสำคัญของการสร้างสารมีฤทธิ์ทางชีวภาพที่มนุษย์นำมาใช้ประโยชน์แล้วจำนวนมาก มีการประเมินว่าจำนวนสายพันธุ์ราที่ถูกค้นพบแล้วจนถึงปัจจุบันมีเพียงประมาณร้อยละ 5-8 ของจำนวนสายพันธุ์ราทั้งหมดที่มีอยู่ในโลกซึ่งประมาณว่ามีไม่ต่ำกว่า 1 ล้านสปีชีส์ จึงยังมีราที่มีประโยชน์อีกจำนวนมากมายในธรรมชาติที่ยังไม่ถูกค้นพบ ราเอนโดไฟท์ (endophytic fungi) ซึ่งเจริญอยู่ในเนื้อเยื่อพืชที่มีชีวิตเป็นรากลุ่มที่มีข้อมูลการศึกษาน้อยมากทั้งในต่างประเทศและโดยเฉพาะในประเทศไทย จากที่มีการรวบรวมได้จนถึงปัจจุบันเป็นการศึกษาราเอนโดไฟท์ของพืชในเขตหนาวและเขตอบอุ่น (นิรนาม ก, 2550)

การแยกเชื้อราเอนโดไฟท์ในพืชสมุนไพรที่มีฤทธิ์ทำลายเชื้อก่อโรคออกมาได้ จะสามารถทำให้เกิดแนวทางที่จะค้นพบวิธีการเพิ่มปริมาณของสารทุติยภูมิที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพได้ เนื่องจากเชื้อราเป็นสิ่งมีชีวิตที่เจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็ว ไม่ขึ้นกับฤดูกาล และควบคุมสภาวะในการเพาะเลี้ยงได้ง่าย เมื่อเปรียบเทียบกับพืชแล้วย่อมสามารถผลิตสารทุติยภูมิได้มากและรวดเร็วกว่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หากมีการทดสอบว่าสารทุติยภูมิที่พืชกับเชื้อราเอนโดไฟท์ผลิตได้เป็นสารที่มีคุณสมบัติตรงกัน การใช้เชื้อราเอนโดไฟท์เป็นตัวผลิตสารทุติยภูมิก็จะเป็นวิธีผลิตที่รวดเร็วและให้ปริมาณสารมาก

โครงงานพิเศษนี้จึงมุ่งเน้นศึกษาถึงการแยกเชื้อราเอนโดไฟท์จากพืชสมุนไพร และการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพเบื้องต้นของเชื้อที่แยกได้ รวมถึงชนิดของอาหารเลี้ยงเชื้อที่ทำให้เชื้อราเอนโดไฟท์ผลิตสารทุติยภูมิที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพได้ดี ซึ่งการทดลองนี้จะเป็นการศึกษาเบื้องต้นเพื่อที่จะนำไปประยุกต์ใช้ในด้านวิทยาศาสตร์สาธารณสุขต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงงานพิเศษ

1) เพื่อแยกเชื้อราเอนโดไฟท์จากพืชสมุนไพรชนิดต่างๆ
2) เพื่อทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของเชื้อราเอนโดไฟท์ที่แยกออกมาได้
3) ศึกษาชนิดของอาหารเลี้ยงเชื้อราเอนโดไฟท์ที่ทำให้เชื้อผลิตสารทุติยภูมิที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพได้ดี

1.3 ขอบเขตของโครงงานพิเศษ

1) คัดแยกเชื้อราเอนโดไฟท์ออกจากพืชสมุนไพร
2) ทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของเชื้อราเอนโดไฟท์ที่แยกออกมาได้
3) ศึกษาชนิดของอาหารเลี้ยงเชื้อราเอนโดไฟท์ที่เหมาะสมต่อการผลิตสารทุติยภูมิที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

สามารถคัดแยกเชื้อราเอนโดไฟท์ที่มีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรค ซึ่งมีความเป็นไปได้ที่จะพบแหล่งผลิตสารปฏิชีวนะแหล่งใหม่ที่สามารถผลิตสารได้เร็วกว่าการผลิตสารปฏิชีวนะจากพืชสมุนไพร และทราบถึงอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมต่อการสร้างสารปฏิชีวนะจากเชื้อราเอนโดไฟท์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและหลักการ

ปัจจุบันการขยายตัวทางอุตสาหกรรม ปัญหาวัตถุดิบ และปัญหาสิ่งแวดล้อม ทำให้เกิดความสนใจเกี่ยวกับพืชสมุนไพรเพิ่มมากขึ้น แต่เนื่องจากสารสำคัญที่ได้จากธรรมชาตินั้นผลิตจากพืชได้น้อย ซึ่งส่วนใหญ่จะมีโครงสร้างทางเคมีซับซ้อน และไม่สามารถสังเคราะห์ได้ในราคาถูก พืชสมุนไพรที่เกิดตามธรรมชาติกำลังสูญพันธุ์เพราะการตัดไม้ทำลายป่า ปัญหาโรคพืชและแมลงศัตรูพืชที่เพิ่มขึ้น ขณะเดียวกันความต้องการทางตลาดที่มีมากขึ้น จึงได้มีการหาทางปรับปรุงสายพันธุ์ให้ทนต่อโรคและแมลง นอกจากนั้นยังต้องทำให้พืชสามารถผลิตสารสำคัญได้สูงขึ้นและมีคุณภาพที่ดีด้วย พืชบางชนิดต้องตัดทั้งต้นจึงจะสามารถนำมาสกัดสารสำคัญได้ จึงทำให้เกิดการขาดแคลนพืชเหล่านี้ได้เร็ว ต้องทำการปลูกทดแทน แปลงเพาะปลูกก็มักจะอยู่ห่างไกลจากโรงงาน ทำให้ต้องเสียค่าใช้จ่ายในการขนส่งวัตถุดิบมากขึ้น นอกจากนี้การสกัดสารก็ยังทำได้ยากอีกด้วย (พวงเพชร, 2541) จากเหตุผลดังกล่าวทำให้เกิดความสนใจเกี่ยวกับเชื้อราเอนโดไฟท์ที่อยู่ในเนื้อเยื่อของพืชสมุนไพรขึ้น ซึ่งสันนิษฐานได้ว่าหากเชื้อราเอนโดไฟท์สามารถสร้างสารทุติยภูมิที่มีคุณสมบัติในการรักษาโรคได้เหมือนพืชสมุนไพร ก็จะสามารถแก้ปัญหาการขาดแคลนสารทุติย-ภูมิได้ และใช้ในการเพิ่มการผลิตสารสำคัญที่มีประโยชน์ได้ การผลิตสารทุติยภูมิโดยใช้เชื้อราเอนโดไฟท์จึงเป็นทางเลือกหนึ่งเพื่อแก้ปัญหาการขาดแคลนสารสำคัญ และจะผลิตที่ใดก็ได้โดยสามารถควบคุมการผลิตได้ด้วย

2.1 พืชสมุนไพร (สำนักงานเกษตรอำเภอภูเรือ, 2548)

พืชสมุนไพรเป็นทรัพยากรที่มีอยู่ในประเทศมากกว่าครึ่งหนึ่งของพืชสมุนไพรที่นำมาใช้ได้จากธรรมชาติ ดังนั้นในการพัฒนาสมุนไพร ด้านหนึ่งที่จะขาดเสียไม่ได้ก็คือ ต้องมีการนำสมุนไพรมาปลูกอย่างถูกวิธี ดูแลรักษาให้มีปริมาณและคุณภาพที่ดี เพื่อให้สามารถนำมาใช้เป็นยารักษาโรคที่มีสรรพคุณดีตามต้องการ ในการปลูกพืชสมุนไพรมีข้อควรคำนึงคือ ทำอย่างไรให้ได้สมุนไพรที่มีสารออกฤทธิ์หรือตัวยาที่สูงสุด และมีความปลอดภัยต่อผู้บริโภค กระบวนการผลิตสมุนไพรอย่างถูกต้องเหมาะสมจะต้องให้ความสำคัญอย่างยิ่งกับการหลีกเลี่ยงการใช้สารเคมี และการรักษาสุขอนามัยในแปลงปลูกและปฏิบัติการต่างๆด้วย

การจำแนกพืชสมุนไพร สามารถจำแนกได้หลายวิธี ซึ่งในที่นี้จะจำแนกพืชสมุนไพรพอสังเขป ดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.1 การจำแนกตามลักษณะการใช้ประโยชน์

2.1.1.1 น้ำมันหอมระเหย (Essential Oil) พืชสมุนไพรหลายชนิดสามารถนำมาสกัดน้ำมันหอมระเหยได้โดยวิธีการกลั่น ซึ่งจะได้น้ำมันหอมระเหยมีกลิ่นหอมแตกต่างกันไปตามชนิดของพืชสมุนไพร น้ำมันหอมระเหยนี้จะมีสารสำคัญที่สกัดออกมาซึ่งจะใช้ประโยชน์ได้ตรงตามวัตถุประสงค์มากกว่า รวมทั้งการใช้ในปริมาณที่น้อยกว่าเมื่อเทียบกับการนำพืชสมุนไพรมาใช้ในรูปอื่น ตัวอย่างของพืชสมุนไพรที่นำมาสกัดน้ำมันหอมระเหย เช่น น้ำมันตะไคร้หอม ใช้ในอุตสาหกรรมผลิตสบู่ แชมพู น้ำหอมหรือใช้ทำสารไล่แมลง น้ำมันไพล ใช้ในผลิตภัณฑ์ครีมทาภายนอก ลดอาการอักเสบจากการฟกช้ำ น้ำมันกระวาน ใช้แต่งกลิ่นเหล้า เครื่องดื่มต่างๆ รวมทั้งใช้ในอุตสาหกรรมน้ำหอมน้ำมันพลู ใช้ในอุตสาหกรรมเครื่องสำอาง หรือใช้เป็นเจลทาภายนอกแก้คัน

2.1.1.2 ยารับประทาน พืชสมุนไพรหลายชนิดสามารถนำมาใช้รับประทานเพื่อรักษาอาการของโรคได้โดยอาจใช้สมุนไพรชนิดเดียว หรือหลายชนิดรวมกันก็ได้ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับสารสำคัญที่มีอยู่ในสมุนไพรชนิดนั้นๆที่ออกฤทธิ์เพื่อการบำบัดรักษา เช่น แก้ไข้ แก้ท้องอืดท้องเฟ้อ ระงับประสาท และลดไขมันในเส้นเลือด

2.1.1.3 ยาสำหรับใช้ภายนอก เป็นพืชสมุนไพรที่สามารถนำมาบำบัดโรคที่เกิดขึ้นตามผิวหนัง แผลที่เกิดขึ้นตามร่างกาย รวมทั้งแผลในปาก อาจใช้สมุนไพรชนิดเดียวหรือหลายชนิดรวมกันก็ได้ ลักษณะของการนำมาใช้มีหลายลักษณะ มีทั้งใช้สด บดเป็นผง ครีม ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับสารสำคัญที่มีอยู่ในพืชสมุนไพร และความสะดวกในการนำมาใช้ ตัวอย่างของพืชสมุนไพรที่นำมาใช้เป็นยาสำหรับใช้ภายนอก เช่น รักษาแผลในปาก ระงับกลิ่นปาก แก้แพ้ แก้งูสวัด และรักษาแผลน้ำร้อนลวก

2.1.1.4 ผลิตภัณฑ์เสริมอาหารและเครื่องดื่ม พืชสมุนไพรหลายชนิดสามารถนำมาทำเป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหารเพื่อบำรุงสุขภาพได้เป็นอย่างดี โดยที่พืชสมุนไพรเป็นผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติ ผู้บริโภคจึงรู้สึกปลอดภัยในการนำมารับประทาน เช่น ดูดจับไขมันจากเส้นเลือด เปลี่ยนไขมันเป็นพลังงาน ลดน้ำหนัก และเครื่องดื่มบำรุงสุขภาพ

2.1.1.5 เครื่องสำอาง เป็นการนำพืชสมุนไพรมาใช้อีกลักษณะหนึ่ง การนำพืชสมุนไพรมาใช้เป็นเครื่องสำอางมีมานานแล้ว และในปัจจุบันได้รับการยอมรับมากขึ้น เนื่องจากปลอดภัยกว่าการใช้สารสังเคราะห์ทางเคมี ทำให้ผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนผสมของสมุนไพรเกิดขึ้นมากมาย เช่น แชมพู ครีมนวดผม สบู่ โลชั่น ตัวอย่างพืชสมุนไพรที่นำมาใช้เป็นเครื่องสำอาง เช่น อัญชัน ว่างหางจระเข้ มะคำดีควาย เห็ดหลินจือ เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.1.6 ผลิตภัณฑ์ป้องกันกำจัดศัตรูพืช เป็นสมุนไพรที่มีฤทธิ์เบื่อเมาหรือมีรสขม ซึ่งมีคุณสมบัติในการปราบหรือควบคุมปริมาณการระบาดของแมลงศัตรูพืช โดยไม่มีพิษตกค้างในผลผลิต ไม่มีพิษต่อผู้ใช้และสภาพแวดล้อม เช่น สะเดา ยาสูบ ตะไคร้หอม ฟ้าทะลายโจร เป็นต้น

2.1.2 การจำแนกตามลักษณะภายนอกของพืช

2.1.2.1 ไม้ยืนต้น เป็นต้นไม้ที่มีลำต้นใหญ่ ลำต้นเดี่ยว สูงมากกว่า 6 เมตร

2.1.2.2 ไม้พุ่ม เป็นต้นไม้ที่มีเนื้อไม้ขนาดเล็กและเตี้ยมีหลายลำต้นที่แยกจากดิน หรือลำต้นจะแตกกิ่งก้านใกล้โคนต้น หรือมีลำต้นเล็ก ๆ หลายต้นจากโคนเดียวกัน ทำให้ดูเป็นกอหรือเป็นพุ่ม

2.1.2.3 ไม้ล้มลุก เป็นพืชที่มีลำต้นอ่อน ไม่มีเนื้อไม้ หักง่าย มีอายุ 1 ปี หรือ หลายปี

2.1.2.4 ไม้เลื้อยหรือไม้เถา เป็นพืชที่มีลำต้นยาว ไม่สามารถตั้งตรงได้ ต้องอาศัยสิ่งยึดเกาะตามกิ่งไม้อาศัยส่วนของพืชเกาะ อาจเป็นลำต้น หนวด หรือหนามก็ได้

2.2 วิธีการเก็บสมุนไพรส่วนที่ใช้เป็นยา (นิรนาม ค, 2550)

พืชสมุนไพรมีมากมาย บางทีอาจนำเปลือกของลำต้นมาใช้ประโยชน์ในการทำเป็นยาหรือบางชนิดก็เอาดอกมาทำเป็นยา แต่บางอย่างอาจต้องใช้ใบ ด้วยเหตุนี้เองการเลือกส่วนที่จะนำมาใช้ประโยชน์จึงมีความสำคัญมากเช่นเดียวกัน การเก็บส่วนของพืชสมุนไพรถ้าเก็บในระยะเวลาที่ไม่เหมาะสมอาจมีผลต่อการออกฤทธิ์ในการรักษาโรคของสมุนไพรได้ นอกจากจะต้องคำนึงถึงเรื่องช่วงเวลาในการเก็บเป็นสำคัญแล้วยังต้องคำนึงถึงวิธีการเก็บ ส่วนของพืชที่ใช้เป็นยา ดินที่ปลูก และสภาพอากาศ

2.2.1 เก็บรากหรือหัว ควรเก็บในช่วงเวลาที่พืชหยุดการเจริญเติบโต ใบ ดอก ร่วงหมดแล้ว หรือในช่วงต้นฤดูหนาวถึงปลายฤดูร้อนเพราะในช่วงเวลานี้รากและหัวมีการสะสมปริมาณตัวยาเอาไว้ค่อนข้างสูง วิธีการเก็บจะต้องใช้วิธีขุดด้วยความระมัดระวัง อย่าให้รากหรือหัวเกิดการเสียหายแตกช้ำหักขาดขึ้นได้ ตัวอย่างรากหรือหัวของพืชสมุนไพร เช่น ข่า กระชาย กระทือและขิง เป็นต้น

2.2.2 ประเภทใบหรือเก็บทั้งต้น ควรจะเก็บใบที่เจริญเติบโตมากที่สุด หรือพืชบางอย่างอาจระบุช่วงเวลาเก็บอย่างชัดเจน เก็บใบอ่อนหรือใบแก่ เก็บช่วงดอกตูมหรือดอกบานเป็นต้น การกำหนดช่วงเวลาที่เก็บใบเพราะช่วงเวลานั้นในใบมีตัวยามากที่สุด วิธีการเก็บจะใช้การเด็ด ตัวอย่างเช่น ใบกะเพรา ใบฝรั่ง ใบฟ้าทะลายโจร เป็นต้น

2.2.3 ประเภทใบหรือเปลือกของพืช เปลือกต้นโดยมากจะเก็บช่วงฤดูร้อนต่อกับช่วงฤดูฝน ปริมาณยาในพืชสมุนไพรมีสูงและลอกออกได้ง่าย และสะดวก ในการลอกเปลือกต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นั้นไม่ควรลอกเปลือกออกทั้งรอบต้น เพราะจะกระทบกระเทือนถึงการส่งลำเลียงอาหารของพืช และทำให้ตายได้ ทางที่ดีควรลอกเปลือกกิ่งหรือส่วนที่เป็นแขนงย่อย ไม่ควรลอกออกจากลำต้นใหญ่ของต้นไม้ หรือจะใช้วิธีลอกออกในลักษณะครึ่งวงกลมก็ได้ ส่วนเปลือกของรากเก็บในช่วงฤดูฝนจะเหมาะมากที่สุด เนื่องจากการลอกเปลือกรากเป็นผลเสียต่อการเจริญเติบโตของพืช

2.2.4 ประเภทดอก โดยทั่วไปเก็บในช่วงดอกเริ่มบาน แต่บางชนิดเก็บในช่วงดอกตูม เช่น กานพลู เป็นต้น

2.2.5 ประเภทผลและเมล็ด พืชสมุนไพรบางชนิดอาจจะเก็บในช่วงที่ผลยังไม่สมบูรณ์หรือยังไม่สุก เช่น ฝรั่งเก็บเอาผลอ่อนมาเป็นยาแก้ท้องร่วง แต่โดยทั่วไปมักเก็บเมื่อผลแก่เต็มที่แล้ว เช่น ดีปลี มะแว้งต้น มะแว้งเครือ เมล็ดฟักทอง เมล็ดชุมเห็ดไทย และเมล็ดสะแก เป็นต้น

คุณภาพของสมุนไพรที่จะใช้รักษาโรคได้ดีหรือไม่นั้น สำคัญอยู่ที่ช่วงเวลาการเก็บสมุนไพรและวิธีการเก็บ นอกจากนี้ยังมีปัจจัยอื่นๆที่จะต้องคำนึงอีกอย่างได้แก่ พื้นดินที่ปลูกพืชสมุนไพร เช่น ลำโพง ควรปลูกในพื้นดินที่เป็นด่างจะมีปริมาณตัวยาสูง สะระแหน่ หากปลูกในที่ดินทราย จะให้ปริมาณน้ำมันหอมระเหยสูง เป็นต้น ส่วนปัญหาทางด้านสภาพสิ่งแวดล้อมในการเจริญเติบโต และภูมิอากาศ เหล่านี้ต่างก็มีผลต่อพืชสมุนไพรด้วยกันทั้งสิ้น

2.3 ปัจจัยกำหนดสรรพคุณของพืชสมุนไพร (วีณา, 2550)

สารเคมีที่เป็นตัวกำหนดสรรพคุณของพืชสมุนไพรนั้นแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ ได้แก่

2.3.1 สารปฐมภูมิ (Primary metabolite) สารนี้จำเป็นต่อการดำรงชีวิตของพืช ถ้าขาด พืชจะตาย ได้แก่ น้ำตาล กรดอินทรีย์ กรดไขมัน ไขมัน น้ำมัน ขี้ผึ้ง กรดอะมิโน โปรตีน น้ำย่อย เป็นต้น

2.3.2 สารทุติยภูมิ (Secondary metabolite) หากขาดสารนี้แล้วพืชจะไม่เป็นอันตรายถึงตาย ซึ่งสารกลุ่มนี้อาจเป็นสิ่งที่ขับถ่ายจากพืช เป็นสารอาหารที่พืชเก็บไว้ใช้เป็นสารที่พืชสร้างขึ้นในขณะที่ภาวะแวดล้อมไม่เหมาะสม ตัวอย่างของสารกลุ่มนี้ได้แก่ น้ำมันหอมระเหย สารขม สเตียรอยด์ ซาโปนิน แทนนิน อัลคาลอยด์ เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4 พืชสมุนไพรที่ใช้ในการทดลอง

สมุนไพรที่นำมาใช้อยู่ในรูปพืชสด สิ่งที่ต้องคำนึงถึงคือต้องมีการตรวจเอกลักษณ์ที่ถูกต้อง โดยเฉพาะอย่างยิ่งพืชสมุนไพรที่เก็บจากป่าอาจเกิดความผิดพลาดได้ง่าย เนื่องจากพืชมีลักษณะคล้ายกัน หรือมีชื่อพ้องกัน นอกจากนี้หากเป็นพืชสมุนไพรที่หายากและขาดแคลนอาจมีการปลอมปนได้ สำหรับพืชสมุนไพรที่ได้จากการเพาะปลูกจะไม่ค่อยมีปัญหาเรื่องนี้ และแน่ใจได้ว่าเป็นพืชที่ถูกต้องแน่ใจได้

2.4.1 ต้อยติ่ง (ไพร, 2548)

รูปที่ 2.1 ต้อยติ่ง
(ที่มา : ไพร, 2548)

ชื่ออื่น ต้อยติ่ง อังกาบ

ชื่อสามัญ Waterkanon Watrakanu Minnieroot Iron root Feverroot Popping pod

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Ruellia tuberosa* Linn.

วงศ์ ACANTHACEAE

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

เป็นพืชล้มลุกมีอายุยืน ลำต้นสูงประมาณ 25-50 เซนติเมตร ใบเดี่ยวรูปรีและไข่ การเกาะติดของใบบนกิ่งเป็นคู่สลับ ดอกออกที่ซอกใบบริเวณปลายยอด ดอกสีม่วงน้ำเงิน ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 4-5 เซนติเมตร ผลมีลักษณะเป็นฝัก เมื่อแก่สีน้ำตาลเข้มยาว 2-3 เซนติเมตร เมื่อแห้งแล้วจะแตกเป็น 2 ซีก ภายในฝักมีเมล็ดกลมแบนจำนวนมาก ส่วนรากพองเป็น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวสำหรับสะสมอาหาร ปลายเรียวแหลม ยาว ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 0.5 เซนติเมตร ยาว ประมาณ 5-10 เซนติเมตร

<u>สรรพคุณ</u>

ราก ทำให้อาเจียน ใช้ดับพิษ แก้ปัสสาวะพิการ

เมล็ด ใช้พอกห้ามเลือด ผื่นคัน

ใบ ใช้เป็นยาพอกแผล

2.4.2 ทองหลาง (นิรนาม ง, 2550)

รูปที่ 2.2 ทองหลาง

<u>ชื่ออื่น</u> ทองหลาง ทองหลางหนาม ทองหลางน้ำ

<u>ชื่อวิทยาศาสตร์</u> *Erythrina variegata* Linn.

<u>วงศ์</u> LEGUMINOSAE

<u>ลักษณะทางพฤกษศาสตร์</u>

ต้นทองหลาง นับว่าเป็นพืชที่มีต้นโต เป็นไม้ยืนต้นชนิดหนึ่ง ถือว่าเป็นต้นไม้ขนาดกลาง ลักษณะของใบมนคล้ายกับใบของถั่วพู ใบโตประมาณ 3-4 นิ้ว ก้านใบมีใบย่อย 3 ใบ ที่ลำต้นและกิ่งก้านจะมีหนามเล็กๆแหลมคมตลอด ดอกของทองหลางน้ำคล้ายดอกแคแดง ต้นทองหลางน้ำสามารถดูดเอาน้ำมาเก็บไว้ในลำต้นได้มากกว่าต้นไม้ชนิดอื่น สามารถทำให้พื้นดินมี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความชุ่มชื้น ได้โดยตลอด เราจึงเห็นในสวนทั่วไปมีต้นทองหลางน้ำเสมอ เพราะชาวสวนเข้าใจในเรื่องนี้ดี พืชชนิดอื่นจึงได้รับประโยชน์จากต้นทองหลาง

ส่วนที่ใช้เป็นยา เปลือก ใบ

รสและสรรพคุณยา

เปลือก นำมาต้ม ดื่มแก้เสมหะได้ โดยจะเอาใบมาต้มด้วยก็ได้ นอกจากนี้ยังแก้ลมพิษได้ นำมาหยอดตาแก้ตาแดง ตาแจ็บ ตาแฉะ แต่จะต้องระวังเรื่องความสะอาด

ใบ ใช้ใบแก่สดรมควัน ชุบน้ำสุกปิดแผลและเนื้อร้ายที่บวม ดูดหนองให้ไหลออกมา และทำให้แผลยุบ ใบคั่วใช้เป็นยาเย็น ดับพิษ บดทาแก้ข้อบวม (นิรนาม ญ, 2550)

2.4.3 ฝรั่ง (นิรนาม จ, 2550)

รูปที่ 2.3 ฝรั่ง

(ที่มา : http://ittm.dtam.moph.go.th/Service/herb_data/herb_ssm29.htm)

ชื่ออื่น มะก้วย (เชียงใหม่) มะมั่น (ลำปาง) มะก้วยกา มะสีดา (ภาคเหนือ) สีดา (นครพนม) ชมพู่ (ปัตตานี) สีดาขาว (อุบลราชธานี) ย่าหมู ย่ามู (ภาคใต้)

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Psidium guajava* Linn.

วงศ์ MYRTACEAE

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ต้นฝรั่งเป็นพันธุ์ไม้ยืนต้น มีขนาดเล็กจนถึงขนาดกลาง ลักษณะผิวเปลือกของลำต้นเรียบเกลี้ยง กิ่งอ่อนเป็นสี่เหลี่ยม ใบหนา หยาบ ใต้ท้องใบเป็นริ้วเห็นเส้นใบได้ชัด และมีขนขึ้นนวลบาง ขนาดของใบยาวประมาณ 2-5 นิ้ว กว้างประมาณ 1.5-3 นิ้ว ดอกออกเป็นช่อ ในช่อหนึ่งมี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ดอกย่อยประมาณ 3 - 5 ดอก ลักษณะของดอกเป็นดอกเล็ก มีสีขาวอมเขียวอ่อนๆ กลีบเลี้ยงแข็ง มีความคงทนมาก ลักษณะของผลเป็นรูปต่างกันตามลักษณะของพันธุ์และชนิด แต่ลักษณะของผิวเกลี้ยงเรียบ ผลเมื่อยังอ่อนจะเป็นสีเขียวแก่หรือเขียวอ่อน แต่เมื่อผลสุกจะเปลี่ยนเป็นสีเหลือง มีกลิ่นเหม็น และข้างในผลหนึ่งมีเมล็ดเป็นเม็ดกลมแข็งเล็กๆจำนวนมาก เป็นพรรณไม้ที่เจริญเติบโตได้ดีในดินที่มีลักษณะเป็นดินปนทราย ขยายพันธุ์ด้วยวิธีการเพาะเมล็ดหรือการตอนกิ่ง

<u>สรรพคุณ</u>

ใบ ใช้ใบสดประมาณ 10-15 ใบ นำมาผิงไฟให้เกรียมแล้วต้มหรือชงน้ำรับประทานเป็นยาแก้โรคท้องเดิน โรคบิด แก้ปวดเบ่ง หรือใช้ใบสดนำมาตำให้ละเอียดคั้นเอาน้ำใช้ล้างบาดแผล หรือใช้กากพอกบริเวณแผลช่วยถอนพิษบาดแผล หรือใช้ใบสดประมาณ 6-7 ใบ นำมาเคี้ยวอมช่วยระงับกลิ่นปาก

เมล็ด ใช้ผลอ่อนประมาณ 1 ผล นำมาฝนกับน้ำปูนใส ใช้รับประทานเป็นยาแก้อาการท้องเดิน

ราก ใช้รากนำมาต้มเอาน้ำกิน เป็นยาแก้น้ำเหลืองเสีย ช่วยดูดน้ำเหลือง น้ำหนอง ทำให้แห้ง

2.4.4 ไฟเดือนห้า (นิรนาม ฉ, 2548)

รูปที่ 2.4 ไฟเดือนห้า

(ที่มา : http://www.morninggarden.com/)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชื่ออื่น เทียนแดง

ชื่อสามัญ Bastard ipecacuanha; Blood flower

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Asclepias curassavica* Linn.

วงศ์ ASCLEPIADACEAE

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

จัดอยู่ในจำพวกไม้ล้มลุกอายุหลายปี มีน้ำยางขาว อยู่ในวงศ์ ASCLEPIADACEAE ลำต้นตรง แตกกิ่งก้านต่ำ แต่ละต้นสูงเต็มที่ราว 1.5 เมตร ลักษณะใบเป็นใบเดี่ยวออกตรงข้ามตามกิ่ง รูปทรงรีแกมหอกสีเขียวเข้มกว้าง 1.5-3 เซนติเมตร ยาว 6-12 เซนติเมตร โคนใบสอบปลายใบแหลม ขอบใบเรียบ มีเส้นกลางลึกเห็นชัดเจน แต่เส้นแขนงใบดูจางแทบมองไม่เห็น ออกดอกเป็นช่อตามซอกใบที่ปลายกิ่ง แต่ละช่อมีดอกย่อยกระจุก 5-15 ดอก ตอนดอกตูมมีกลีบเลี้ยงหุ้มสีแดง เมื่อบานกลีบดอกสีเหลืองสด โคนกลีบเป็นหลอดยาว 4 มิลลิเมตร กลีบดอกยาวราว 7-9 มิลลิเมตร ตรงกลางมีเกสรตัวผู้เชื่อมติดกัน ดอกสวยงาม และออกดอกตลอดปีด้วย มีผลรูปทรงรีเป็นรูปไข่ยาว 5-7 เซนติเมตร ด้านในมีเมล็ดยาว 5-7 มิลลิเมตร มีขนนุ่มสีขาว ไม้ชนิดนี้ขยายพันธุ์โดยการเพาะเมล็ด

สรรพคุณ

ต้น แก้โรคหัวใจอ่อน บำรุงธาตุ

ใบ ฆ่าเชื้อโรคเรื้อน แก้พิษฝี ขับพยาธิไส้เดือน รักษาอาการฟกช้ำ

2.4.5 ราชพฤกษ์ (นิรนาม ช และ ช, 2550)

รูปที่ 2.5 ราชพฤกษ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชื่ออื่น ดูน ชัยพฤกษ์ (ภาคกลาง) ลมแล้ง (ภาคเหนือ) ลักเคยลักเกลือ (ภาคใต้) กุเพยะ (กะเหรี่ยงกาญจนบุรี) ปียยะปูโย เปอโซ แมะหล่าหยู่ (กะเหรี่ยงแม่ฮ่องสอน)

ชื่อสามัญ Golden Shower Indian Laburnum Pudding-pine Tree Purging Cassia

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Cassia fistula* Linn.

วงศ์ CAESALPINIACEAE

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ราชพฤกษ์หรือดูนเป็นไม้ผลัดใบขนาดกลาง ลำต้นมีตุ่มตาเล็กน้อย เรือนยอดเป็นรูปทรงกรวยหรือรูปทรงกลมกลายๆ ลักษณะโปร่ง (open crown) ความยาวเรือนยอดแตกต่างกันออกไป แต่โดยทั่วไปจะเป็น 2 ใน 5 ของความสูงทั้งหมด ขึ้นได้ทั่วทุกภาคของประเทศ มีการเจริญเติบโตในสภาพแวดล้อมที่มีอุณหภูมิเฉลี่ยสูงสุด 37.5-48.9 องศาเซลเซียส อุณหภูมิเฉลี่ยต่ำสุด 4.0-17.3 องศาเซลเซียส และต้องการปริมาณน้ำฝนตั้งแต่ 50.8-304.8 เซนติเมตรต่อปี สามารถที่จะเจริญเติบโตบนดินได้เกือบทุกชนิด แม้แต่ดินตื้นและดินเหลวและพบว่าสามารถขึ้นได้ที่ระดับความสูงถึง 1,200 เมตรจากระดับน้ำทะเล อัตราการเจริญเติบโตปานกลาง การขยายพันธุ์โดยใช้เมล็ด เชื่อกันว่ามีถิ่นกำเนิดแถบเอเชียเขตร้อน โดยเฉพาะประเทศอินเดีย ศรีลังกา และมาเลเซีย เป็นไม้ยืนต้นผลัดใบขนาดกลาง สูง 9-15 เมตร มักแตกกิ่งต่ำ ลำต้นค่อนข้างตรง เปลือกสีเทาขาว หรือน้ำตาลเทา เรียบหรือแตกเป็นสะเก็ดหนาในต้นขนาดใหญ่ ใบเป็นใบประกอบแบบขนนก ปลายคู่เรียงสลับ แกนยาว 20-30 เซนติเมตร ใบย่อยเกลี้ยง ออกตรงกันข้าม 3-8 คู่ แผ่นใบย่อย รูปไข่ หรือรูปไข่แกมขอบขนานกว้าง 4-9 เซนติเมตร ยาว 7-13 เซนติเมตร ปลายใบแหลม โคนสอบกว้างหรือเบี้ยวเล็กน้อย ขอบใบเรียบ ก้านใบย่อยยาว 5-10 เซนติเมตร หูใบขนาดเล็ก หลุดร่วงง่าย

สรรพคุณ

ฝักแก่ ใช้เป็นยาระบายได้ โดยนำฝักมาต้มกับน้ำ และเติมเกลือเล็กน้อย ดื่มก่อนนอนหรือก่อนรับประทานอาหาร นอกจากนั้น ฝักแก่ยังมีสารที่ออกฤทธิ์ต่อระบบประสาทของแมลง เมื่อนำฝักมาบดผสมน้ำแช่ทิ้งไว้ประมาณ 2-3 วัน สารละลายที่กรองได้สามารถฉีดพ่นกำจัดแมลงและหนอนในแปลงผักได้

ฝักอ่อน สามารถใช้ขับเสมหะได้

ใบ สามารถนำมาใช้ในการฆ่าเชื้อโรคได้

ดอก แก้แผลเรื้อรัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5 ความรู้เบื้องต้นเกี่ยวกับเชื้อรา (พรรณกร, 2538)

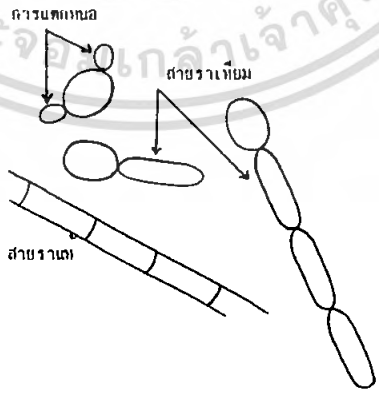
เชื้อรา คือจุลชีพที่มีเซลล์ชนิดสมบูรณ์แบบ ซึ่งจะประกอบด้วยนิวเคลียส ไซโตพลาสซึม และผนังเซลล์ ผนังเซลล์ของเชื้อราประกอบด้วยไคติน (chitin) ซึ่งพบในพวกแมลง และเซลลูโลส (cellulose) ซึ่งพบในพืช นอกจากนี้ยังมีไคโตซาน (chitosan) กลูแคน (glucan) และแมนแนน (mannan) ในอัตราส่วนต่างๆกัน

2.5.1 สัณฐานวิทยา (morphology)

สัณฐานวิทยาของเชื้อราแบ่งได้เป็น 2 แบบคือ ยีสต์ (yeast) และเชื้อราสาย (mold, mould)

2.5.1.1 ยีสต์

โคโลนี (colony) ของยีสต์มีสีต่างๆกัน เช่น ขาว ส้ม ดำ ผิวหน้าโคโลนีคล้ายเนยหรือคล้ายกับโคโลนีของแบคทีเรีย ยีสต์บางสายพันธุ์มีมิวโคโพลีแซคคาไรด์เป็นแคปซูลล้อมรอบ โคโลนีจึงเป็นมูก เช่น *Cryptococcus neoformans* ถ้าเขี่ยโคโลนีบางส่วนมาดูด้วยกล้องจุลทรรศน์จะพบว่า ยีสต์ประกอบด้วยเซลล์เดียวรูปกลมหรือมีขนาดประมาณ 2-10 ไมโครเมตร ยีสต์สืบพันธุ์แบบไม่ผสมเพศโดยการแตกหน่อ (รูปที่ 2.6) หน่อที่เกิดบางครั้งไม่หลุดจากกันแต่ต่อเนื่องกันเป็นสาย สายที่เกิดโดยวิธีนี้เรียกว่า สายราเทียม (pseudohypha) (รูปที่ 2.6) บางภาวะยีสต์สามารถสร้างท่องอก (germ tube) แล้วท่องอกนั้นสร้างผนังกั้น (septum) แบ่งเป็นส่วนๆชัดเจน เมื่อท่องอกเจริญเต็มที่จะเห็นเป็นสายและมีผนังกั้น สายชนิดนี้เรียกว่า สายราแท้ (true hypha) (รูปที่ 2.6) ยีสต์ที่สร้างสายราแท้และสายราเทียมได้จะทำให้เห็นวุ้นเพาะเชื้อขุ่น เพราะมีสายราหยั่งลงไป เช่น *Candida* sp. จากการศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนพบว่าเซลล์ยีสต์ที่ต่อกันอาจมีรูเล็กๆตรงส่วนที่อยู่ภายในเซลล์ติดต่อถึงกันได้



รูปที่ 2.6 การแตกหน่อและการเกิดสายราของยีสต์

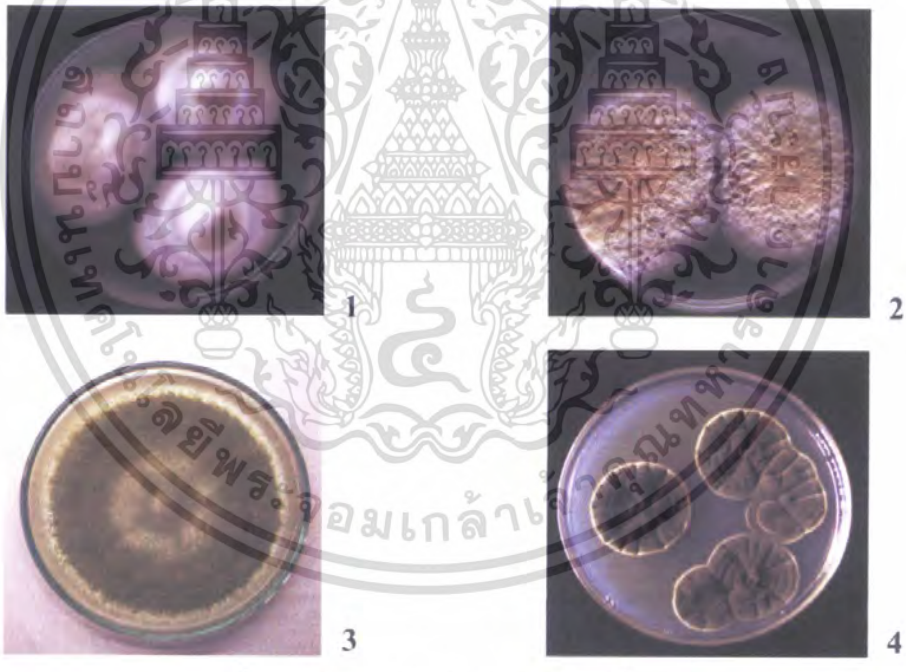
(ที่มา : พรรณกร, 2538)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5.1.2 เชื้อราสาย

โคโลนีมีสีต่างๆกัน เช่น ขาว เขียว เหลือง ดำ ผิวหน้าโคโลนีมีได้หลายแบบเช่น

- ฟูคล้ายสำลีหรือขนสัตว์ (cottony, wooly) สายราอากาศเจริญยาวประมาณ ½ นิ้ว (รูปที่ 2.7 ภาพหมายเลข 1)
- นุ่มคล้ายกำมะหยี่ (velvety) สายราอากาศเจริญยาวประมาณ ¼ นิ้ว (รูปที่ 2.7 ภาพหมายเลข 3)
- เป็นผง (granular) เนื่องจากมีการสร้างโคนิเดียมาก ทำให้ผิวหน้าโคโลนีเป็นผงคล้ายเกลือน้ำตาล เม็ดทรายละเอียด หรือผงแป้ง (รูปที่ 2.7 ภาพหมายเลข 2)
- เนียนคล้ายหนัง (glabrous, waxy) เนื่องจากไม่สร้างสายราอากาศ (รูปที่ 2.7 ภาพหมายเลข 4)



รูปที่ 2.7 ลักษณะผิวหน้าโคโลนีของเชื้อราสาย
(ที่มา : กัญญา และคณะ, 2547)

ผิวหน้าของโคโลนีอาจมีส่วนที่ยกนูนคล้ายเนินและส่วนที่ยุบลงไปคล้ายหุบเขา เกิดเป็นแบบต่างๆกันดังนี้

- แผ่เป็นรัศมี (rugose) มีร่องแผ่เป็นรัศมีจากจุดกลาง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- ยกเป็นกระดุม (umbonate) ตรงกลางโคโลนียกขึ้นสูงคล้ายกระดุม
- ขรุขระ (verrucose) ผิวหน้าโคโลนียกเป็นเนินและมีส่วนที่ยุบลงเป็นหุบเขาอย่างไม่เป็นระเบียบ

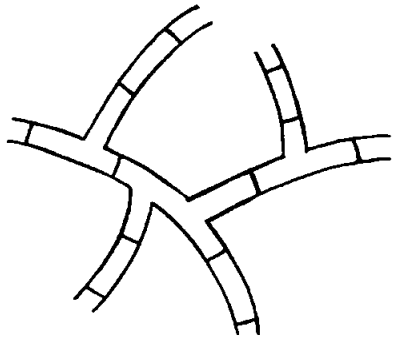
ด้านล่างของโคโลนีอาจไม่มีสี หรือมีสีต่างๆกัน สายราที่ชูขึ้นในอากาศเรียกว่า สายราอากาศ (aerial hypha) (รูปที่ 2.8) ทำหน้าที่ในการสืบพันธุ์ เชื้อราอาจสร้างหน่วยสืบพันธุ์ชนิดไม่ผสมเพศและผสมเพศ สายราอีกส่วนที่งอกลงในอาหารทำหน้าที่ดูดซึมอาหาร เรียกว่า สายราดูดอาหาร (vegetative hypha) เชื้อราสายมีการเจริญเติบโตที่ปลายสายเป็นสำคัญ

รูปที่ 2.8 สายราอากาศและสายราดูดอาหาร
(ที่มา : พรรณกร, 2538)

กลุ่มของสายรา (hypha) เมื่อรวมกันแน่น เรียกว่า ไมซีเลียม (mycelium) ในทางปฏิบัติใช้คำว่า hypha และ mycelium แทนกันได้ เชื้อราสายอาจจำแนกตามขนาดและผนังกั้นได้เป็น 2 ชนิดคือ

1) เชื้อราสายชนิดที่มีผนังกั้น (septate hypha) (รูปที่ 2.9) สายราขนาดกว้างประมาณ 1-2 ไมโครเมตร มีผนังกั้นชัดเจน นิวเคลียสและไซโตพลาสซึมอยู่เป็นสัดส่วน แต่ถ้าใช้กล้องจุลทรรศน์ที่มีกำลังขยายมากส่องดูจะพบรู (microscopic pore) ส่วนที่อยู่ภายในเซลล์มีการเคลื่อนไหวได้ (hyphal streaming)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.9 เชื้อราสายชนิดที่มีผนังกั้น

(ที่มา : พรรณกร, 2538)

2) เชื้อราสายชนิดไม่มีผนังกั้น (non septate hypha) (รูปที่ 2.10) สายรา ขนาด 4-10 ไมโครเมตร ไม่มีผนังกั้น นิวเคลียสและไซโตพลาสซึมเคลื่อนไหวปะปนกัน แต่จะเกิดผนังกั้นได้ เช่น เวลาสืบพันธุ์ หรือสายราขาด โดยปกติโคโลนีของเชื้อราสายชนิดไม่มีผนังกั้นนี้มักฟูกว่าชนิดที่มีผนังกั้น

รูปที่ 2.10 เชื้อราสายชนิดที่ไม่มีผนังกั้น

(ที่มา : พรรณกร, 2538)

2.5.2 การสืบพันธุ์ของเชื้อรา

การสืบพันธุ์ของเชื้อราแบ่งได้เป็น 2 แบบ คือ

2.5.2.1 การสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ (Asexual, non-sexual, somatic, vegetative reproduction) เป็นการสืบพันธุ์โดยไม่มีการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมจากการรวมตัวของ nuclei sex cell หรือ sex organ การสืบพันธุ์แบบนี้มีความสำคัญอย่างมากต่อการแพร่ระบาดของโรคพืช

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

เนื่องจากเชื้อราสามารถเพิ่มจำนวนได้หลายๆครั้งในฤดูเดียว การสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศสามารถแบ่งออกได้เป็น

1) Fragmentation of somatic hypha เป็นการขยายพันธุ์ของเชื้อราที่เกิดจากการขาด แตกหัก ออกเป็นท่อนๆ โดยแต่ละท่อนสามารถเจริญเป็นเส้นใยใหม่ได้

2) Fission of somatic cell เป็นการแบ่งเซลล์จากหนึ่งเซลล์เป็นสองเซลล์ โดยเซลล์เริ่มคอด และสร้างผนังเซลล์มากั้น หลังจากนั้นเซลล์จึงแยกออกจากกัน การสืบพันธุ์แบบนี้มักพบในยีสต์

3) Budding เป็นการแตกหน่อของเซลล์ แต่ละหน่อกลายเป็นเซลล์ใหม่ เกิดโดยเชื้อราสร้างปุ่มเล็กๆ (bud) จากเซลล์เดิมหรือ parent cell จากนั้นนิวเคลียสในเซลล์เดิมจะแบ่งตัวแล้วเคลื่อนไปอยู่ที่ปุ่ม หลังจากนั้นปุ่มจะขยายใหญ่ขึ้น แล้วหลุดไปเป็นเซลล์ใหม่ หรืออาจยังคงติดอยู่กับเซลล์เดิม และเซลล์เดิมอาจสร้างปุ่มใหม่ต่อไปได้ พบในพวกยีสต์

4) Spore formation เป็นการสร้างสปอร์ที่ไม่ได้เกิดจากการรวมกันของนิวเคลียสจากเซลล์สืบพันธุ์ การเกิดของสปอร์สามารถแบ่งออกได้เป็น 4 ชนิด ดังนี้

4.1) Thallospore เป็นสปอร์ที่เกิดจากเส้นใยโดยตรง ได้แก่

- Arthospore: เป็นสปอร์ที่เกิดจากการขาดของเส้นใยออกเป็นท่อนๆ แต่ละท่อนทำหน้าที่เป็นสปอร์ บางครั้งเราเรียกสปอร์นี้ว่า ออยเดีย (oidia)

- Chlamydospore เป็นสปอร์ผนังหนา เกิดจากเซลล์ของเส้นใยมีผนังหนาขึ้นเพื่อเก็บสะสมอาหาร อาจมีลักษณะกลมหรือรี เกิดได้ทั้งส่วนปลายของเส้นใย (terminal chlamydospore) หรือเกิดอยู่บริเวณในสายของเส้นใย (intracalary chlamydospore) เชื้อราจะสร้าง chlamydospore เมื่อสภาพแวดล้อมไม่เหมาะสมเพื่อใช้ในการพักตัว

4.2) Conidia เป็นสปอร์ที่สร้างออกมาจาก somatic hypha มักเกิดบนก้านชูสปอร์ (conidiophore) conidia สามารถนำมาใช้ในการจำแนกเชื้อราได้ โดยใช้ลักษณะทางด้านรูปร่าง ขนาด สี และจำนวนเซลล์ conidia ของราบางชนิดอาจเกิดในโครงสร้างห่อหุ้ม (fruiting body) เช่น pycnidium acervulus sporodocium และ synnema

4.3) Sporangiospore เกิดอยู่ในโครงสร้างที่เรียกว่า sporangium แบ่งออกได้เป็น

- ชนิดที่เคลื่อนที่ได้โดยใช้ flagella เรียกว่า zoospore
- ชนิดที่ไม่สามารถเคลื่อนที่ได้ เรียกว่า aplanospore

4.4) Blastospore เกิดจากการแตกหน่อออกจากเส้นใย หลังจากนั้นหน่อที่แตกใหม่จะหลุดออกจากเส้นใย และเจริญเป็นเส้นใยใหม่ต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
83984

2.5.2.2 การสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ (Sexual reproduction) เป็นการสืบพันธุ์ที่มีการรวมตัวและแลกเปลี่ยนสารพันธุกรรมกันระหว่างเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้และเซลล์สืบพันธุ์เพศเมีย ขบวนการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศสามารถแบ่งได้เป็น 3 ระยะคือ

1) Plasmogamy เป็นระยะที่มีการรวมตัวกันของ protoplasm ของเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้และเพศเมีย กลายเป็นเซลล์เดียวที่มีจำนวนนิวเคลียสเป็น n+n หรือเรียกว่า dikaryon

2) Karyogamy หลังจากเกิด plasmogamy แล้วต่อมาจะเกิดการรวมตัวกันของนิวเคลียสจากทั้งสองเพศ กลายเป็นนิวเคลียสเดียว ที่มีจำนวนโครโมโซมเป็น diploid (2n)

3) Meiosis หรือ haploidization เป็นการลดจำนวนโครโมโซมจากนิวเคลียสในระยะ karyogamy ลงเหลือครึ่งหนึ่ง กลายเป็นนิวเคลียสที่มีจำนวนโครโมโซม 1 ชุด (haploid) นิวเคลียสใหม่ที่ได้จะเคลื่อนที่เข้าไปในโครงสร้างที่จะสร้างสปอร์ต่อไป เรียกสปอร์ที่เกิดขึ้นว่าสปอร์แบบมีเพศ (sexual spore)

การสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ เชื้อราจะผสมกันได้จะต้องมีความเข้ากันได้ (compatibility) ซึ่งกันและกัน ดังนั้นเชื้อราบางชนิดจึงต้องมีเพศ (mating type) ที่ต่างกัน จึงสามารถผสมพันธุ์กันได้ ในการเข้ากันได้ทางเพศของเชื้อราสามารถแบ่งออกได้เป็น 3 กลุ่ม ดังนี้

1) Homothallic เชื้อราสามารถผสมกันได้ในตัวเอง (self-fertile) โดยเกิดการรวมตัวกันของนิวเคลียสภายในเส้นใยเดียวกัน

2) Heterothallic เชื้อราจะต้องอาศัยเส้นใยต่างเพศในการผสมพันธุ์กัน ไม่สามารถผสมตัวเองได้ แบ่งออกได้เป็น 2 ชนิด คือ

2.1) Bipolar heterothallic ลักษณะทางเพศถูกควบคุมด้วย gene 1 factor เรียกว่า A factor เชื้อราจะมี 2 เพศ คือ A1 และ A2 เชื้อราจะผสมกันได้จะต้องมีเพศตรงข้ามกัน (A1 ผสมกับ A2)

2.2) Tetrapolar hetero thallic ลักษณะทางเพศถูกควบคุมด้วย gene 2 factor คือ A และ B เชื้อราจะมี 4 เพศ คือ A1B1 A1B2 A2B1 และ A2B2 เชื้อราจะผสมกันได้จะต้องมีเพศตรงข้ามกัน (A1B1 ผสมกับ A2B2)

3) Secondary homothallic เชื้อราที่เป็น bipolar heterothallic ในระหว่างที่มีการสร้างสปอร์อาจเกิดกลไกที่ทำให้นิวเคลียสที่มีเพศต่างกันมาอยู่ในสปอร์เดียวกัน (สปอร์เป็น 2n) เส้นใยที่งอกจะมีนิวเคลียสแบบ A1 และ A2 อยู่ด้วยกัน ต่อมาเมื่อมีการผสมกันจะสามารถรวมตัวกันได้เองภายในเส้นใยเดียวกันโดยไม่ต้องอาศัยเส้นใยอื่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5.3 การเก็บรักษาเชื้อรา (สมบูรณ์, 2544)

การเก็บรักษาเชื้อจะได้รับผลดีที่สุดเมื่อเลี้ยงเชื้อในภาวะที่เหมาะสมตามระยะเวลาที่กำหนด ถึงแม้ว่าเชื้อแต่ละชนิดจะมีความต้องการอาหารแตกต่างกัน แต่เชื้อในสกุลหรือชนิดเดียวกันสามารถเจริญได้ดีในอาหารอย่างเดียวกัน ความรู้เกี่ยวกับแหล่งกำเนิดของเชื้อสามารถบ่งบอกภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญ ด้วยเหตุนี้เชื้อที่แยกได้จากแยม (jam) หรือเค็ก (cake) จะเจริญดีที่สุดบนอาหารที่มีน้ำตาลสูง และเชื้อที่พบบนใบไม้จะสร้างสปอร์ได้ดีในที่มีแสง ขณะที่เชื้อจากดินเจริญได้ดีในที่มืด เชื้อจากเขตร้อนเจริญดีที่อุณหภูมิสูง สิ่งที่มีผลต่อการเจริญจึงได้แก่อาหารหรือสารอาหร pH water activity อุณหภูมิ แสง และอากาศ (เชื้อราส่วนใหญ่ต้องการอากาศจึงต้องให้อากาศอย่างเพียงพอ)

2.5.3.1 ปัจจัยต่างๆที่มีผลต่อการเจริญของเชื้อราในขณะที่เก็บรักษา

1) อาหาร

เชื้อเจริญดีที่สุดบนวุ้นผิวเอียงภายในหลอดหรือขวด การเลี้ยงเชื้อราในห้องปฏิบัติการทั่วไปไม่นิยมใช้อาหารแตกต่างกันหลายชนิด มักใช้อาหารที่เชื้อส่วนใหญ่เจริญได้ เช่น เชื้อราทางการแพทย์ขึ้นดีบนอาหาร Sabouraud บางเชื้อไม่เจริญในอาหารเดียวกันจึงต้องใช้อาหารชนิดอื่นด้วย ศูนย์เก็บรวบรวมเชื้อหลายแห่งเช่น Commonwealth Mycological Institute (CMI) ต้องใช้อาหารหลายชนิด จากประสบการณ์พบว่า เชื้อเจริญได้ดีบนอาหารที่เตรียมใหม่ โดยเฉพาะอาหารธรรมชาติ เช่น ส่วนสกัดจากพืช (vegetable decoction) ซึ่งมีราคาถูกและเตรียมได้ง่าย กรณีที่อุปกรณ์จำกัดและอาหารปริมาณเล็กน้อย อาจฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งไอน้ำ ปรับ pH ด้วยไฮโดรคลอริก (HCL) หรือโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (KOH) และตรวจสอบด้วยกระดาษวัดค่า pH บางคนใช้ Czapek's Agar Steep Agar และ Malt Extract Agar เลี้ยง Penicillia และ Aspergilli เชื้อพวก Mucorales เจริญดีบน Malt Agar แต่ไม่เจริญบน Czapek's Agar เชื้อราหลายชนิดเจริญได้บน Potato Dextrose Agar แต่อาหารนี้อุดมมากทำให้เส้นใยเจริญดีและเชื้อไม่สร้างสปอร์ ดังนั้นถ้าเลี้ยงเชื้อราบน Potato carrot Agar (PCA) ซึ่งเป็นอาหารไม่อุดม เชื้อจะสร้างสปอร์ได้ดี เชื้อ *Fusarium* เจริญดีบน Potato Sucrose Agar wood inhibiting fungi และ dematiaceous fungi มักสร้างสปอร์บน Cornmeal Agar และ Oat Agar เชื้อทั้งสองพวกนี้สลายคาร์โบไฮเดรตได้ไม่ดี เชื่อราพวกที่สลายเซลลูโลสได้และพวก spoilage fungi สกุล *Trichoderma* *Chaetomium* และ *Stachybotrys* ยังคงรักษาความสามารถสร้างเซลลูเลสเมื่อเจริญบนอาหารไม่อุดม เช่น Tap Water Agar หรือ PCA ที่เติมกระดาษกรองฟางข้าวสาลีหรือ lupin stem ไว้บนผิววุ้น ส่วนเชื้อพวก dermatophytes เจริญได้บนเส้นผม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2) อุณหภูมิ

เชื้อราส่วนใหญ่เป็น mesophilic เจริญในช่วงอุณหภูมิ 10-40 องศาเซลเซียส และเจริญได้ที่อุณหภูมิห้อง (15-30 องศาเซลเซียส) บางเชื้อสามารถเจริญที่อุณหภูมิสูงกว่านี้ แต่ก็ยังเจริญได้ที่อุณหภูมิภายในช่วงของ mesophilic เรียกพวกนี้ว่า thermotolerant พวกที่เจริญและสร้างสปอร์ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส และไม่สามารถเจริญที่อุณหภูมิต่ำกว่า 20 องศาเซลเซียส เรียกว่า thermophilic เชื้อราที่เจริญที่อุณหภูมิต่ำเรียกว่า psychrophilic จะไม่เจริญที่ 20 องศาเซลเซียส และสูงกว่านี้ แต่พวก psychrotolerant เจริญที่อุณหภูมิต่ำและยังเจริญในช่วงของ mesophilic

3) แสง

ถึงแม้บางเชื้อจะเจริญได้ดีในตู้บ่มเชื้อทั่วไปซึ่งมืด หลายชนิดเจริญได้ดีกว่าในที่มีแสง บางเชื้อสร้างสปอร์ได้ดีภายใต้แสงมืด (ใกล้ UV) ที่ CMI เชื้อส่วนใหญ่เจริญในที่มีแสง เชื้อราที่อยู่ตามใบไม้และลำต้นพืชจะไวต่อแสง

4) อากาศ

เชื้อราเป็นพวกที่ต้องการอากาศ เมื่อเจริญบนอาหารภายในหลอดหรือขวดปกติจะได้รับอากาศเพียงพอ โดยผ่านจากสำลีหรือฝาเกลียว (ไม่ควรปิดฝาแน่นเกินไป) อย่างไรก็ตามเชื้อราในน้ำบางชนิดต้องการอากาศโดยการให้อากาศแบบ bubbling

5) Water activity (a_w)

เชื้อทุกชนิดต้องการน้ำในการเจริญ โดยที่แต่ละชิดต้องการ available water ต่างกัน ส่วนใหญ่ต้องการน้ำปริมาณสูง เชื้อบางชนิดเจริญที่ a_w ต่ำ พวกที่ขึ้นได้ในแยมหรือปลาเค็มจะไวต่อน้ำ และเจริญได้ดีบนอาหารที่มีน้ำตาลหรือเกลือสูง เรียกพวกนี้ว่า xerophile osmophile หรือ halophile พวกที่เจริญในสิ่งแวดล้อมที่มี osmotic pressure สูง เรียกว่า osmophile พวกที่ต้องการเกลือ (NaCl) เรียกว่า halophile

6) pH

เชื้อราเจริญได้ที่ pH ต่างกัน แต่มักเจริญดีที่สุดในภาวะเป็นกรด pH 5-6 บางเชื้อเจริญได้ที่ pH เป็นกรดมาก เช่น pH 2 หรือต่ำกว่า

2.5.3.2 วิธีการเก็บรักษาเชื้อรา

เชื้อราที่เจริญดีสามารถเก็บรักษาได้หลายปีโดยเลี้ยงบนอาหารในภาวะที่เหมาะสมแล้วถ่ายไปยังอาหารใหม่ก่อนที่อาหารจะแห้งหรือหมดไป สิ่งเหล่านี้ต้องอาศัยความรู้ในการดูแลต้องตรวจสอบว่าต่อเชื้อในช่วงเวลาที่เหมาะสมเพียงใด และต้องไม่มีเชื้ออื่นปะปนและเกิดการกลายพันธุ์ของเชื้อเริ่มแรก วิธีการเก็บรักษาเชื้อให้อยู่ได้นานมีหลายวิธี ได้แก่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1) การต่อเชื้อบ่อย (frequent transfer)

เป็นการต่อเชื้อจากอาหารเก่าไปยังอาหารใหม่ให้เชื้อเจริญในภาวะเหมาะสม เมื่อเจริญหรือสร้างสปอร์แล้ว เก็บรักษาไว้จนถึงเวลาต่อเชื้อใหม่ ควรเลี้ยงเชื้อบนวุ้นผิวเอียงภายในหลอดหรือขวดแล้วแต่ความต้องการ ขวดก้นแบนวางได้ง่ายและสะดวกในการเก็บรักษา บางชนิดมีฝาเกลียวเก็บไว้ได้นานวุ้นไม่แห้ง อย่างไรก็ตามการปิดหลอดเพาะเชื้อต้องปิดให้ฝาหลวมเพื่อให้อากาศผ่านเข้าได้ ซึ่งอาจทำให้ตัวไรเข้าไปด้วย หรืออาจใช้จุกสำลีปิดหลอดแทนเพื่อป้องกันตัวไร แต่การเตรียมค่อนข้างเสียเวลา

การเก็บรักษาเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้องหากต้องการเก็บช่วงสั้น การรอดชีวิตและช่วงเวลาต่อเชื้อใหม่จะแตกต่างกันตามชนิดของเชื้อ รานำ และราที่ก่อให้เกิดโรคต้องต่อเชื้อทุก 1-2 สัปดาห์ ขณะที่เชื้อ Penicillia และ Aspergilli รอดชีวิตได้หลายปี อย่างไรก็ตามควรทำการต่อเชื้อทุก 2-6 เดือน หากเก็บไว้ในห้องเย็นช่วงเวลาต่อเชื้อใหม่จะยาวออกไปเพราะอุณหภูมิที่ต่ำจะช่วยลดอัตราการเจริญและอัตราการเปลี่ยนแปลง การเก็บรักษาไว้ที่ 4-7 องศาเซลเซียส จะช่วยยืดเวลาการต่อเชื้อเป็น 4-8 เดือน อย่างไรก็ตามอาจเกิดปัญหาการปะปนของแบคทีเรียได้เมื่อความชื้นเพิ่มขึ้น ซึ่งจะทำให้เชื้อราที่ทนความเย็นสามารถเจริญออกมาภายนอกหลอดและทำให้เกิดการปะปนกัน การเก็บรักษาไว้ในห้องปรับอากาศที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 60 ทำให้เชื้อรอดชีวิตได้ เชื้อราบางชนิดสามารถเก็บได้ในตู้เยือกแข็งที่อุณหภูมิติดลบ 17 หรือ 24 องศาเซลเซียส ได้เป็นเวลานาน 4-5 ปี การต่อเชื้อบ่อยๆ อาจทำให้เชื้อกลายพันธุ์ สูญเสียความเป็นเชื้อโรคหรือลักษณะทางสัณฐานวิทยาหรือสรีรวิทยาเปลี่ยนแปลงไป เกิดการปะปนโดยสปอร์จากอากาศหรือตัวไรที่เข้าไป ซึ่งต้องมีผู้เชี่ยวชาญที่สามารถบอกได้ว่าเชื้อนั้นมีเชื้ออื่นปะปนหรือไม่ จึงต้องใช้แรงงานมากและเสียเวลา แต่การเก็บรักษาด้วยวิธีการนี้สามารถเก็บได้นานพอสมควร ประหยัดค่าใช้จ่ายไม่ต้องใช้อุปกรณ์พิเศษและทำได้ง่าย

2) การเก็บรักษาภายใต้น้ำมันแร่ (storage under mineral oil)

การเทน้ำมันแร่ทับเชื้อที่เจริญบนผิววุ้นช่วยป้องกันการเสียน้ำ ช่วยลด metabolic activity และลดออกซิเจน ทำให้เชื้อเจริญน้อย หลังจากที่เชื้อเจริญเต็มที่แล้วปิดทับด้วยน้ำมันแร่สูง 1 เซนติเมตร (liquid paraffin หรือ medical paraffin มีความถ่วงจำเพาะ 0.830-0.890) การทำให้น้ำมันปราศจากเชื้อนั้นทำได้โดยการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที 2 ครั้ง หากหลอดอาหารมีขนาดสั้นต้องใช้น้ำมันแร่ปริมาณน้อย แต่อย่างไรก็ตามควรเทให้ทั่วเพราะเมื่อทิ้งไว้นานจะทำให้เส้นใยที่ไม่ถูกปิดทับแห้ง ควรเติมน้ำมันแร่เพียงครั้งเดียวเพราะขณะที่เติมจะทำให้สปอร์หลุดออกจากผิว ถ้าเติมหลายๆครั้งจะกระจายติดน้ำมันแร่ ควรเก็บรักษาเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้องหรือต่ำกว่า (15 องศาเซลเซียส) การนำเชื้อออกมาเลี้ยงให้ใช้เข็มเขี่ยส่วนของเส้นใย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไปเพาะลงบนอาหารในจานหรือหลอด การเลี้ยงครั้งแรกอัตราการเจริญจะลดลงและปรากฏโคโลนีคล้ายเมือก เมื่อต่อเชื้ออีกครั้งจะทำให้เชื้อเจริญดีขึ้น

การเก็บรักษาด้วยวิธีการนี้อาจเกิดการปะปนโดยเชื้อจากอากาศ และเมื่อนำเชื้อออกมาเลี้ยงใหม่จะเจริญได้ช้า เชื้อบางชนิดอาจสูญเสียความสามารถสร้าง ascospores วิธีการนี้ไม่เหมาะต่อการเก็บรักษาเชื้อราที่ก่อโรคเพราะน้ำมันแร่ที่ใช้อาจกระจายเป็นอันตรายได้ แต่วิธีการนี้ไม่ต้องใช้อุปกรณ์ราคาแพง และตัวไรไม่เข้าสู่เชื้อ

3) การเก็บรักษาในดิน (soil storage)

เตรียมซัสเพนชันของสปอร์โดยใช้น้ำที่ปราศจากเชื้อเติมซัสเพนชัน 1 มิลลิลิตร ลงในดินสวน (ความชื้นร้อยละ 20) ซึ่งบรรจุในขวด 1 ออนซ์ (1/3 ของขวด) ทำให้ปราศจากเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที ปล่อยให้เชื้อเจริญประมาณ 10 วัน ที่อุณหภูมิห้อง หรือ 2-3 วัน สำหรับเชื้อที่เจริญได้เร็ว แล้วเก็บรักษาไว้ภายในตู้เย็น 4-7 องศาเซลเซียส โดยไม่ปิดฝาแน่น การนำเชื้อออกมาเลี้ยงให้ใช้เข็มเขี่ยแตะเม็ดดินที่มีเชื้อไปเลี้ยงบนอาหารที่เหมาะสม

การเก็บไว้ในตู้เย็นเชื้อจะรอดชีวิตได้ยาวนานและมีความคงตัว เช่น *Rhizopus Alternaria Aspergillus* และ *Penicillium* เชื้อ *Septoria* species ที่แยกได้จากธัญพืชเมื่อเก็บไว้ในดินนาน 20 เดือน จะไม่สูญเสียคุณสมบัติการก่อโรค วิธีการนี้ไม่ต้องใช้อุปกรณ์ราคาแพง ไม่ต้องใช้แรงงานมากและเชื้อจะไม่ถูกปะปนด้วยตัวไร

4) การเก็บเชื้อไว้ในน้ำ (Water storage)

เป็นวิธีการง่ายๆและราคาถูก ทำโดยตัดชิ้นวุ้นรูปสี่เหลี่ยมขนาด 6 ตารางมิลลิเมตร จากโคโลนีให้ได้ปลายเส้นใยที่กำลังเจริญ นำไปวางลงในน้ำปราศจากเชื้อภายในขวด McCartney เก็บรักษาไว้ในห้องเย็น (15 องศาเซลเซียส) วิธีการนี้ใช้เก็บรักษาเชื้อโรคพืชในกลุ่ม Phycomycetes Ascomycetes Fungi Imperfecti และ Basidiomycetes เชื้อ *Phytophthora* และ *Phythium* หากรักษาอยู่ในภาวะที่ดีจะเก็บได้นาน 2-3 ปี การนำเชื้อออกมาเลี้ยงทำได้โดยนำชิ้นวุ้นที่มีเชื้อวางลงบนอาหารที่เหมาะสม

2.6 เอนโดไฟท์ (Endophyte) (นคร, 2548)

เอนโดไฟท์เป็นจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ภายในเนื้อเนื่องของพืชโดยที่ไม่เข้าไปมีผลทำลายเซลล์ของพืชซึ่งเป็นผู้ให้อาศัย (host) เชื้อเอนโดไฟท์มีความแตกต่างจากจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคในพืช (pathogen) ซึ่งมีรูปแบบการเข้าทำลายพืชในรูปแบบต่างๆ โดยบางสปีชีส์สร้างสารพิษออกมาเพื่อทำลายเนื้อเยื่อของพืชซึ่งเป็นผู้ให้อาศัย เราเรียกจุลินทรีย์กลุ่มนี้ว่าเนโครโทรพ (necrotroph)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จุลินทรีย์บางชนิดเจริญที่ผิวของพืชตลอดจนเข้าไปรบกวนการทำงานต่างๆของเซลล์พืช จะจัดอยู่ในกลุ่มอีพิไฟท์ (epiphyte) และจุลินทรีย์ที่เจริญบนซากพืชที่ตายแล้วจัดเป็นกลุ่มซาโพรไฟท์ (saprophyte) ซึ่งจุลินทรีย์เหล่านี้ล้วนแต่ก่อให้เกิดความเสียหายต่อพืชทั้งสิ้น ในอดีตเรารู้จักจุลินทรีย์ที่มีรูปแบบการดำรงชีพที่คล้ายกับเอนโดไฟท์คือ มายโคไรซา (mycorhiza) ซึ่งจัดเป็นจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ทั้งภายในพืชและบริเวณรอบๆรากของพืช แต่จุลินทรีย์กลุ่มนี้ได้มีการศึกษาแยกออกมาจากกลุ่มของเอนโดไฟท์ เนื่องจากมีโครงสร้างบางส่วนของเส้นใย (hyphae) เจริญปกคลุมอยู่รอบๆรากของพืช (ไม่ได้อยู่ในเซลล์ของพืชทั้งหมด) เชื้อจุลินทรีย์อีกกลุ่มที่รู้จักกันดีคือ ไรโซเบียม เป็นจุลินทรีย์ที่มีคุณสมบัติในการตรึงก๊าซไนโตรเจนอิสระในอากาศให้อยู่ในรูปของแอมโมเนีย (NH_3) หรือ กรดอะมิโน (เช่น อะลานีน) จุลินทรีย์ในกลุ่มไรโซเบียมอาศัยอยู่ในรากพืชจริง แต่ผลจากการอาศัยอยู่ของจุลินทรีย์ในรากพืชจะทำให้พืชเกิดการเปลี่ยนแปลงคือทำให้เกิดปมรากขึ้นมา จากความผิดปกติที่เกิดขึ้นดังกล่าวเราจึงทำการแยกศึกษาเชื้อจุลินทรีย์ชนิดนี้ออกจากเชื้อเอนโดไฟท์ สำหรับในกรณีของเชื้อแบคทีเรียเอนโดไฟท์ที่สามารถตรึงไนโตรเจนได้เราจะเรียกเชื้อในกลุ่มนี้ว่า endophytic diazotrophic bacteria

เชื้อเอนโดไฟท์ถูกพบครั้งแรกในประเทศนิวซีแลนด์ และสหรัฐอเมริกา ในปลายปี ค.ศ. 1940 โดยมีการค้นพบสารพิษที่สร้างจากเอนโดไฟท์ที่เจริญอยู่ในหญ้า (ที่ใช้เลี้ยงสัตว์) ซึ่งหลังจากที่สัตว์กินเข้าไปแล้วจะแสดงอาการผิดปกติและเริ่มมีการศึกษาเรื่อยมาจนสืบเนื่องถึงปัจจุบันจึงพบว่าเอนโดไฟท์มีบทบาทสำคัญในการช่วยป้องกันพืชซึ่งเป็นผู้ให้อาศัย จากการถูกทำลายด้วยแมลงกินพืช ช่วยให้พืชมีความต้านทานต่อการฉีกขาดเนื่องจากแรงกระทำต่างๆในธรรมชาติ (เช่น แรงไหลของน้ำ เป็นต้น) ช่วยสร้างฮอร์โมนพืช (phylohormone) บางอย่างช่วยให้พืชมีความสามารถในการแข่งขัน ช่วยส่งเสริมการงอกของเมล็ดพืช และสามารถสร้างสารประกอบที่น่าสนใจอื่นๆอีกมาก เช่น เอนไซม์ ยาที่มีความสำคัญทางเภสัชกรรม และในเชิงพาณิชย์ เชื้อเอนโดไฟท์ยังได้รับความสนใจอย่างมากในแง่ของการเป็นแหล่งของจุลินทรีย์ที่ยังไม่มีการค้นพบมาก่อน (new species) โดยพืชในท้องถิ่นต่างได้รับความสนใจที่จะใช้เป็นแหล่งศึกษาโดยนักวิทยาศาสตร์ที่อยู่ในท้องที่นั้น ในประเทศไทยเริ่มมีการตื่นตัวและศึกษาเกี่ยวกับเอนโดไฟท์มากขึ้น และตอนนี้เรามีฐานข้อมูลของเชื้อเอนโดไฟท์ที่พบในสมุนไพรไทยในท้องถิ่นให้ศึกษากันบ้างแล้ว ในปัจจุบันเราสามารถคาดการณ์ได้ว่าพืชทุกชนิดเป็นที่อยู่ของเอนโดไฟท์ ดังนั้นจึงเกิดคำถามว่าในโลกนี้มีพืชกี่ชนิด และพืชแต่ละชนิดมี เอนโดไฟท์อาศัยอยู่ทั้งหมดกี่สปีชีส์กันแน่ ถ้าพิจารณาเฉพาะที่มีระบบท่อลำเลียงเราจะพบว่าในปัจจุบันมีการค้นพบประมาณ 400,000 สปีชีส์ และแต่ละสปีชีส์มีโอกาสที่จะพบเชื้อเอนโดไฟท์ 3-6 สปีชีส์เลยทีเดียว และคาดว่าเราน่าจะพบเชื้อเอนโดไฟท์ในโลกนี้อย่างน้อยก็ประมาณ 2 ล้านสปีชีส์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6.1 สารพิษที่เป็นประโยชน์จากเชื้อราเอนโดไฟท์

บทบาทของเชื้อราเอนโดไฟท์ในอดีตจนถึงปัจจุบันนักวิทยาศาสตร์สนใจเกี่ยวกับกลไกการส่งเสริมให้พืชมีความต้านทานต่อการเข้าทำลายของแมลง โดยเริ่มแรกมีการศึกษาในพืชตระกูลหญ้า จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าเชื้อเอนโดไฟท์ได้สร้างสารพิษที่สำคัญ ได้แก่ โลลิเทรม บี (lolitrem B) พารามีน (paramine) และเออร์โกวาลีน (ergovaline) โดยสารพิษดังกล่าวจะมีผลต่อแมลง คือ ทำให้แมลงอดอาหาร ลดอัตราการเจริญ และทำให้อัตราการรอดชีวิตลดลง โดยเชื้อเอนโดไฟท์ที่สามารถสร้างสารพิษในกลุ่มดังกล่าว ได้แก่ *Acremonium lolii* และ *Epichole typhina* แต่อย่างไรก็ตาม การสร้างสารพิษจะเกิดขึ้นในปริมาณมากหรือน้อยนั้นยังขึ้นอยู่กับปัจจัยภายนอกเช่นกัน เช่น การเปลี่ยนอุณหภูมิ และฤดูกาลจะทำให้ระดับสารพิษในพืชเปลี่ยนไป นอกจากนี้ยังมีสารพิษบางชนิด เช่น โลลิเทรม บี ซึ่งการเปลี่ยนสารตั้งต้นให้เป็นสารดังกล่าวยังไม่ทราบที่มาว่าเกิดมาจากกระบวนการเปลี่ยนแปลงของพืชหรือจุลินทรีย์ในสภาวะใด

2.6.2 ผลกระทบของสารพิษจากเอนโดไฟท์

สารพิษที่เชื้อเอนโดไฟท์สร้างขึ้นนอกจากจะมีผลต่อแมลงที่กินสารพิษแล้ว สารพิษบางชนิดยังมีผลต่อสัตว์ที่กินพืชเข้าไปด้วยเช่นกัน สารโลลิเทรม บี จะมีผลต่อระบบประสาท เมื่อสัตว์กินสารชนิดนี้เข้าไป จะทำให้สัตว์เกิดการเดินไม่สะดวกหรือยืนลำบาก สารเออร์-โกวาลีนเป็นสาเหตุทำให้สัตว์มีอุณหภูมิสูงขึ้น เนื่องจากสารดังกล่าวจะมีผลต่อการขยายตัวของหลอดเลือด สารชนิดนี้ยังทำปฏิกิริยาร่วมกับโลลิเทรม บี ทำให้สารพิษออกฤทธิ์ได้รุนแรงขึ้น

ในอนาคตมีความพยายามที่จะค้นคว้าหาสารพิษชนิดใหม่จากเชื้อราเอนโดไฟท์ เนื่องจากในธรรมชาติพืชชนิดหนึ่งสามารถถูกทำลายโดยแมลงหลายชนิด ในการศึกษาจะเน้นสารที่มีผลเฉพาะต่อแมลงศัตรูพืชเท่านั้น โดยไม่มีผลข้างเคียงต่อสัตว์ชนิดอื่นที่กินพืชเข้าไปเช่นเดียวกัน ดังนั้นสายพันธุ์ของเอนโดไฟท์ที่ผลิตพารามีน แต่ไม่ผลิตสารโลลิเทรม บี และเออร์โกวาลีน จึงเป็นที่น่าสนใจมากขึ้น นอกจากนี้มีการค้นพบสารพิษชนิดใหม่ที่ใช้ควบคุมแมลงได้ดี เช่น ฟอร์มิโลนีน (formilonine) และสารอนาลอกของแพซิลีน (paxiline) จากเชื้อ *Neotyphodium* sp. สารดังกล่าวมีผลในการฆ่าแมลง

การศึกษาเกี่ยวกับเอนโดไฟท์ในปัจจุบันนักวิทยาศาสตร์จะเน้นศึกษาเชื้อเอนโดไฟท์ในพืชประจำภูมิภาคเป็นหลัก โดยเฉพาะความสัมพันธ์ชนิดของเอนโดไฟท์ที่พบในพืชแต่ละชนิดและพืชต่างชนิดกัน โดยมีการตั้งข้อสังเกตเกี่ยวกับการกระจายของเอนโดไฟท์ในแต่ละพื้นที่ว่าเป็นไปได้ในสองลักษณะ คือ การกระจายของเอนโดไฟท์จากพืชชนิดหนึ่งไปสู่พืชชนิดเดียวกันในพื้นที่ต่างกันโดยอาศัยปัจจัยทางธรรมชาติ เช่น ลม สัตว์พาหะต่างๆ (แมลง นก เป็นต้น) และการแพร่กระจายอีกลักษณะหนึ่งเป็นการกระจายของเอนโดไฟท์ในพืชจากรุ่นหนึ่งไปสู่อีกรุ่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หนึ่งโดยการพัฒนาผ่านเมล็ดและเจริญพร้อมกับการงอกของเมล็ดต่อไป ซึ่งรูปแบบการกระจายของเอนโดไฟท์จะทำให้เราทราบถึงธรรมชาติการเข้าสู่พืชว่าเกิดขึ้นได้โดยมีปัจจัยใดเป็นตัวเกื้อหนุน และเราอาจสามารถชักนำให้เกิดสภาวะของการเข้าสู่พืชผู้ให้อาศัยของเชื้อเอนโดไฟท์ตามธรรมชาติซึ่งจะทำให้พืชได้ประโยชน์จากการที่มีเอนโดไฟท์อาศัยอยู่ นอกจากนี้ยังมีการศึกษาการแยกเอนโดไฟท์จากพืชเพื่อผลิตสารที่สำคัญเพื่อพัฒนามาใช้ในทางการแพทย์ ต่อไปเมื่อสามารถพบเชื้อเอนโดไฟท์ที่ทราบคุณสมบัติที่แน่นอนจะทำให้การนำไปใช้สะดวกมากขึ้น เช่น การนำเชื้อเอน-โดไฟท์ที่มีความสามารถในการตรึงไนโตรเจนใส่กลับเข้าไปในพืชที่มีคุณค่าทางการค้า ก็จะสามารถทำให้พืชชนิดนั้นมีคุณสมบัติตรึงไนโตรเจนได้ เป็นต้น

2.7 การแยกและความหลากหลายของเชื้อราเอนโดไฟท์ในพืชต่างๆ (ชนินทร, 2545)

ในการแยกเชื้อราเอนโดไฟท์ต้องอาศัยความรู้ด้านชีวเคมี เพื่อทราบลักษณะและคุณสมบัติทางกายภาพของพืช ประกอบกับมีเทคนิคและวิธีการสุ่มตัวอย่างที่ดี จึงจะสามารถทำการแยกได้ชนิดและจำนวนตามความต้องการ นอกจากนี้เชื้อราเอนโดไฟท์ที่แยกได้ส่วนมากจะไม่เป็นสาเหตุของการเกิดโรค เพราะการจะเกิดโรคได้นั้นจะต้องมีความสัมพันธ์ระหว่างพืชอาศัย เชื้อสาเหตุ และสภาพแวดล้อม ซึ่งลักษณะเฉพาะตัวของพืชอาศัยกับเชื้อรานี้ยังไม่เป็นที่กระจ่างนัก (Sinclair, 1991)

การเก็บตัวอย่างพืชที่จะนำมาแยกเชื้อราเอนโดไฟท์นั้น พืชทั้งหมดที่จะทำการแยกควรเก็บในถุงพลาสติกและควรทำการแยกเชื้อภายใน 24 ชั่วโมง (Fisher และคณะ, 1986) และในการแยกควรฆ่าเชื้อที่พื้นผิวด้วยวิธีการที่เหมาะสมซึ่ง Spurr และ Welty (1975) พบว่าการเพิ่มแอลกอฮอล์เข้าไปในขั้นตอนการฆ่าเชื้อที่พื้นผิวจะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการใช้โซเดียมไฮโปคลอไรต์ฆ่าเชื้อที่พื้นผิวพืช และช่วยให้ชิ้นพืชเปียกอย่างทั่วถึง ทำให้การฆ่าเชื้อที่พื้นผิวเป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้น

Sieber (1989) ได้แยกเชื้อราเอนโดไฟท์จากต้นซพรูซนอร์เวย์ (Norway spruce) (*Picea abies*) และต้นเฟอร์ขาว (White fir) (*Abies alba*) ทั้งจากต้นที่เป็นโรคและไม่เป็นโรค พบว่าชนิดและจำนวนเชื้อราเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากพืชทั้งสองไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ยกเว้นเชื้อราบางชนิดที่แยกได้จากเนื้อเยื่อบางส่วนเท่านั้น ทั้งนี้อาจเป็นผลจากสภาพภูมิประเทศ ภูมิอากาศ และสภาวะแวดล้อมที่แตกต่างกัน ตัวอย่างเช่น *Phomopsis umensis* ชอบอากาศแบบแห้งแล้งและเย็น แต่ *Cornicullariella abietis* ชอบอากาศชื้นเป็นต้น ชนิดของเชื้อราเอนโดไฟท์ที่พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญในเนื้อเยื่อเพียงส่วนเดียวของต้นซพรูซนอร์เวย์ที่เป็นโรคและต้นปลอดโรคที่พบคือ *Sirodothis* sp. และ *Phomopsis occulta*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Sieber และคณะ (1991) ได้แยกเชื้อโรคและเชื้อราเอนโดไฟท์จากต้นออลเดอะแดง (red alder) (*Alnus rubra*) โดยนำใบและกิ่งที่มีอายุ 2-3 ปี ไม่เป็นโรคจาก 3 และ 8 แห่งตามลำดับ หลังจากผ่านการฆ่าเชื้อที่ผิวแล้วนำไปตัดเป็นชิ้นเล็กๆวางบนอาหาร malt extract agar เข้มข้นร้อยละ 2 พบว่าใบจำนวนร้อยละ 90 และกิ่งจำนวนมากกว่าร้อยละ 80 มีเชื้อราเอนโดไฟท์เจริญอยู่ สามารถแยกเชื้อราได้ 40 ชนิด และพบเชื้อราเอนโดไฟท์ซึ่งเดิมจัดเป็นเชื้อราก่อโรคในใบเป็นส่วนใหญ่

Bettucci และ Saravay (1993) แยกเชื้อราเอนโดไฟท์ได้ 41 ไอโซเลต จากลำต้นและใบของยอดอ่อนที่แตกจากตอและต้นอ่อนของ *Eucalyptus globulus* เชื้อราสำคัญที่พบในต้นอ่อน ยอดอ่อน ใบที่โตเต็มที่และท่อน้ำคือ *Plectophaera eucalypti* เชื้อราที่พบเพียงในท่อน้ำคือ *Cytospora* spp. และ *Microsphaeropsis* sp. ส่วน *Comella minima* พบในลำต้นของต้นอ่อน ใบอ่อนและใบโตเต็มที่มีการเจริญของเชื้อราแตกต่างกัน กล่าวคือ เริ่มด้วยการติดเชื้อ *C. Minima* แล้วตามด้วย *P. eucalypti* และ *Harknessia harwaiiensis* การวิเคราะห์ความเหมือนของทุก taxa ของตัวอย่างจากลำต้นแสดงให้เห็นความแตกต่างอย่างชัดเจนของ 3 ส่วน คือ ต้นอ่อน ท่อน้ำ และก้านยอดอ่อนโดยเปอร์เซ็นต์ของดัชนีความเหมือนระหว่างประชากรจากท่อน้ำ ก้านยอดอ่อน และลำต้นของต้นอ่อนต่ำมาก ซึ่งแสดงให้เห็นว่าประชากรเชื้อราเอนโดไฟท์มีความจำเพาะเจาะจงต่อเนื้อเยื่อแตกต่างกัน

Rodrigues (1994) ได้สำรวจเชื้อราเอนโดไฟท์ในใบพืชและเก็บตัวอย่างจาก *Euterpe oleracea* เป็นเวลานานกว่า 2 ปี โดยเฉลี่ยชิ้นส่วนใบร้อยละ 25 จากตัวอย่าง 10 ต้น และจากตัวอย่างพืช 10 ชิ้นต่อต้น พบว่ามีโคโลนีเชื้อราเอนโดไฟท์เจริญขึ้นกว่า 4 ชิ้น โดยการมีเชื้อราเอนโดไฟท์ขึ้นอยู่กับอายุใบ ระยะการเจริญเติบโตควบคู่กับฤดูกาลและระยะการเจริญเติบโตควบคู่กับแหล่งที่อยู่ มีเพียงบางไอโซเลตซึ่งน้อยมากที่แยกได้จากใบอ่อนมากกว่าใบแก่ และได้จากต่างต้นมากกว่าต่างชิ้นตัวอย่าง เชื้อราที่แยกได้ส่วนใหญ่เป็น Ascomycotina และ Deuteromycotina จากการวิเคราะห์ระดับลักษณะร่วมกันพบว่าขึ้นอยู่กับเนื้อเยื่อพืชอาศัย เส้นกลางใบหรือเส้นใบย่อยของต้นพืช ตัวอย่างที่อยู่ต่างแหล่งกันสามารถบ่งบอกความแตกต่างกันได้อย่างเด่นชัดโดยใช้ลักษณะสังคมของเอนโดไฟท์

Lumyong และคณะ (1996) แยกเชื้อราเอนโดไฟท์จากส่วนของลำต้นและใบของต้นกล้าพืชที่พบขึ้นในท้องถิ่นซึ่งมีอายุประมาณ 6-8 เดือน โดยเพาะจากเมล็ดที่เก็บจากบริเวณอุทยานแห่งชาติดอยสุเทพ-ปุย จังหวัดเชียงใหม่ ทำการแยกเชื้อบนอาหาร MA ร้อยละ 2 ซึ่งผสม streptomycin และ rosebengal และชิ้นส่วนที่จะนำมาแยก ได้ผ่านการฆ่าเชื้อโดยวิธี triple surface sterilization พบว่าเชื้อราเหล่านี้สามารถสร้างกรดอินทรีย์ ซึ่งสามารถตรวจสอบได้โดยวิธี paper และ TLC chromatography เมื่อทำการเลี้ยงเชื้อในแหล่งคาร์บอนต่างๆ เช่น inulin xylan mannan

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

starch fructose และ glucose เชื้อบางไอโซเลตสามารถสร้างกรดอินทรีย์ได้ ซึ่งชนิดและปริมาณแตกต่างกันไปขึ้นกับแหล่งคาร์บอนที่ใช้

Barrow และคณะ (1997) ศึกษาการเกิดเชื้อราเอนโดไฟท์ในราก *Atrplex canescens* (Pursh) Nutt. โดยศึกษาบริเวณเซลล์คอร์เท็กซ์ (cortex) จากราก และพบเชื้อราเอนโดไฟท์ 3 ประเภท คือ seprate fungi VAM (vesicular arbuscular mycorrhizae) และ Chytridiomycetes และพบว่าสภาพแวดล้อมที่แห้งเป็นสภาพที่เหมาะสมของเชื้อราในการอยู่รอดในพืช

Bayman และคณะ (1998) ศึกษาเปรียบเทียบความถี่ของ *Xylaria* ซึ่งเป็นเชื้อราเอนโดไฟท์ในใบและเมล็ดของพืช 2 ชนิดในประเทศเปอร์โตริโก้ คือ *Casuarina equisetifolia* (Australian pine) และ *Manikara bidentata* (ausubo) การเลือกศึกษาพืชทั้งสองนี้เนื่องจากมีลักษณะทางกายภาพ แหล่งที่อยู่ การกระจาย และแหล่งกำเนิดแตกต่างกัน *Xylaria* จาก *C. Equisetifolia* มักพบที่ใบมากกว่าเมล็ด ไอโซเลตที่แยกได้จากเมล็ดของต้นที่เจริญในสวนดินธรรมดาไม่เหมือนกับไอโซเลตที่แยกได้จากเมล็ดของต้นที่แยกได้จากชายหาด ซึ่งแสดงให้เห็นว่าอาจมีการแพร่กระจายผ่านทางเมล็ด (vertical transmission) แต่ไม่จำเป็นสำหรับการติดเชื้อใน *M. bidentata* สามารถแยก *Xylaria* จากใบได้ร้อยละ 97 แต่เมล็ดไม่สามารถแยกได้เลย ซึ่งถือว่าเป็นการกระจายแบบ horizontal transmission หรือแพร่จากต้นหนึ่งไปอีกต้นหนึ่ง ต้น *M. bidentata* ที่เพาะในโรงเพาะซึ่งอยู่ไกลจากต้นที่อยู่ในป่ามีการติดเชื้อ *Xylaria* สูงเหมือนกัน แสดงให้เห็นว่าเชื้อราเริ่มต้นสามารถมาจากแหล่งอื่นได้และสายพันธุ์ของเชื้อราเอนโดไฟท์ไม่จำเพาะเจาะจงกับพืชอาศัย

Palaez และคณะ (1998) ได้แยกเชื้อราเอนโดไฟท์จากพืชที่ขึ้นอยู่บนดินที่มียิปซัม (gypsum) และดินที่มีเกลือผสมอยู่ในตอนกลางของประเทศสเปน 9 ชนิด ได้เชื้อราทั้งสิ้น 2,880 ไอโซเลต จากใบ ลำต้น และกิ่ง โดยแยกในพืชแต่ละชนิดจำนวนชนิดละ 45 ต้น พบว่ากลุ่ม*Ephedra* และ *Rosmarinus* มีความหลากหลายมากที่สุด แต่ *Scirpus* มีความหลากหลายน้อยที่สุด จากนั้นนำเชื้อราจำนวน 187 ไอโซเลต มาทดสอบการผลิตสารต้านจุลินทรีย์คือ ยีสต์และแบคทีเรียที่ทราบชนิด ซึ่งแบคทีเรียบางชนิดเกี่ยวข้องกับทางการแพทย์ พบว่า 45 ไอโซเลต สามารถผลิตสารประกอบต้านจุลินทรีย์ ซึ่งแต่ละชนิดมีความสามารถในการผลิตสารต้านจุลินทรีย์ได้แตกต่างกันออกไป

Okane และคณะ (2001) ศึกษาและแยกเชื้อราเอนโดไฟท์จากใบของ *Bruguiera gymmorrhiza* พบว่าสามารถแยกเชื้อราจากใบพืชที่เก็บในฤดูหนาวได้มากกว่าแยกจากใบที่เก็บในฤดูร้อน และสามารถแยกเชื้อได้จากส่วนของหลังใบได้มากกว่าจากส่วนของท้องใบ

เชื้อราเอนโดไฟท์ที่แยกจากพืชที่ทำการศึกษาเป็นจำนวนมากมักจะแยกได้เชื้อราในกลุ่ม *Xylariaceae* เสมอ ถึงแม้ว่าบางครั้งจะพบในปริมาณน้อยก็ตาม การที่พบเชื้อรา *Xylariaceae* ใน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลักษณะที่เป็นเชื้อราเอนโดไฟท์ ทำให้นักราวิทยาเกิดความสนใจเพราะว่าเชื้อราจำพวกนี้ส่วนใหญ่เป็นพวกที่เจริญบนซากพืชซากสัตว์ (saprophyte) (Petrini และคณะ, 1995) แต่มักพบเชื้อราจำพวกนี้เสมอในพืชอาศัยจึงเป็นที่น่าสนใจว่า อาจมีบางสิ่งที่เกี่ยวข้องกับพืชอาศัย แต่ยังคงไม่พบรายงานอย่างละเอียดว่าเชื้อรา *Xylariaceae* มีบทบาทอย่างไรต่อพืชอาศัยที่มีชีวิต

ผลของลักษณะภูมิประเทศ และสภาวะแวดล้อมมีผลต่อชนิดและจำนวนของเชื้อราเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากพืช (Sieber, 1989) และเชื้อราเอนโดไฟท์ส่วนใหญ่อยู่ในกลุ่มของ Ascomycotina และ Deuteromycotina เชื้อราที่แยกได้จากพืชอาศัยนั้นมีปริมาณมาก อย่างไรก็ตามชนิดของเชื้อราเอนโดไฟท์จำนวนหนึ่งซึ่งเป็นจำนวนน้อยที่มีความจำเพาะเจาะจงต่อชนิดของพืชอาศัย และแม้ว่าเชื้อราชนิดนั้นๆ จะมีความจำเพาะเจาะจงต่อชนิดของพืชอาศัย ก็ไม่ได้หมายความว่าจะพบเชื้อราชนิดนั้นทุกครั้งที่ทำการแยกเชื้อ ทั้งนี้ขึ้นกับสภาพของพื้นที่ปลูกพืชอาศัยนั้นด้วย เชื้อราเอนโดไฟท์มักสร้างเอนไซม์ที่มีความจำเป็นในการเจริญในเนื้อเยื่อพืชและพบอีกว่าสารที่เชื้อราเอนโดไฟท์สร้างยังเป็นประโยชน์ต่อเซลล์พืชด้วย ซึ่งสารที่สร้างขึ้นสามารถนำไปใช้ประโยชน์ในทางเภสัชกรรมหรือทางเกษตรกรรมได้ (Bacon, 1977)

2.8 เชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค (วรวิทย์ และคณะ, 2549)

จุลินทรีย์เป็นสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กที่มีกระจัดกระจายอยู่ทั่วไป มีทั้งชนิดที่เป็นโทษคือ ทำให้เกิดโรคเจ็บป่วย และชนิดที่ไม่เป็นโทษต่อร่างกาย หรือบางชนิดเป็นแบคทีเรียประจำถิ่นในร่างกายของมนุษย์เพื่อช่วยสร้างความสมดุล และคอยป้องกันเชื้อโรคที่เป็นอันตรายในระดับหนึ่ง แต่ในบางครั้งเมื่อร่างกายเกิดความอ่อนแอลง เชื้อประจำถิ่นอาจเพิ่มจำนวนมากเกินไปจนทำให้เสียสมดุลและเกิดความผิดปกติได้

จุลินทรีย์มีขนาดเล็กมากจนไม่สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่า ดังนั้นเมื่อเกิดความผิดปกติอาการของโรคที่เกิดขึ้น เช่น เจ็บคอ ทอลซินอักเสบ แดง มีเสมหะเป็นสีเหลืองเขียว แผลเป็นหนอง ปวดบวม ร้อน เป็นต้น ส่วนใหญ่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียที่เป็นอันตรายได้เข้ามาสู่ร่างกายตามช่องทางต่างๆ เช่น ปาก คอ หู ตา จมูก ทวาร บาดแผล เป็นต้น เมื่อจุลินทรีย์ที่เป็นอันตรายเข้ามาในร่างกายเรา ธรรมชาติร่างกายของมนุษย์ก็จะมีหน่วยกำจัดสิ่งแปลกปลอม เช่น เม็ดเลือดขาวชนิดต่างๆที่จะมากำจัดเชื้อโรค ถ้าหน่วยป้องกันของร่างกายสามารถทำลายสิ่งแปลกปลอมได้ ร่างกายอาจผิดปกติเพียงเล็กน้อยหรืออาจไม่มีอาการผิดปกติใดๆเลย แต่ถ้าร่างกายไม่สามารถกำจัดสิ่งแปลกปลอมได้ทันเนื่องจากเชื้อโรคมีการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็ว เข้ามาแล้วฟักตัวในจุดที่เม็ดเลือดขาวไปไม่ถึง หรือช่วงที่ร่างกายกำลังอ่อนแอ และหากเม็ดเลือดขาวไม่แข็งแรงหรือไม่มากพอที่จะกำจัด ในระหว่างการต่อสู้เพื่อทำลายสิ่งแปลกปลอม จะมีการดึงดูดเม็ดเลือดขาวมาใน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บริเวณติดเชื้ออย่างมาก ทำให้เห็นเป็นหนอง ถ้าเม็ดเลือดขาวด่านแรกกำจัดเชื้อโรคไม่ได้ก็จะทำให้เกิดอาการเจ็บป่วยต่างๆตามลักษณะของเชื้อ เช่น ท้องร่วง ท้องเสีย เจ็บคอ มีไข้ ปอดบวม เมื่อเกิดอาการผิดปกติ ตัวอย่างเชื้อจุลินทรีย์ก่อให้เกิดโรคในมนุษย์ ได้แก่

2.8.1 *Staphylococcus aureus* (National Food Institute Thailand, 2547)

เชื้อ *Staphylococcus aureus* เป็นแบคทีเรียที่มีลักษณะกลม เรียงตัวเป็นกลุ่มคล้ายพวงองุ่น เป็นคู่ หรือเป็นสายสั้นๆ ไม่เคลื่อนที่ โคโลนีมีสีเหลืองหรือสีทอง (รูปที่ 2.11) เจริญเติบโตได้ดีในสภาวะที่มีอากาศ ช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตคือ 35-40 องศาเซลเซียส ช่วง pH หรือความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมในการเติบโตอยู่ที่ 7-7.5 ส่วนค่าปริมาณน้ำอิสระในอาหารที่จุลินทรีย์นำไปใช้ในการเจริญเติบโตต่ำสุดสำหรับการเติบโตในสภาพมีออกซิเจนประมาณ 0.86 สภาพไม่มีออกซิเจน 0.90 บางสายพันธุ์สามารถสร้างสารพิษ คือ เอนเทอโรทอกซิน ซึ่งเป็นโปรตีนที่ทนต่อความร้อนได้ดี และเป็นสาเหตุทำให้เกิดอาการเจ็บป่วยในมนุษย์ สารพิษชนิดนี้ทนความร้อนถึงระดับอุณหภูมิ 143.3 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 9 วินาทีได้ ดังนั้นอุณหภูมิในการหุงต้มธรรมดาหรืออุณหภูมิน้ำเดือดจึงไม่สามารถทำลายสารพิษชนิดนี้ได้ โรคอาหารเป็นพิษที่เกิดจากเชื้อ *S. aureus* นั้นมีชื่อเรียกว่า Stapyhloenterotoxicosis และStaphylorenterotoxemia

ลักษณะอาการที่บ่งบอกว่าติดเชื้อนั้นจะแสดงให้เห็นอย่างรวดเร็วและรุนแรงในหลายๆกรณี ซึ่งอาการทั่วไปของผู้ได้รับเชื้อที่พบคือ ผู้ป่วยจะมีอาการคลื่นไส้ อาเจียน วิงเวียน เป็นตะคริวในช่องท้องและอ่อนเพลีย ในผู้ป่วยบางรายอาจมีอาการอื่นแทรกซ้อน หลายรายจะมีอาการปวดหัว เป็นตะคริวที่กล้ามเนื้อ และมีการเปลี่ยนแปลงความดันโลหิตเป็นระยะๆ รวมทั้งอาจมีการเต้นของชีพจรผิดปกติ ซึ่งโดยทั่วไปอาการจะดีขึ้นภายใน 2-3 วัน ทั้งนี้จะขึ้นอยู่กับสภาพความต้านทานสารพิษของร่างกาย ปริมาณการปนเปื้อนของเชื้อในอาหาร และปริมาณสารพิษที่เชื้อสร้างขึ้นในอาหาร รวมทั้งสภาพร่างกายโดยทั่วไปของผู้ที่ได้รับเชื้อด้วย เมื่อเรารับประทานอาหารที่มีสารพิษปนเปื้อนในปริมาณน้อยกว่า 1 ไมโครกรัม จะสามารถทำให้เกิดอาการเจ็บป่วยได้ ซึ่งสารพิษชนิดนี้จะมีปริมาณสูงมากเมื่อมีเชื้อ *S. aureus* ปนเปื้อนอยู่ในอาหาร 100,000 เซลล์ต่อกรัมอาหาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 2.11 *Staphylococcus aureus*

(ที่มา : http://www.gogi-foods.com/index.php?lay=show&ac=article&Id=168665&Ntype=4)

2.8.2 *Pseudomonas aeruginosa* (นิรนาม ณ, 2550)

Pseudomonas aeruginosa เป็นแบคทีเรียแกรมลบ มีรูปร่างแท่ง (รูปที่ 2.12) เป็นแบคทีเรียในวงศ์ Pseudomonadaceae สามารถเคลื่อนที่ได้โดยมีอวัยวะที่ใช้ในการเคลื่อนที่ 1 เส้นที่ติดอยู่ตรงหัว ปกติจะพบกระจายในดิน น้ำ ขยะ หรือในพืช และเป็นจุลินทรีย์ประจำถิ่นอยู่ในลำไส้คน *P. aeruginosa* สามารถทำให้เกิดโรคในคน รวมทั้งสัตว์ แมลงและต้นไม้ได้บ้าง *P. aeruginosa* เป็นเชื้อโรคฉวยโอกาสจะมีการติดเชื้อกับผู้ที่ภูมิคุ้มกันต่ำหรือป่วยมากๆ หรือผู้ป่วยที่พักรักษาตัวในโรงพยาบาล บางทีจึงเรียกโรคติดเชื้อที่เกิดจาก *P. aeruginosa* ว่าโรคติดเชื้อในโรงพยาบาล จากผู้ป่วยโรคติดเชื้อในโรงพยาบาล 2,000 คนต่อปี จะมีจำนวนร้อยละ 10 ที่มีสาเหตุมาจาก *P. aeruginosa* ซึ่งเชื้อนี้เป็นสาเหตุอันดับสองในการทำให้เกิดโรคปอดบวมในโรงพยาบาล และเป็นสาเหตุส่วนใหญ่ในการก่อให้เกิดโรคปอดบวมในห้อง ICU โรคติดเชื้อจาก *Pseudomonas* sp.สามารถแพร่กระจายภายในโรงพยาบาลโดยบุคลากร อุปกรณ์การแพทย์ ผิวหนัง น้ำยาฆ่าเชื้อ และอาหาร โรคติดเชื้อนี้เป็นปัญหาที่รุนแรงมากในโรงพยาบาลมาก เนื่องจากผู้ป่วยซึ่งมีอาการหนักอยู่แล้วจะเสียชีวิตเนื่องจากโรคติดเชื้อจาก *Pseudomonas* sp. และ *Pseudomonas* sp. ดื้อต่อยาปฏิชีวนะมาก ทำให้ยากต่อการรักษา *P. aeruginosa* สามารถติดเชื้อได้หลายระบบในร่างกาย เนื่องจากมีหลายปัจจัยในการก่อให้เกิดเช่น ความสามารถในการเกาะยึดติดกับเยื่อบุผิว ดื้อต่อยาปฏิชีวนะ สร้างโปรตีนที่มาทำลายเนื้อเยื่อ และมี protective outer coat แต่อย่างไรก็ตามโรคติดเชื้อจาก *P. aeruginosa* ก็มีอัตราการเสียชีวิตของผู้ป่วยสูง โดยเฉพาะจากการติดเชื้อในกระแสเลือดและการติดเชื้อที่ปอด ซึ่งอัตราการเสียชีวิตมีช่วงที่กว้าง โดยผู้ป่วยที่ติดเชื้อที่หูจะมีอัตราการเสียชีวิตร้อยละ 15–20 จนถึงผู้ป่วยที่ติดเชื้อที่หัวใจห้องซ้ายซึ่งมีอัตราการเสียชีวิตร้อยละ 89

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

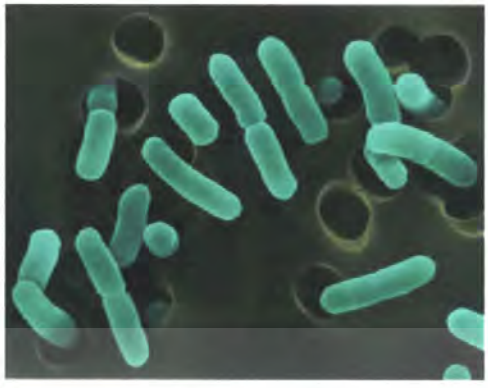
รูปที่ 2.12 *Pseudomonas aeruginosa*

(ที่มา : http://cyberlab.lh1.ku.ac.th/elearn/faculty/aid/id77/milk/image/pseudomonas-aeruginosa.jpg)

2.8.3 *Escherichia coli* (อรอนงค์, 2550)

Escherichia coli มีรูปร่างเป็นท่อนตรง (รูปที่ 2.13) เป็นแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุการระบาดของโรคอาหารเป็นพิษในหลายประเทศทั่วโลก ผู้ติดเชื้อจะมีอาการท้องเสียถ่ายอุจจาระเป็นน้ำ หรืออาการลำไส้ใหญ่อักเสบมีเลือดออก (haemorrhagic colitis, HC) คือ ปวดเกร็งอย่างรุนแรงในช่องท้อง ถ่ายเป็นเลือดสด ไม่มีไข้หรือมีไข้ต่ำ ผู้ป่วยที่ถ่ายเป็นเลือดสดโดยเฉพาะเด็กเล็กและผู้สูงอายุมีความเสี่ยงสูงที่จะเกิดอาการ haemolytic uremic syndrome (HUS) ตามมา ในผู้สูงอายุอาจเกิด thrombotic thrombocytopaenic purpura (TTP) ร่วมด้วยทำให้เสียชีวิตได้ ผู้ติดเชื้ออาจไม่แสดงอาการของโรคแต่สามารถถ่ายทอดเชื้อให้ผู้อื่นได้ เชื้อ *E. coli* ก่อโรคโดยสร้าง Shiga toxin (Stx) ซึ่งมีคุณสมบัติเหมือนกับ Stx ของเชื้อ *Shigella dysenteriae* type 1 Stx แบ่งย่อยได้ 2 ชนิดคือ Shiga toxin 1 (Stx1) และ Shiga toxin 2 (Stx2) เรียกเชื้อ *E. coli* ที่สร้าง Stx ว่า Shiga toxin-producing *E. coli* (STEC) ปัจจุบันพบ STEC มากกว่า 200 serotypes แต่บาง serotypes เท่านั้นที่ทำให้เกิดโรคในคน เรียกเชื้อกลุ่มนี้ว่า Enterohaemorrhagic *E. coli* (EHEC) Serotypes ที่เคยมีการระบาดเช่น O26:H-, O111:H- เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

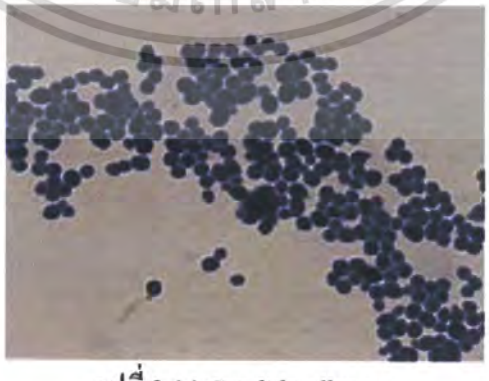


รูปที่ 2.13 *Escherichia coli*

(ที่มา : http://pathmicro.med.sc.edu/fox/e_coli-dk.jpg)

2.8.4 *Candida albicans* (พรรณกร, 2538)

Candida sp. มีรูปร่างกลมหรือรี (รูปที่ 2.14) มีการแตกหน่อ (budding. blatoconidia) เซลล์พ่อแม่หนึ่งเซลล์สามารถเกิดลูกได้หลายที่บนเซลล์พ่อแม่ (multi-lateral budding) เซลล์มีขนาดกว้างประมาณ 2-3 ไมโครเมตร และยาวประมาณ 1-4 ไมโครเมตร อยู่โดดเดี่ยวหรือเป็นเส้นสาย มีทั้งสายราแท้และสายราเทียม เชื้อ *Candida* sp. ในภาวะที่เป็นยีสต์มีความสามารถในการก่อโรคมากกว่าภาวะที่เป็นราภายในร่างกาย มีปัจจัยหลายประการที่ทำให้เชื้อ *Candida* sp. เปลี่ยนรูปจากยีสต์เป็นรา เช่น อุณหภูมิสูงกว่า 35 องศาเซลเซียส ปริมาณก๊าซออกซิเจนลดลง ภาวะที่เป็นน้ำ กรดอะมิโนที่ไม่มีกำมะถัน ซีรั่ม และในอวัยวะอื่นๆที่มีพีเอช 7.5 *C. albicans* แบ่งตามสมบัติของแอนติเจนได้ 2 พวก ซึ่งต่อมาพบว่าการแบ่งเป็น 2 พวกไม่สามารถบอกได้ว่าการเกิดโรคเนื่องจากเชื้อที่มีอยู่ในตัวผู้ป่วยเองหรือได้รับเชื้อใหม่จากภายนอก



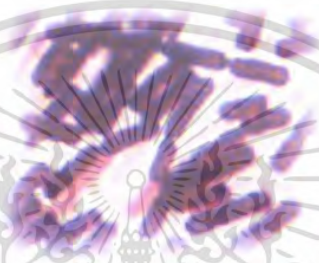
รูปที่ 2.14 *Candida albicans*

(ที่มา : http://www.venereology.ru/kandidoz-kandida.php)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.8.5 *Bacillus subtilis*

Bacillus subtilis เป็นแบคทีเรียแกรมบวกหายใจโดยใช้ออกซิเจน มีลักษณะเป็นแท่ง มีการจัดเรียงตัวทั้งแบบเป็นเซลล์เดียวและรวมกันเป็นสาย (รูปที่ 2.15) สามารถพบได้ทั่วไปในดิน ทนสภาวะที่ไม่เหมาะสมมากๆได้ เป็นพวกที่ต้องการอากาศอย่างแท้จริง *B. subtilis* เป็นเชื้อที่ไม่ทำอันตรายต่อมนุษย์โดยตรง แต่จะเป็นจุลินทรีย์ที่เป็นเหตุทำให้เกิดอาการเป็นพิษ โดยสปอร์สามารถอยู่รอดได้ในอาหารที่ให้ความร้อนสูงและยังทำให้เกิดเมือกในขนมปัง

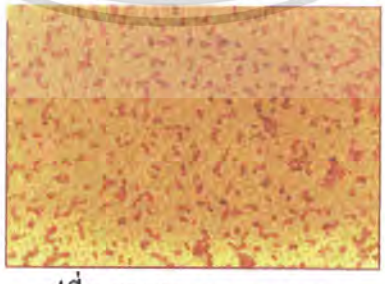


รูปที่ 2.15 *Bacillus subtilis*

(ที่มา : http://cyberlab.lh1.ku.ac.th/elearn/faculty/aid/id77/fruit/fruit1.htm)

2.8.6 *Micrococcus luteus*

เป็นแบคทีเรียแกรมบวก เซลล์มีลักษณะกลม (รูปที่ 2.16) เป็นผู้ย่อยสลายอินทรียสาร ใน Family Micrococaceae พบได้ทั่วไปในดิน ฝุ่นละออง น้ำและอากาศ นอกจากนี้ยังเป็นแบคทีเรียประจำถิ่นบนผิวหนังของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม โดยในมนุษย์พบได้ที่บริเวณช่องปาก เยื่อเมือก ทางเดินหายใจ นอกจากนี้ *M. luteus* ยังสามารถทนต่อความแห้งแล้งและปริมาณความเข้มข้นของเกลือที่สูงได้เป็นอย่างดี



รูปที่ 2.16 *Micrococcus luteus*

(ที่มา :http://www.educa.aragob.es/iescarin/depart/biogeo/varios/BiologiaCurtis/Seccion%205/27-8b.jpg)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
วิธีการดำเนินการวิจัย

3.1 อุปกรณ์

Autopipette	Gilson รุ่น P 1000 บริษัท GILSON S.A.S, France และ Rainin รุ่น Pipet-Lite SL-20 บริษัท Mettler Toledo, USA
Cork Borer	ขนาดเบอร์ 6, Japan
Syringe Filter	Whatman PES Filter Media Sterile (25 mm Diameter, 0.45 µm Pore size) บริษัท Whatman Inc., USA
กล้องจุลทรรศน์	บริษัท Olympus, Japan
กระบอกฉีดยา	NIPRO Disposable syringe 5 ml บริษัท NIPRO (Thailand) CORP., LTD.
เครื่องแก้วต่างๆ	บริษัท Pyrex, USA
เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง	Qhaus รุ่น Adventurer
เครื่องผสมสารละลาย	VELP รุ่น Zx^3 บริษัท Scientifica, Italy
ตู้บ่มเชื้อ	รุ่น BE 600 บริษัท Memmert, Germany
ตู้ปลอดเชื้อ	ISSO รุ่น BVT 123 บริษัท International scientific supply จำกัด, Thailand
ตู้อบลมร้อน	WTB binder รุ่น 7200 บริษัท Tuttlingen, Germany และ Contherm บริษัท Scientific LTD., New Zealand
เตาไมโครเวฟ	SAMSUNG รุ่น M1913
หม้อนึ่งความดันไอ	HIRAYAMA รุ่น KICLAVE, Japan

3.2 สารเคมี

- สารลดแรงตึงผิว (Detergent)
- เอทานอล ความเข้มข้นร้อยละ 70 (70% Ethanol)
- เอทานอล ความเข้มข้นร้อยละ 95 (95% Ethanol)
- โซเดียมไฮโปคลอไรท์ ความเข้มข้นร้อยละ 6 (6% Sodium Hypochlorite)
- กลีเซอรอล ความเข้มข้นร้อยละ 15 (15% Glycerol)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- แลคโตฟีนอลคอตตอนบลู (Lactophenol cotton blue)
- อิมเมอร์ชั่นออยล์ (Immersion oil)
- โซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้นร้อยละ 0.85 (0.85% Sodium chloride)
- สารปรับความขุ่นมาตรฐานแมคฟาร์แลน หมายเลข 0.5 (McFarland No. 0.5)
- ไดเมทิลซัลฟอกไซด์ (Dimethyl sulfoxide, DMSO)
- อะม็อกซีซิลลิน (Amoxicillin)
- แอมโฟเทอริซิน บี (Amphotericin B)
- เจนตามัยซิน (Gentamicin)
- เพนนิซิลิน จี (Penicillin G)
- เตตราซัยคลิน (Tetracycline)

3.3 อาหารเลี้ยงเชื้อ

- คอร์นมีลเอการ์ (Corn Meal Agar, CMA)
- มูลเลอร์ฮินตันเอการ์ (Mueller-Hinton Agar, MHA)
- โปเตโต้เด็กซ์โทรสเอการ์ (Potato Dextrose Agar, PDA)
- ซาโบรอดส์เด็กซ์โทรสเอการ์ (Sabouraud's Dextrose Agar, SDA)
- แท็ปวอเตอร์เอการ์ (Tap Water Agar, TWA)
- ยีสต์เอ็กซ์แทรกซูโครสเอการ์ (Yeast Extract Sucrose Agar, YES)

3.4 วิธีการทดลอง

3.4.1 การเก็บตัวอย่างพืชสมุนไพร

ตัวอย่างพืชสมุนไพรที่เลือกใช้มุ่งเน้นชนิดที่ใบมีสรรพคุณในการต้านการอักเสบจากการติดเชื้อหรือสามารถยับยังการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้ ทำการเก็บตัวอย่างพืชสมุนไพร 5 ชนิด (ดังตารางที่ 3.1) ที่ปราศจากการปนเปื้อนของปุ๋ยและยาฆ่าแมลง เลือกตัดกิ่งพืชที่สดพร้อมใบที่มีลักษณะสมบูรณ์และเจริญเต็มที่ ห่อด้วยกระดาษหนังสือพิมพ์ ระวังอย่าให้พืชช้ำ หรือหักงอ จากนั้นรีบนำพืชมาทำการแยกเชื้อเอนโดไฟท์ ถ้าทำการแยกเชื้อไม่ทันภายในวันที่เก็บให้นำมาเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ก่อนทำการแยกเชื้อเอนโดไฟท์จากพืชตัวอย่าง (จักรพงษ์ และจีรพันธ์, 2547)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3.1 ตัวอย่างพืชสมุนไพรที่นำมาศึกษา

วงศ์	ชื่อวิทยาศาสตร์	ชื่อสามัญ	แหล่งที่มา	วันที่เก็บตัวอย่าง
ASCLEPIADACEAE	*Asclepias curassavica* Linn.	ไฟเดือนห้า	นครปฐม	30/06/50
ACANTHACEAE	*Ruellia tuberosa* Linn.	ต้อยติ่ง	กรุงเทพฯ	12/07/50
MYRTACEAE	*Psidium guajava* Linn.	ฝรั่ง	ระยอง	05/08/50
LEGUMINOSAE	*Erythrina variegata* Linn.	ทองหลาง	ระยอง	08/08/50
CAESALPINIACEAE	*Cassia fistula* Linn.	ราชพฤกษ์	กรุงเทพฯ	10/08/50

3.4.2 การคัดแยกเชื้อราเอนโดไฟท์ออกจากใบพืช

คัดเลือกใบที่สมบูรณ์ไม่เป็นโรค นำมาล้างทำความสะอาดโดยใช้น้ำไหลผ่านพร้อมกับสารลดแรงตึงผิวลงไปเล็กน้อย 2-3 หยด เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการทำความสะอาดขจัดสิ่งสกปรกและฝุ่นละอองที่ติดมากับใบพืช ตัดใบพืชเป็นชิ้นเล็กๆขนาด 3x3 ตารางเซนติเมตร นำมาทำการฆ่าเชื้อที่พื้นผิว (surface sterilization) โดยแช่ในเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 70 เป็นเวลา 1 นาที จากนั้นนำมาแช่ต่อในสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ (sodium hypochlorite) ความเข้มข้นร้อยละ 6 เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นนำชิ้นส่วนพืชล้างในน้ำกลั่นปราศจากเชื้อ 2 ครั้ง ครั้งละ 1 นาที และซับให้แห้งบนกระดาษที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ตัดชิ้นส่วนพืชที่ฟอกฆ่าเชื้อบริเวณพื้นผิวแล้วให้มีขนาดเล็กประมาณ 1 ตารางเซนติเมตร ด้วยใบมีดที่ปราศจากเชื้อ บริเวณของใบที่เลือกใช้ในการแยกเชื้อแบ่งเป็น 3 ส่วน คือ เนื้อใบ (lamina, blade) บริเวณที่มีเส้นกึ่งกลางใบ (midrib) และบริเวณที่มีเส้นแขนงใบ (lateral vein) วางชิ้นส่วนที่ได้ลงบนจานอาหาร Potato Dextrose Agar (PDA) ที่มีความเข้มข้นของวุ้นร้อยละ 1.3 จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง เมื่อสังเกตเห็นเส้นใยราแผ่ออกจากชิ้นส่วนใบพืช จึงทำการย้ายเส้นใยราด้วยเข็มเขี่ยเชื้อไปเลี้ยงบนอาหาร PDA แต่ละจานที่มีความเข้มข้นของวุ้นร้อยละ 1.5 บ่มที่อุณหภูมิห้องติดตามผลทุกวันจนเส้นใยราเจริญออกจากบริเวณที่ทำการลงเชื้อ ทำการแยกเชื้อราให้ได้สายพันธุ์ที่บริสุทธิ์โดยใช้เข็มเขี่ยเชื้อเขี่ยปลายเส้นใยไปเลี้ยงบนอาหาร PDA จนกว่าจะเห็นว่าโคโลนีมีลักษณะเดียวเท่านั้น ทำการเก็บรักษาเชื้อราเอนโดไฟท์สายพันธุ์บริสุทธิ์ในอาหารเอียง (slant) และเก็บในกลีเซอรอลความเข้มข้นร้อยละ 15 ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.3 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา

ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA โดยตรวจสอบลักษณะผิวหน้าโคโลนี สีของโคโลนีในระยะเริ่มต้น และระยะเต็มวัย โดยเทียบสีจาก The NBS/IBCC Color System (David, 1995) รวมทั้งสีของรงควัตถุที่เชื้อราสร้างขึ้นซึ่งละลายอยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อ ด้วยตาเปล่า รวมถึงตรวจสอบลักษณะของเส้นใยและผนังกั้นภายใต้กล้องจุลทรรศน์ นำข้อมูลทางสันฐานวิทยาที่ได้มาทำการจัดกลุ่มเชื้อราเอนโดไฟท์ และคัดเลือกตัวแทนของแต่ละกลุ่มมาทดสอบในขั้นตอนต่อไป

3.4.4 การศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของเชื้อราเอนโดไฟท์ที่มีต่อเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบโดยวิธี Dual-Culture Agar Diffusion Assay (รัชนี, 2544)

3.4.4.1 จุลินทรีย์ทดสอบที่ใช้

- แบคทีเรียแกรมลบได้แก่

  Escherichia coli ATCC 25922

  Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853

- แบคทีเรียแกรมบวกได้แก่

  Bacillus subtilis ATCC 6633

  Micrococcus luteus ATCC 9341

  Staphylococcus aureus ATCC 25923

- ยีสต์ได้แก่

  Candida albicans ATCC 10231

3.4.4.2 การศึกษาชนิดของอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมในการผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของเชื้อราเอนโดไฟท์

นำตัวแทนของเชื้อราเอนโดไฟท์ที่ทำการคัดเลือกได้จากแต่ละกลุ่มมาเพาะเลี้ยงไว้บนอาหารทดสอบแต่ละชนิดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 14 วัน เพื่อให้เชื้อราสร้างสารทุติยภูมิแพร่ลงสู่เนื้อวุ้น รวมทั้งบันทึกลักษณะผิวหน้าของโคโลนี สีของเส้นใยอากาศและเส้นใยอาหาร การเจริญของเชื้อบนอาหารแต่ละชนิด และสีของรงควัตถุที่ละลายในอาหาร **ชนิดของอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อราเอนโดไฟท์ที่ใช้ทดสอบ** ได้แก่

- Corn Meal Agar (CMA)
- Potato Dextrose Agar (PDA)
- Sabouraud's Dextrose Agar (SDA)
- Tap Water Agar (TWA)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Yeast Extract Sucrose Agar (YES)

3.4.4.3 การเตรียมเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ

เพาะเลี้ยงเชื้อ *C. albicans* บนอาหาร SDA บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง จากนั้นใช้ลวดเขี่ยเชื้อ (loop) แตะเชื้อที่เจริญอยู่มาทำให้อยู่ในรูปสารละลายเซลล์แขวนลอยในสารละลายโซเดียมคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 0.85 โดยปรับความขุ่นของสารละลายเซลล์แขวนลอยให้เท่ากับสารละลายมาตรฐาน McFarland No. 0.5 ซึ่งจะทำให้สารละลายเซลล์แขวนลอยมีจำนวนเซลล์ประมาณ 1×10^8 เซลล์ต่อมิลลิลิตร

สำหรับเชื้อ *E. coli* *P. aeruginosa* *B. subtilis* *M. luteus* และ *S. aureus* นำมาเพาะเลี้ยงบนอาหาร Mueller-Hinton Agar (MHA) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นจึงใช้ลวดเขี่ยเชื้อแตะเชื้อมาทำให้อยู่ในรูปสารละลายเซลล์แขวนลอยด้วยวิธีเดียวกันกับเชื้อ *C. albicans*

3.4.4.4 การเตรียมชุดควบคุมการทดลอง

เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบที่ผสมยาปฏิชีวนะเพื่อใช้เป็นชุดควบคุมการทดลองเชิงบวก โดยทำการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบซึ่งผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาทีก่อน รอให้เย็นแล้วนำมาผสมกับยาปฏิชีวนะซึ่งผ่านการกรองด้วยชุดกรอง (syringe filter) ที่มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.45 ไมโครเมตร จากนั้นจึงเทอาหารเลี้ยงเชื้อที่มียาปฏิชีวนะผสมอยู่ลงในจานอาหาร ยาปฏิชีวนะที่ใช้ผสมกับอาหารเลี้ยงเชื้อแต่ละชนิดและความเข้มข้นที่ใช้ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบแสดงไว้ดังตารางที่ 3.2

ตารางที่ 3.2 ชนิดของยาปฏิชีวนะและความเข้มข้นที่ใช้เป็นชุดควบคุมการทดลอง (Lalitha, 2007)

เชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ	ยาปฏิชีวนะ	ความเข้มข้นของยาปฏิชีวนะ (µg/ml)	อาหารเลี้ยงเชื้อ
B. subtilis	Tetracycline	50	MHA
C. albicans	Amphotericin B	50	SDA
E. coli	Amoxicillin	25	MHA
M. luteus	Penicillin G	50	MHA
P. aeruginosa	Gentamicin	25	MHA
S. aureus	Penicillin G	50	MHA

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.4.5 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบโดยเชื้อราเอนโด-ไฟท์

นำไม้พันสำลีที่ผ่านการฆ่าเชื้อมาจุ่มลงในหลอดทดลองที่มีสารละลายเซลล์แขวนลอยของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ ตามข้อ 3.2.4.3 นำมาทาให้ทั่วผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ เพื่อให้เกิดการกระจายตัวของเชื้อบนอาหารอย่างสม่ำเสมอกันทั่วทั้งผิวหน้า รอให้ผิวหน้าอาหารแห้ง จากนั้นจึงนำชิ้นวุ้นของเชื้อเอนโดไฟท์จากข้อ 3.2.4.2 ที่เจาะด้วย cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1 เซนติเมตร มาวางลงบนจานอาหารที่มีเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ นำจานอาหารของเชื้อแบคทีเรียทดสอบไปบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง เชื้อยีสต์บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง ตรวจสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบโดยวัดขนาดของบริเวณใสที่เกิดขึ้น (inhibition zone)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

4.1 เชื้อราเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากพืชสมุนไพร

เมื่อนำใบของพืชสมุนไพร 5 ชนิด ได้แก่ ไฟเดือนห้า ต้อยติ่ง ฝรั่ง ทองหลาง และราช-พฤกษ์ มาคัดแยกเชื้อราเอนโดไฟท์ สามารถแยกเชื้อราเอนโดไฟท์ได้รวมทั้งสิ้น 46 ไอโซเลต ดังแสดงไว้ในตารางที่ 4.1 แบ่งออกเป็นเชื้อราเอนโดไฟท์จากต้นไฟเดือนห้า 20 ไอโซเลต ต้อยติ่ง 4 ไอโซเลต ฝรั่ง 15 ไอโซเลต ทองหลาง 3 ไอโซเลต และราชพฤกษ์ 4 ไอโซเลต

ตารางที่ 4.1 เชื้อราเอนโดไฟท์ไอโซเลตต่างๆที่แยกได้จากพืชสมุนไพร

ชื่อสามัญและชื่อวิทยาศาสตร์ของพืชสมุนไพร	ชื่อไอโซเลตของเชื้อราเอนโดไฟท์
ไฟเดือนห้า *Asclepias curassavica* Linn.	AC-L1
	AC-L2
	AC-L3
	AC-L4
	AC-L5
	AC-L6
	AC-L7
	AC-L8
	AC-L9
	AC-L10
	AC-L11
	AC-L12
	AC-L13
	AC-L14
	AC-L15
	AC-L16
	AC-L17
	AC-L18
	AC-L19
	AC-L20

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.1 (ต่อ)

ชื่อสามัญและชื่อวิทยาศาสตร์ของพืชสมุนไพร	ชื่อไอโซเลตของเชื้อราเอนโดไฟท์
ต้อยติ่ง *Ruellia tuberose* Linn.	RT-L1
	RT-LV2
	RT-LM3
	RT-L4
ฝรั่ง *Psidium guajava* Linn.	PG-L1
	PG-LV2
	PG-L3
	PG-LV4
	PG-LV5
	PG-LV6
	PG-LV7
	PG-LV8
	PG-L9
	PG-L10
	PG-L11
	PG-L12
	PG-L13
	PG-LV14
	PG-LV15
ทองหลาง *Erythrina variegata* Linn.	EV-L1
	EV-LM3
	EV-L4
ราชพฤกษ์ *Cassia fistula* Linn.	CF-L1
	CF-L2
	CF-LM3
	CF-LM4

หมายเหตุ

L หมายถึง เชื้อเอนโดไฟท์ไอโซเลตที่แยกได้จากบริเวณเนื้อใบ (lamina)

LM หมายถึง เชื้อเอนโดไฟท์ไอโซเลตที่แยกได้จากบริเวณที่มีเส้นกึ่งกลางใบ (midrib)

LV หมายถึง เชื้อเอนโดไฟท์ไอโซเลตที่แยกได้จากบริเวณที่มีเส้นแขนงใบ (lateral vein)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 ลักษณะทางสัณฐานวิทยา

เมื่อทำการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อราเอนโดไฟท์บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA พบว่าส่วนมากเป็นเชื้อราที่มีเส้นใยแบบมีผนังกั้น ส่วนมากไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ ยกเว้นไอโซเลต AC-L15 ซึ่งแยกได้จากส่วนใบของต้นไฟเดือนห้า สามารถสร้างรงควัตถุสีเหลือง และมีเพียง 6 ไอโซเลตที่มีการสร้างสปอร์บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ลักษณะต่างๆทางสัณฐานวิทยาของเชื้อราเอนโดไฟท์แต่ละไอโซเลตในระยะอ่อนและระยะเต็มวัยแสดงไว้ดังตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อราเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากพืชสมุนไพร

ไอโซเลต	ลักษณะโคโลนี		สีของโคโลนี และรหัสสี		ผนังกั้น	สปอร์
	ระยะอ่อน	ระยะเต็มวัย	ระยะอ่อน	ระยะเต็มวัย		
AC-L1	ฟู	ฟู	ขาว (White, #FFC9D7)	เขียวเทาอมเหลือง (Grayish Yellowish Green, #90845B)	มี	ไม่มี
AC-L2	ฟู	ฟู	ขาว (White, #FFC9D7)	เขียวเทาอมเหลือง (Grayish Yellowish Green, #90845B)	มี	ไม่มี
AC-L3	ฟู	ฟู	ขาว (White, #FFC9D7)	เขียวเทาอมเหลือง (Grayish Yellowish Green, #90845B)	มี	ไม่มี
AC-L4	ฟู	ฟู	ขาว (White, #FFC9D7)	เขียวเทาอมเหลือง (Grayish Yellowish Green, #90845B)	มี	ไม่มี
AC-L5	ฟู	ฟู	ขาว (White, #FFC9D7)	เทาอ่อนอมเขียว (Light Greenish Gray, #BAAF96)	มี	ไม่มี
AC-L6	ฟู	ฟู	ขาว (White, #FFC9D7)	เขียวเทาอมเหลือง (Grayish Yellowish Green, #90845B)	มี	ไม่มี
AC-L7	ฟู	ฟู	ขาว (White, #FFC9D7)	ขาวอมเขียว (Greenish White, #F5E6CB)	มี	ไม่มี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.2 (ต่อ)

ไอโซเลต	ลักษณะโคโลนี		สีของโคโลนี และรหัสสี		ผนังกั้น	สปอร์
	ระยะอ่อน	ระยะเต็มวัย	ระยะอ่อน	ระยะเต็มวัย		
AC-L8	ฟู	ฟู	ขาว (White, #FFC9D7)	ขาวอมเขียว (Greenish White, #F5E6CB)	ไม่มี	ไม่มี
AC-L9	ฟู	ฟู	ขาว (White, #FFC9D7)	ขาวอมเขียว (Greenish White, #F5E6CB)	มี	ไม่มี
AC-L10	ฟู	ฟู	เขียวขี้ม้าอมเทา (Grayish Olive Green, #48442D)	เขียวขี้ม้าอมเทา (Grayish Olive Green, #48442D)	มี	มี
AC-L11	ฟู	ฟู	ขาว (White, #FFC9D7)	ขาว (White, #FFC9D7)	ไม่มี	ไม่มี
AC-L12	ฟู	ฟู	ขาว (White, #FFC9D7)	ขาวอมเขียว (Greenish White, #F5E6CB)	ไม่มี	ไม่มี
AC-L13	ฟู	ฟู	ขาว (White, #FFC9D7)	เทาอ่อนอมเขียว (Light Greenish Gray, #BAAF96)	มี	ไม่มี
AC-L14	กำมะหยี่	กำมะหยี่	เขียวขี้ม้าอมเทา (Grayish Olive Green, #48442D)	เขียวขี้ม้าอมเทา (Grayish Olive Green, #48442D)	มี	มี
AC-L15	ฟู	ฟู	ขาว (White, #FFC9D7)	ขาวอมเหลือง (Yellowish White, #FFE2B7)	มี	ไม่มี
AC-L16	ฟู	ฟู	ขาว (White, #FFC9D7)	ขาว (White, #FFC9D7)	มี	ไม่มี
AC-L17	ฟู	ฟู	ขาวอมเหลือง (Yellowish White, #FFE2B7)	เทาอ่อนอมเขียว (Light Greenish Gray, #BAAF96)	มี	มี
AC-L18	ฟู	ฟู	ขาว (White, #FFC9D7)	ขาว (White, #FFC9D7)	ไม่มี	มี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.2 (ต่อ)

ไอโซเลต	ลักษณะโคโลนี		สีของโคโลนี และรหัสสี		ผนังกั้น	สปอร์
	ระยะอ่อน	ระยะเต็มวัย	ระยะอ่อน	ระยะเต็มวัย		
AC-L19	ฟู	ฟู	ขาว (White, #FFC9D7)	ขาวอมเขียว (Greenish White, #F5E6CB)	มี	ไม่มี
AC-L20	ผงแป้ง	ผงแป้ง	เหลืองสดอมส้ม (Brilliant Orange Yellow, #FFB02E)	เหลือง (Moderate Yellow, #D79D41)	มี	มี
CF-L1	หนังสัตว์	หนังสัตว์	เทาอมเขียว (Greenish Gray, #7A7666)	เทาอมเขียว (Greenish Gray, #7A7666)	มี	ไม่มี
CF-L2	หนังสัตว์	หนังสัตว์	เทาอมเขียว (Greenish Gray, #7A7666)	เทาอมเขียว (Greenish Gray, #7A7666)	มี	ไม่มี
CF-LM3	ฟู	ฟู	ขาว (White, #FFC9D7)	เทาอ่อนอมเขียว (Light Greenish Gray, #BAAF96)	มี	ไม่มี
CF-LM4	ฟู	ฟู	ขาว (White, #FFC9D7)	ขาวอมเขียว (Greenish White, #F5E6CB)	ไม่มี	ไม่มี
EV-L1	กำมะหยี่	กำมะหยี่	เหลืองสดอมเขียว (Brilliant Greenish Yellow, #FFDC33)	ขาวอมเหลือง (Yellowish White, #FFE2B7)	ไม่มี	ไม่มี
EV-LM3	หนังสัตว์	หนังสัตว์	เทาอมเขียว (Greenish Gray, #7A7666)	เทาอมเขียว (Greenish Gray, #7A7666)	มี	ไม่มี
EV-L4	กำมะหยี่	กำมะหยี่	เหลืองสดอมเขียว (Brilliant Greenish Yellow, #FFDC33)	ขาวอมเหลือง (Yellowish White, #FFE2B7)	ไม่มี	ไม่มี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.2 (ต่อ)

ไอโซเลต	ลักษณะโคโลนี		สีของโคโลนี และรหัสสี		ผนังกั้น	สปอร์
	ระยะอ่อน	ระยะเต็มวัย	ระยะอ่อน	ระยะเต็มวัย		
PG-L1	ฟู	ฟู	ขาวอมเหลือง (Yellowish White, #FFE2B7)	เหลืองซีด (Pale Yellow, #FFDB8B)	มี	มี
PG-LV2	ฟู	ฟู	ขาว (White, #FFC9D7)	เทาอ่อนอมเขียว (Light Greenish Gray, #BAAF96)	ไม่มี	ไม่มี
PG-L3	กำมะหยี่	กำมะหยี่	เหลืองสดอมเขียว (Brilliant Greenish Yellow, #FFDC33)	เหลืองซีด (Pale Yellow, #FFDB8B)	ไม่มี	ไม่มี
PG-LV4	กำมะหยี่	กำมะหยี่	เขียวขี้ม้า (Moderate Olive Green, #434B1B)	เขียวซีด (Pale Green, #8D917A)	มี	ไม่มี
PG-LV5	หนังสัตว์	หนังสัตว์	เขียวขี้ม้าอมเทา (Grayish Olive Green, #48442D)	เขียวเข้มอมเหลือง (Dark Greenish Yellowish Green, #313830)	มี	ไม่มี
PG-LV6	หนังสัตว์	หนังสัตว์	เขียวขี้ม้าอมเทา (Grayish Olive Green, #48442D)	เขียวเข้มอมเหลือง (Dark Greenish Yellowish Green, #313830)	มี	ไม่มี
PG-LV7	ผงแป้ง	ผงแป้ง	เขียวเทาอมเหลือง (Grayish Yellowish Green, #90845B)	เหลืองเทาอมเขียว (Grayish Greenish Yellow, #C4A55F)	ไม่มี	ไม่มี
PG-LV8	ผงแป้ง	ผงแป้ง	เขียวซีดอมเหลือง (Pale Yellowish Green, #F0D698)	เขียวขี้ม้าอ่อนอมเทา (Light Grayish Olive, #8B734B)	มี	ไม่มี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.2 (ต่อ)

ไอโซเลต	ลักษณะโคโลนี		สีของโคโลนี และรหัสสี		ผนังกั้น	สปอร์
	ระยะอ่อน	ระยะเต็มวัย	ระยะอ่อน	ระยะเต็มวัย		
PG-L9	กำมะหยี่	กำมะหยี่	ขาวอมเหลือง (Yellowish White, #FFE2B7)	ขาวอมเขียว (Greenish White, #F5E6CB)	ไม่มี	ไม่มี
PG-L10	กำมะหยี่	กำมะหยี่	เหลืองสดอมเขียว (Brilliant Greenish Yellow, #FFDC33)	เขียวซีดอมเหลือง (Pale Yellowish Green, #F0D698)	ไม่มี	ไม่มี
PG-L11	กำมะหยี่	กำมะหยี่	เหลืองสดอมเขียว (Brilliant Greenish Yellow, #FFDC33)	เทาอ่อนอมเขียว (Light Greenish Gray, #BAAF96)	ไม่มี	ไม่มี
PG-L12	กำมะหยี่	กำมะหยี่	เหลืองสดอมเขียว (Brilliant Greenish Yellow, #FFDC33)	ขาวอมเหลือง (Yellowish White, #FFE2B7)	ไม่มี	ไม่มี
PG-L13	กำมะหยี่	กำมะหยี่	เหลืองสดอมเขียว (Brilliant Greenish Yellow, #FFDC33)	เหลืองซีด (Pale Yellow, #FFDB8B)	ไม่มี	ไม่มี
PG-LV14	กำมะหยี่	กำมะหยี่	เหลืองสดอมเขียว (Brilliant Greenish Yellow, #FFDC33)	เหลืองซีด (Pale Yellow, #FFDB8B)	ไม่มี	ไม่มี
PG-LV15	กำมะหยี่	กำมะหยี่	เหลืองสดอมเขียว (Brilliant Greenish Yellow, #FFDC33)	เหลืองซีด (Pale Yellow, #FFDB8B)	ไม่มี	ไม่มี
RT-L1	หนังสัตว์	หนังสัตว์	เทาอมเขียว (Greenish Gray, #7A7666)	เทาอมเขียว (Greenish Gray, #7A7666)	มี	ไม่มี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.2 (ต่อ)

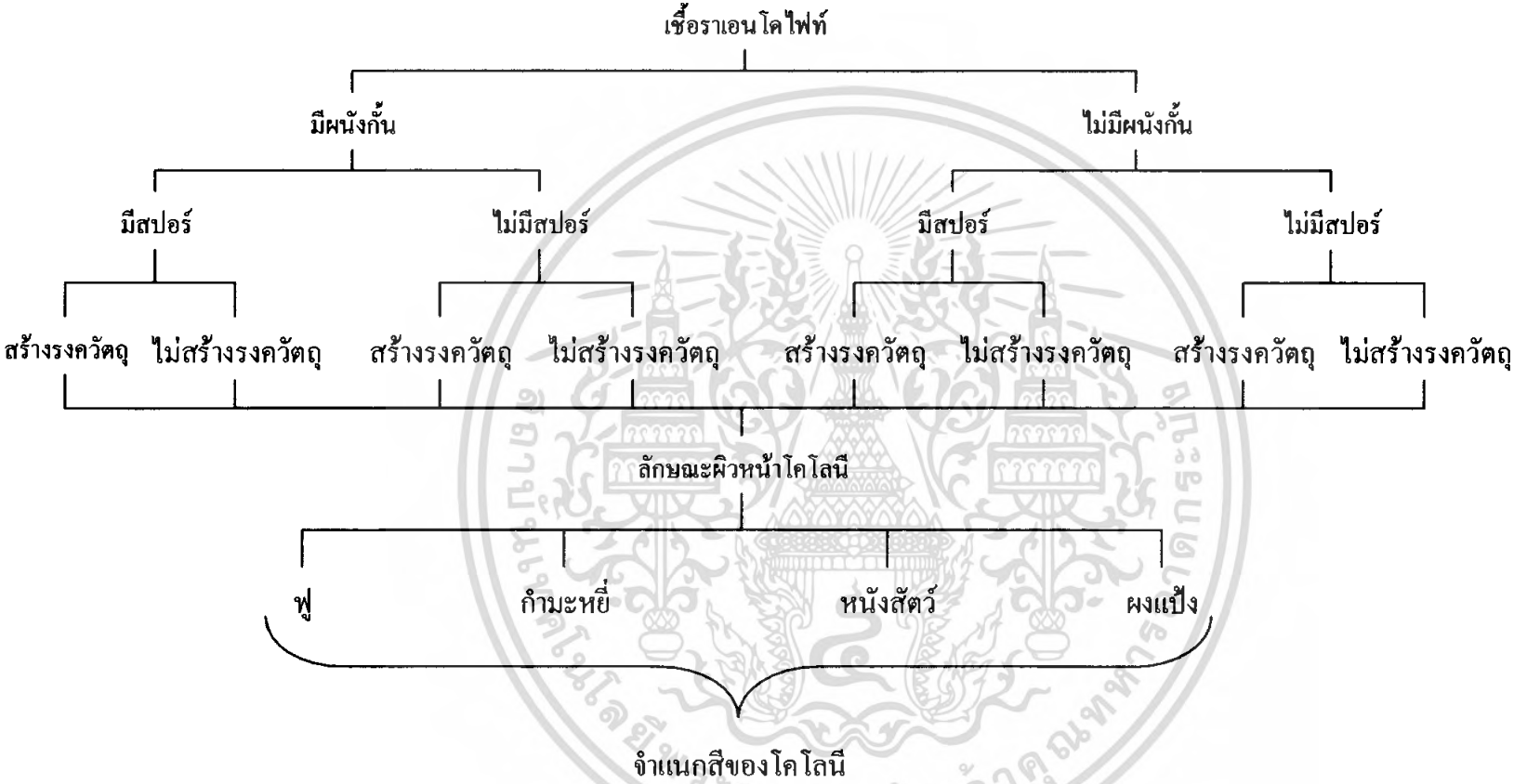
ไอโซเลต	ลักษณะโคโลนี		สีของโคโลนี และรหัสสี		ผนังกั้น	สปอร์
	ระยะอ่อน	ระยะเต็มวัย	ระยะอ่อน	ระยะเต็มวัย		
RT-LV2	หนังสัตว์	หนังสัตว์	เทาอมเขียว (Greenish Gray, #7A7666)	เทาอมเขียว (Greenish Gray, #7A7666)	มี	ไม่มี
RT-LM3	หนังสัตว์	หนังสัตว์	เทาอมเขียว (Greenish Gray, #7A7666)	เทาอมเขียว (Greenish Gray, #7A7666)	มี	ไม่มี
RT-L4	หนังสัตว์	หนังสัตว์	เทาอมเขียว (Greenish Gray, #7A7666)	เทาอมเขียว (Greenish Gray, #7A7666)	ไม่มี	ไม่มี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 การจัดกลุ่มเชื้อราเอนโดไฟท์

จากลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อราเอนโดไฟท์ทั้ง 46 ไอโซเลต สามารถจัดกลุ่มเชื้อราเอนโดไฟท์ได้ทั้งสิ้น 20 กลุ่ม โดยเกณฑ์ที่ใช้ในการจัดกลุ่มนั้นพิจารณาจากผนังกั้นภายในเส้นใย การสร้างสปอร์ สีของรงควัตถุที่เชื้อราสร้างขึ้นซึ่งละลายอยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ลักษณะผิวหน้าโคโลนีในระยะอ่อนและระยะเต็มวัย และจำแนกสีของโคโลนีที่แตกต่างกัน ตามลำดับดังรูปที่ 4.1 เมื่อทำการจัดกลุ่มแล้วจึงคัดเลือกตัวแทนไอโซเลตในกลุ่มนั้นๆ กลุ่มละ 1 ไอโซเลต เพื่อเป็นตัวแทนกลุ่มที่จะนำไปทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



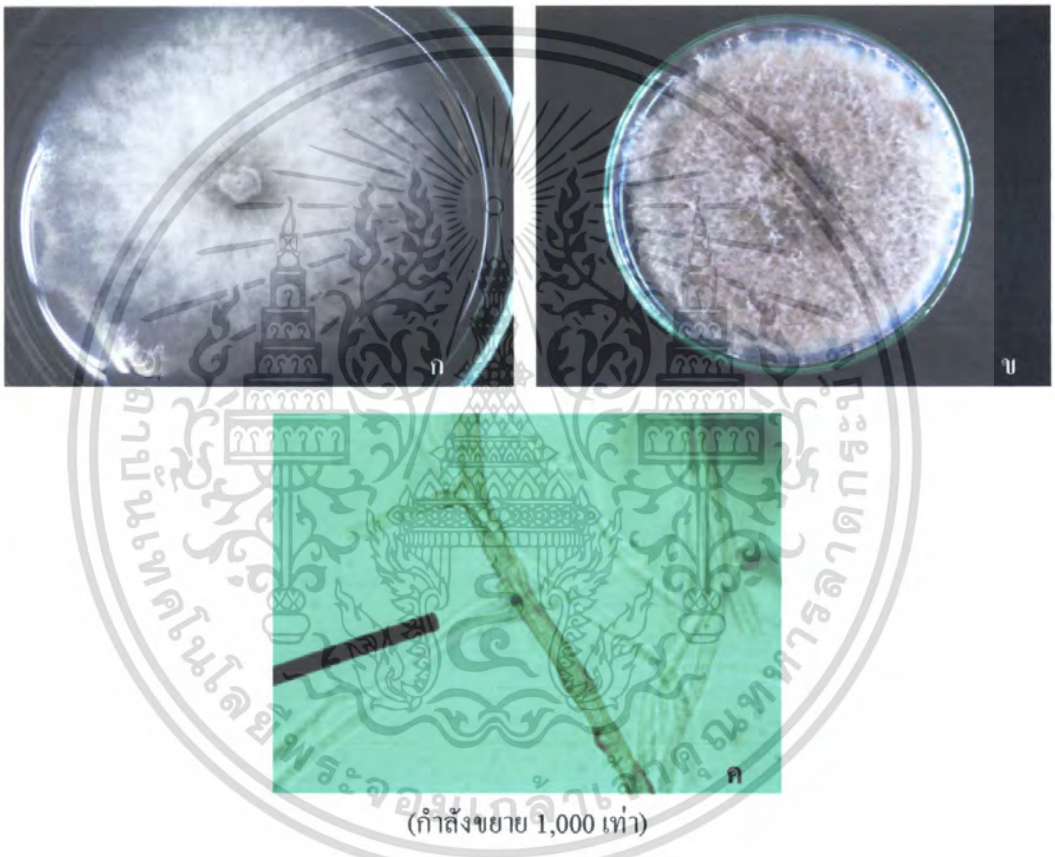
รูปที่ 4.1 แผนภูมิลำดับการจัดกลุ่มเชื้อราเอนโดไฟท์

ไอโซเลตและลักษณะทางสัณฐานวิทยาโดยรวมของเชื้อราเอนโดไฟท์ในแต่ละกลุ่มมีดังนี้

- กลุ่มที่ 1

  <u>สมาชิกในกลุ่ม</u> ได้แก่ AC-L1 AC-L2 AC-L3 AC-L4* AC-L5 และ AC-L6

  <u>ลักษณะทางสัณฐานวิทยาโดยรวม</u> เป็นเชื้อราที่ไม่สร้างสปอร์และรงควัตถุที่ละลายน้ำบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เส้นใยอากาศฟูมีผนังกั้น โคโลนีในระยะอ่อนมีสีขาวและในระยะเต็มวัยมีสีเขียวเทาอมเหลือง ดังแสดงในรูปที่ 4.2



(กำลังขยาย 1,000 เท่า)

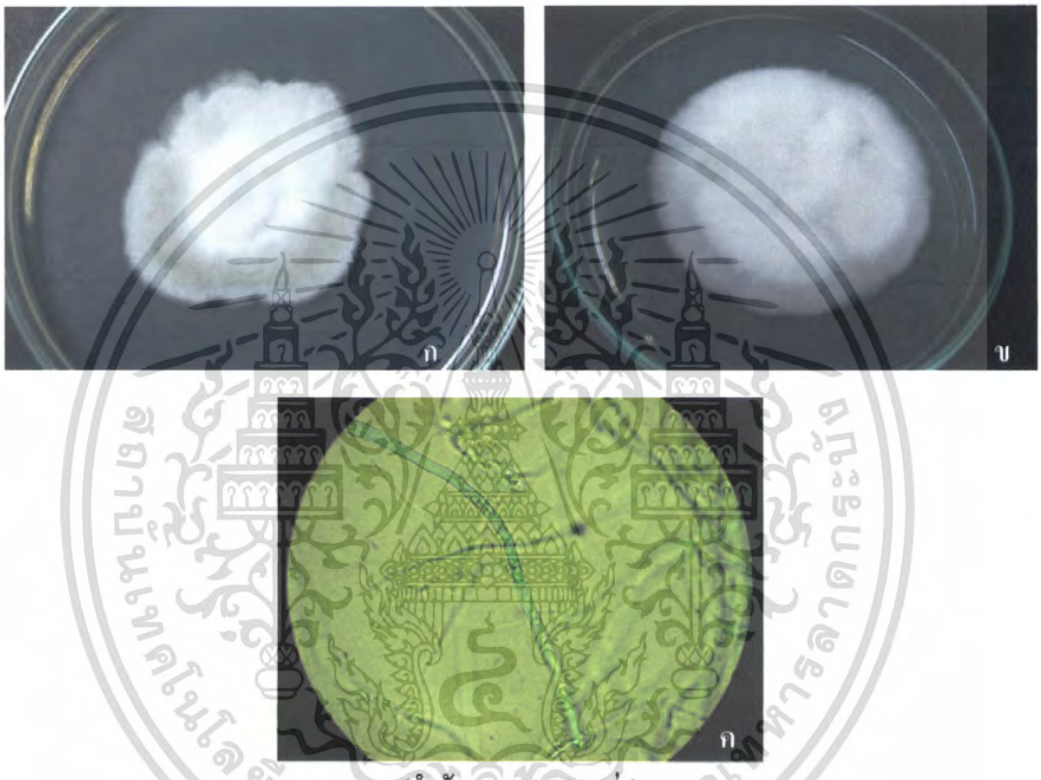
รูปที่ 4.2 ลักษณะโคโลนีของเชื้อราเอนโดไฟท์ตัวแทนกลุ่มที่ 1 ไอโซเลต AC-L4 ในระยะอ่อน (ก) ระยะเต็มวัย (ข) และลักษณะของเส้นใย (ค)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- กลุ่มที่ 2

  <u>สมาชิกในกลุ่ม</u> ได้แก่ AC-L8 และ AC-L11*

  <u>ลักษณะทางสัณฐานวิทยาโดยรวม</u> เป็นเชื้อราที่ไม่สร้างสปอร์และรงควัตถุที่ละลายน้ำบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เส้นใยอากาศฟูไม่มีผนังกั้น โคโลนีในระยะอ่อนและระยะเต็มวัยมีสีขาว ดังแสดงในรูปที่ 4.3



(กำลังขยาย 1,000 เท่า)

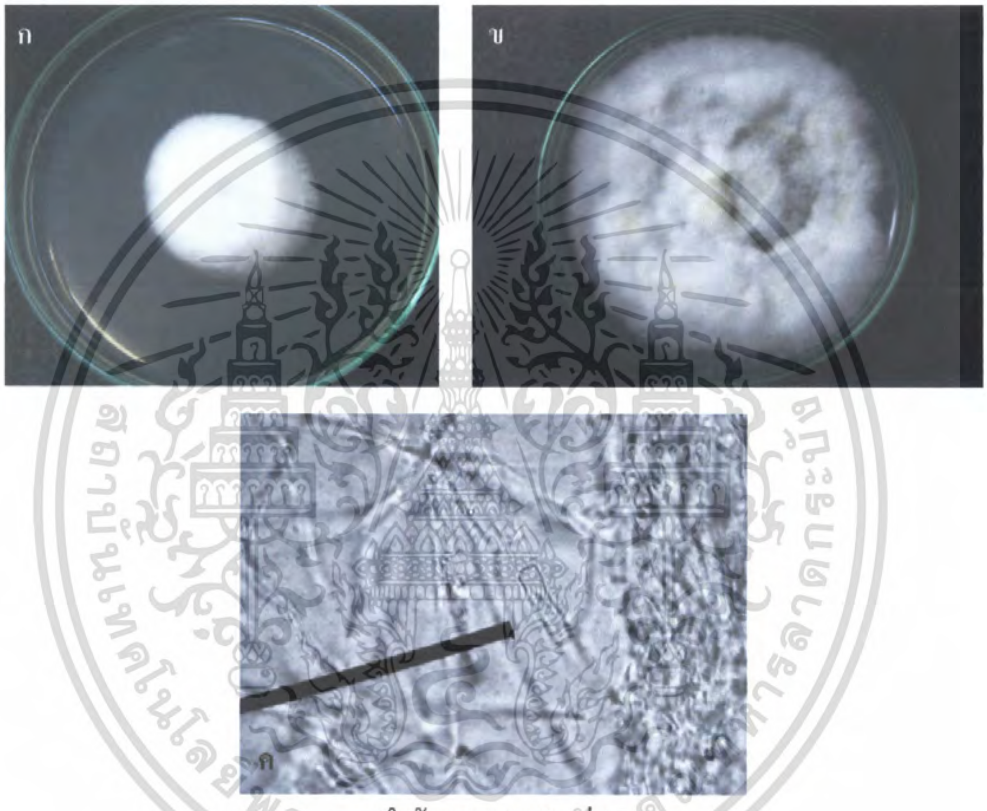
รูปที่ 4.3 ลักษณะโคโลนีของเชื้อราเอนโดไฟท์ตัวแทนกลุ่มที่ 2 ไอโซเลต AC-L11 ในระยะอ่อน (ก) ระยะเต็มวัย (ข) และลักษณะของเส้นใย (ค)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- กลุ่มที่ 3

  <u>สมาชิกในกลุ่ม</u> ได้แก่ AC-L9 และ AC-L19*

  <u>ลักษณะทางสัณฐานวิทยาโดยรวม</u> เป็นเชื้อราที่ไม่สร้างสปอร์และรงควัตถุที่ละลายน้ำบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เส้นใยอากาศฟูมีผนังกั้น โคโลนีในระยะอ่อนมีสีขาว และในระยะเต็มวัยมีสีขาวอมเขียว ดังแสดงในรูปที่ 4.4



(กำลังขยาย 1,000 เท่า)

รูปที่ 4.4 ลักษณะโคโลนีของเชื้อราแอนโดไฟท์ตัวแทนกลุ่มที่ 3 ไอโซเลต AC-L19 ในระยะอ่อน (ก) ระยะเต็มวัย (ข) และลักษณะของเส้นใย (ค)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- กลุ่มที่ 4

สมาชิกในกลุ่ม ได้แก่ CF-L1 CF-L2 EV-LM3 PG-LV4 PG-LV5 PG-LV6* RT-L1 RT-LV2 RT-LM3 และ RT-L4

ลักษณะทางสัณฐานวิทยาโดยรวม เป็นเชื้อราที่ไม่สร้างสปอร์และรงควัตถุที่ละลายน้ำบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เส้นใยอากาศคล้ายหนังสัตว์ มีผนังกั้น โคโลนีในระยะอ่อนมีสีเขียวขี้ม้าอมเทา ปลายเส้นใยมีสีขาว และในระยะเต็มวัยมีสีเขียวเข้มจนเกือบดำ ดังแสดงในรูปที่ 4.5

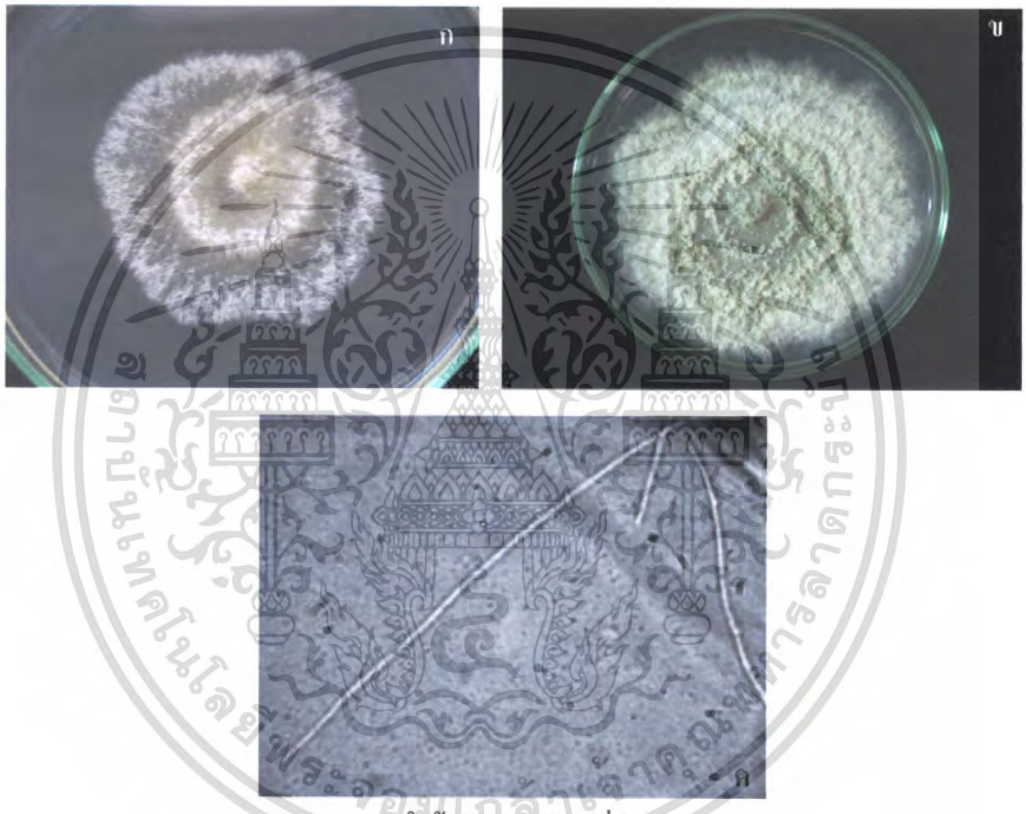
รูปที่ 4.5 ลักษณะโคโลนีของเชื้อราเอนโดไฟท์ตัวแทนกลุ่มที่ 4 ไอโซเลต PG-LV6 ในระยะอ่อน (ก) ระยะเต็มวัย (ข) และลักษณะของเส้นใย (ค)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- กลุ่มที่ 5

สมาชิกในกลุ่ม ได้แก่ CF-LM3 CF-LM4* EV-L1 EV-L4 PG-L3 และ PG-L9

ลักษณะทางสัณฐานวิทยาโดยรวม เป็นเชื้อราที่ไม่สร้างสปอร์และรงควัตถุที่ละลายน้ำบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เส้นใยอากาศคล้ายกำมะหยี่ ไม่มีผนังกั้น โคโลนีในระยะอ่อนมี 2 ชั้น วงด้านในมีสีขาวครีม ส่วนด้านนอกสีขาว และในระยะเต็มวัยโคโลนีมีลักษณะเป็นวงซ้อนกันหลายชั้นมีสีขาวอมเขียว ดังแสดงในรูปที่ 4.6



รูปที่ 4.6 ลักษณะโคโลนีของเชื้อราเอนโดไฟท์ตัวแทนกลุ่มที่ 5 ไอโซเลต CF-LM4 ในระยะอ่อน (ก) ระยะเต็มวัย (ข) และลักษณะของเส้นใย (ค)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- กลุ่มที่ 6

<u>สมาชิกในกลุ่ม</u> ได้แก่ PG-L10 PG-L11 PG-L12 PG-L13* PG-LV14 และ PG-LV15

<u>ลักษณะทางสัณฐานวิทยาโดยรวม</u> เป็นเชื้อราที่ไม่สร้างสปอร์และรงควัตถุที่ละลายน้ำบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เส้นใยอากาศคล้ายกำมะหยี่ ไม่มีผนังกั้น โคโลนีในระยะอ่อนมีลักษณะเป็นกมี 2 ชั้น วงด้านในมีสีเหลือง ส่วนด้านนอกสีขาว และในระยะเต็มวัยมีสีเหลืองปนขาว ดังแสดงในรูปที่ 4.7

(กำลังขยาย 1,000 เท่า)

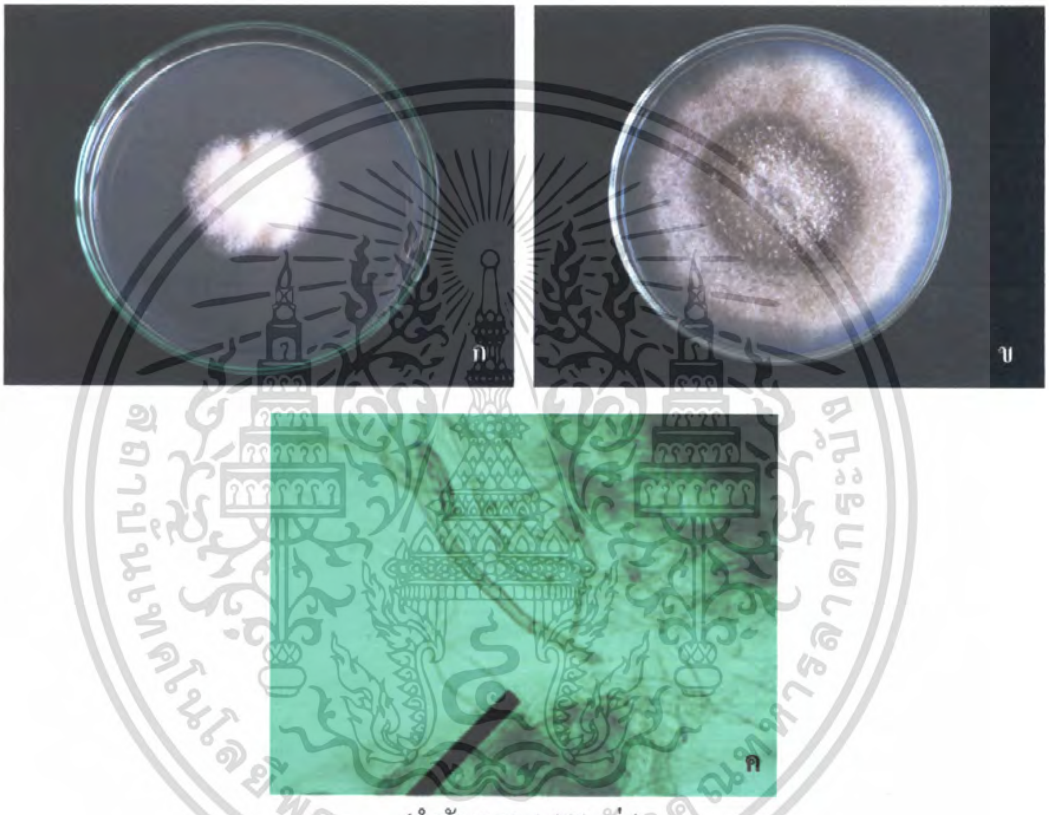
รูปที่ 4.7 ลักษณะโคโลนีของเชื้อราเอนโดไฟท์ตัวแทนกลุ่มที่ 6 ไอโซเลต PG-L13 ในระยะอ่อน (ก) ระยะเต็มวัย (ข) และลักษณะของเส้นใย (ค)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- กลุ่มที่ 7

  <u>สมาชิกในกลุ่ม</u> ได้แก่ AC-L7*

  <u>ลักษณะทางสัณฐานวิทยาโดยรวม</u> เป็นเชื้อราที่ไม่สร้างสปอร์และรงควัตถุที่ละลายน้ำบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เส้นใยอากาศฟูมีผนังกั้น โคโลนีในระยะอ่อนมีสีขาว และในระยะเต็มวัยมีสีขาวอมเขียวบริเวณกลางโคโลนีมีลักษณะเป็นวงสีน้ำตาล ดังแสดงในรูปที่ 4.8



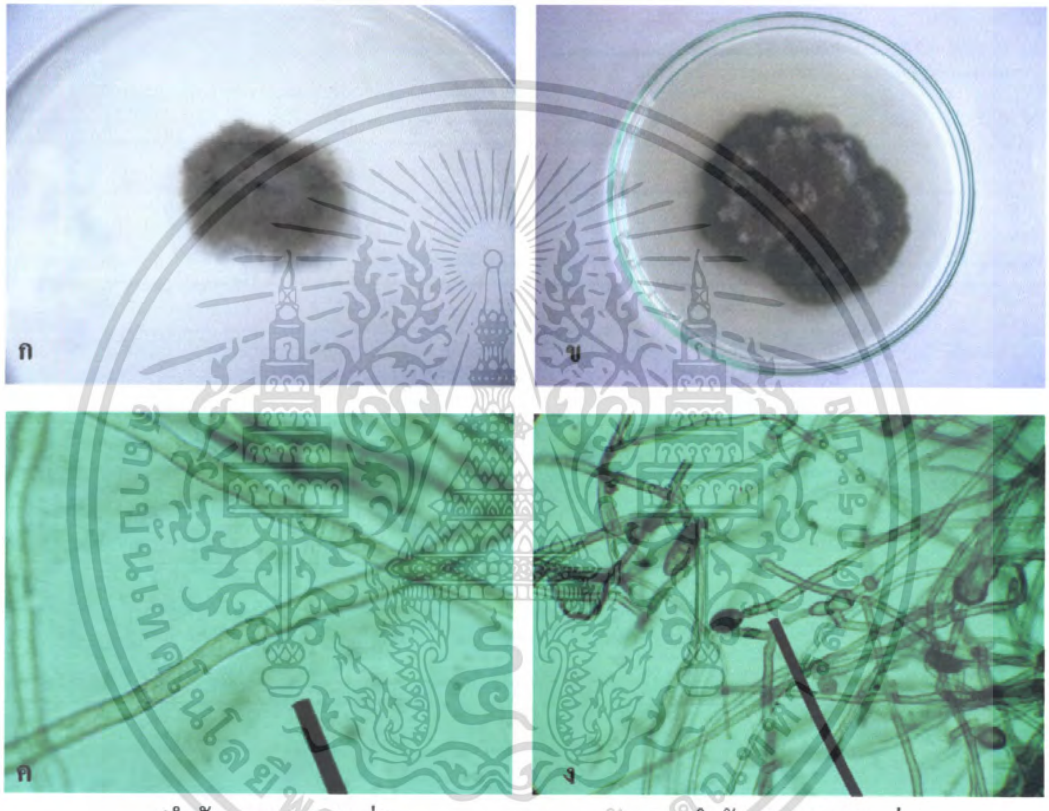
รูปที่ 4.8 ลักษณะโคโลนีของเชื้อราเอนโดไฟท์ตัวแทนกลุ่มที่ 7 ไอโซเลต AC-L7 ในระยะอ่อน (ก) ระยะเต็มวัย (ข) และลักษณะของเส้นใย (ค)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- กลุ่มที่ 8

  สมาชิกในกลุ่ม ได้แก่ AC-L10*

  ลักษณะทางสัณฐานวิทยาโดยรวม เป็นเชื้อราที่สร้างสปอร์แรงจิโอสปอร์ (sporangiospore) รูปทรงยาวรีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ เส้นใยอากาศฟูมีผนังกั้น โคโลนีมีสีเขียวขี้ม้าอมเทาทั้งในระยะอ่อนและในระยะเต็มวัย ดังแสดงในรูปที่ 4.9



(กำลังขยาย 1,000 เท่า) (กำลังขยาย 1,000 เท่า)

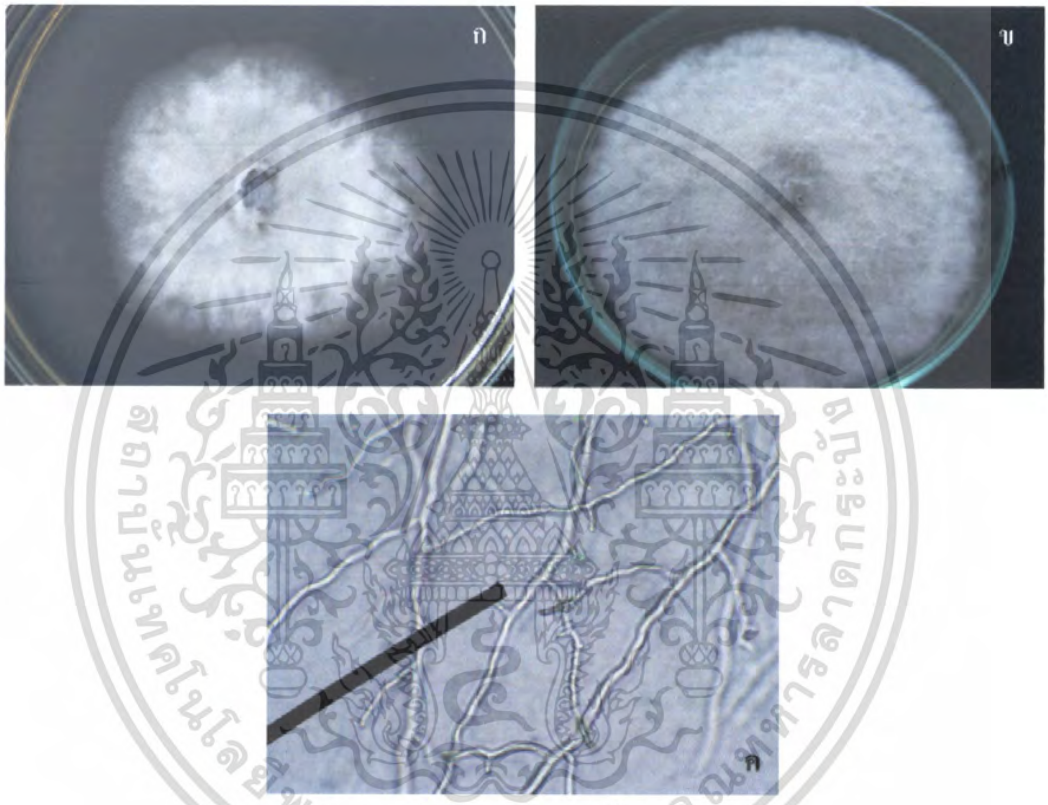
รูปที่ 4.9 ลักษณะโคโลนีของเชื้อราแอนโดไฟท์ตัวแทนกลุ่มที่ 8 ไอโซเลต AC-L10 ในระยะอ่อน (ก) ระยะเต็มวัย (ข) ลักษณะของเส้นใย (ค) และรูปร่างของสปอร์ (ง)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- กลุ่มที่ 9

  <u>สมาชิกในกลุ่ม</u> ได้แก่ AC-L12*

  <u>ลักษณะทางสัณฐานวิทยาโดยรวม</u> เป็นเชื้อราที่ไม่สร้างสปอร์และรงควัตถุที่ละลายน้ำบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เส้นใยอากาศฟูไม่มีผนังกั้น โคโลนีในระยะอ่อนมีสีขาว และในระยะเต็มวัยมีสีขาวอมเขียว ดังแสดงในรูปที่ 4.10



(กำลังขยาย 1,000 เท่า)

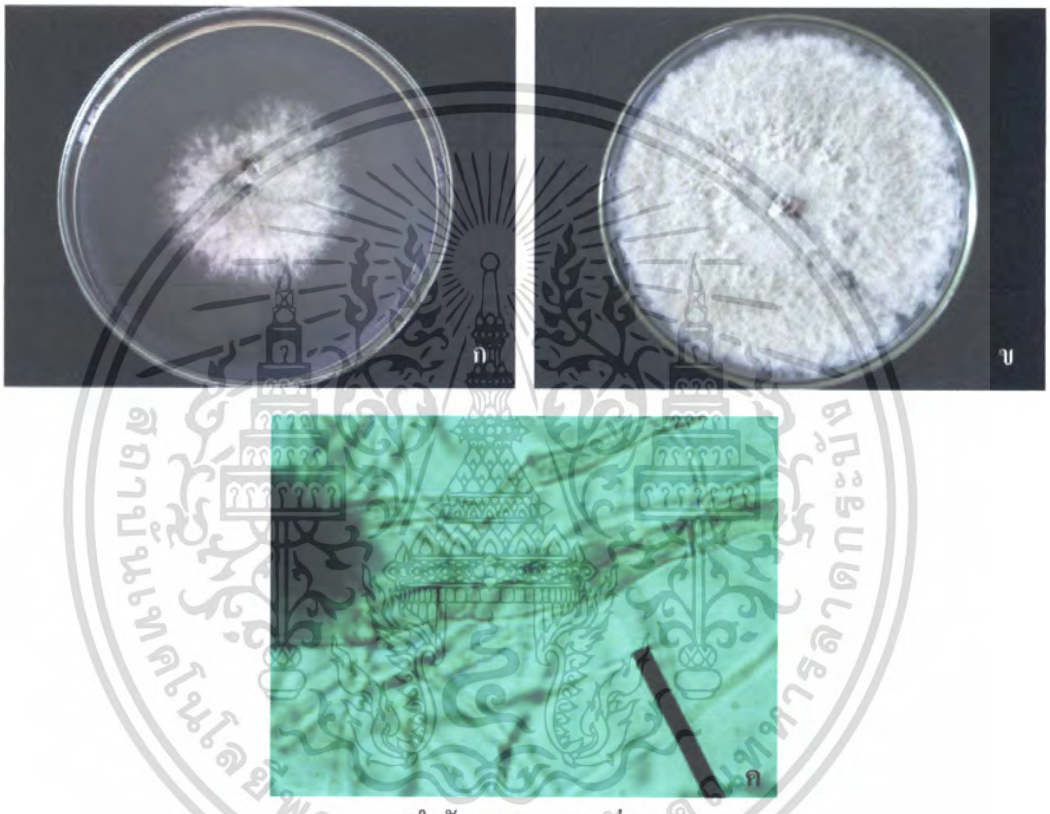
รูปที่ 4.10 ลักษณะโคโลนีของเชื้อราเอนโดไฟท์ตัวแทนกลุ่มที่ 9 ไอโซเลต AC-L12 ในระยะอ่อน (ก) ระยะเต็มวัย (ข) และลักษณะของเส้นใย (ค)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- กลุ่มที่ 10

  สมาชิกในกลุ่ม ได้แก่ AC-L13*

  ลักษณะทางสัณฐานวิทยาโดยรวม เป็นเชื้อราที่ไม่สร้างสปอร์และรงควัตถุที่ละลายน้ำบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เส้นใยอากาศฟูมีผนังกั้น โคโลนีในระยะอ่อนมีสีขาว และในระยะเต็มวัยมีสีเทาอ่อนอมเขียว ดังแสดงในรูปที่ 4.11



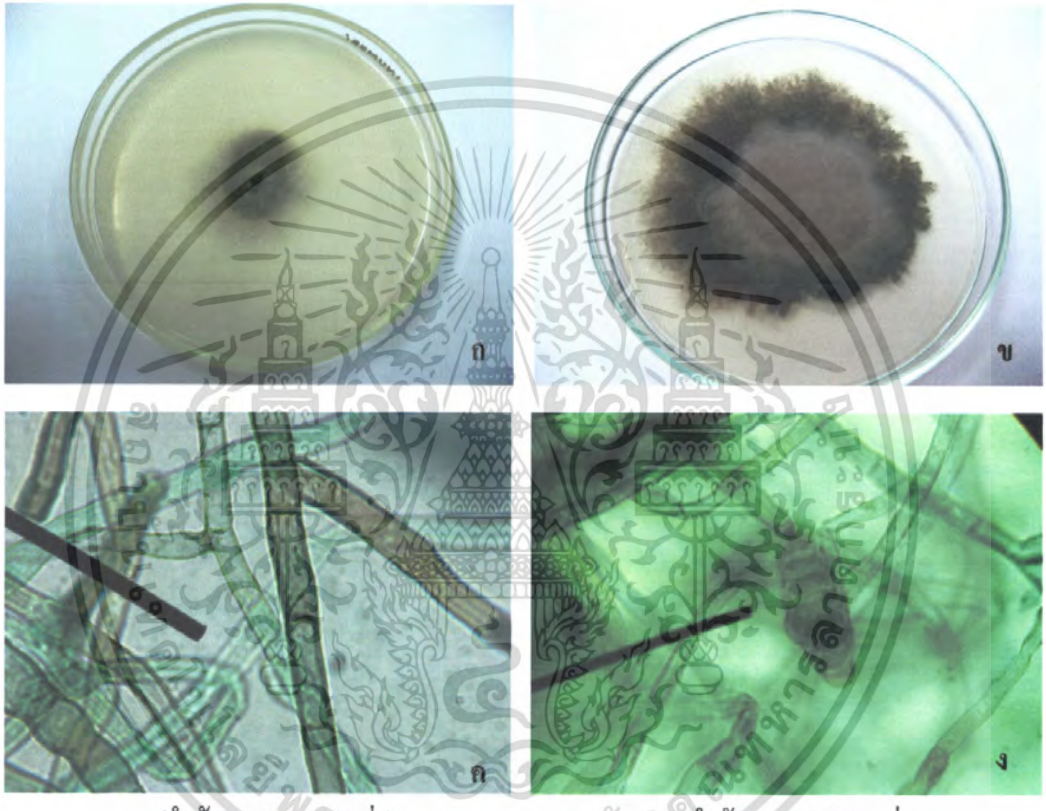
รูปที่ 4.11 ลักษณะโคโลนีของเชื้อราแอนโดไฟท์ตัวแทนกลุ่มที่ 10 ไอโซเลต AC-L13 ในระยะอ่อน (ก) ระยะเต็มวัย (ข) และลักษณะของเส้นใย (ค)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- กลุ่มที่ 11

  <u>สมาชิกในกลุ่ม</u> ได้แก่ AC-L14*

  <u>ลักษณะทางสัณฐานวิทยาโดยรวม</u> เป็นเชื้อราที่สร้างสปอร์แรงจิโอสปอร์รูปทรงยาว รีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ เส้นใยอากาศคล้ายกำมะหยี่ มีผนังกั้น โคโลนีมีสีเขียวขี้ม้าอมเทาทั้งในระยะอ่อนและในระยะเต็มวัย ดังแสดงในรูปที่ 4.12



(กำลังขยาย 1,000 เท่า) (กำลังขยาย 1,000 เท่า)

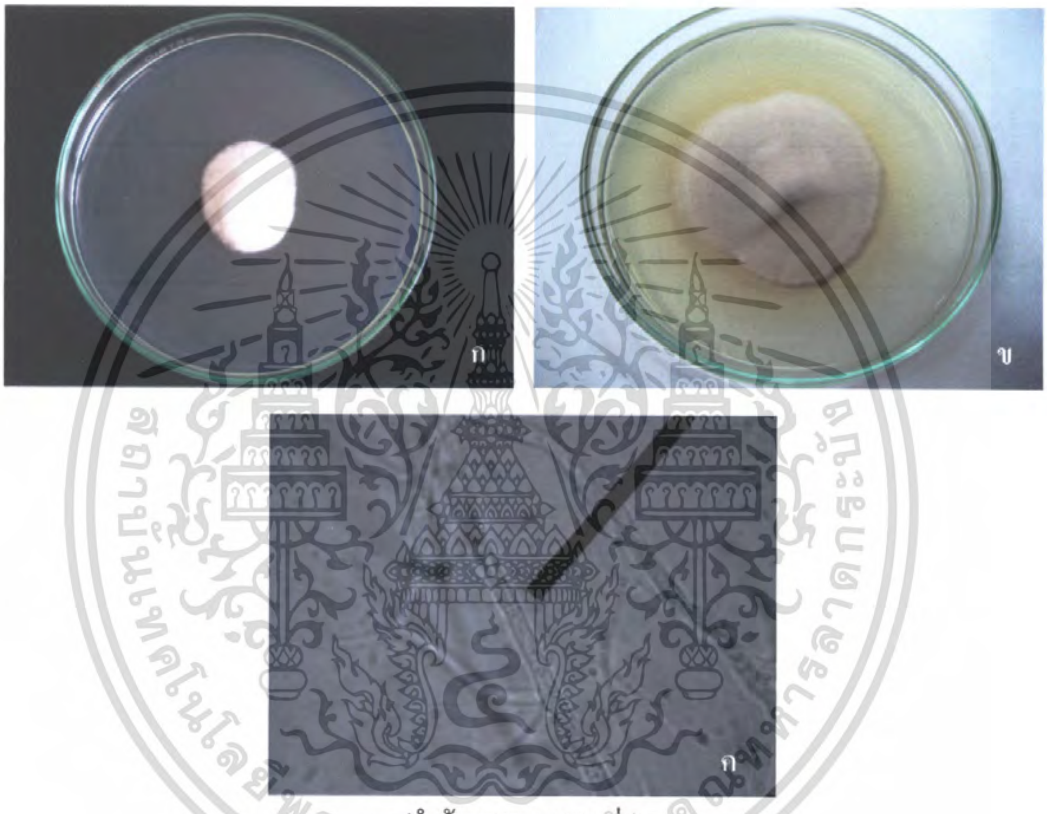
รูปที่ 4.12 ลักษณะโคโลนีของเชื้อราแอนโดไฟท์ตัวแทนกลุ่มที่ 11 ไอโซเลต AC-L14 ในระยะอ่อน (ก) ระยะเต็มวัย (ข) ลักษณะของเส้นใย (ค) และรูปร่างของสปอร์ (ง)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- กลุ่มที่ 12

  <u>สมาชิกในกลุ่ม</u> ได้แก่ AC-L15*

  <u>ลักษณะทางสัณฐานวิทยาโดยรวม</u> เป็นเชื้อราที่ไม่สร้างสปอร์บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA สร้างรงควัตถุสีเหลืองละลายในอาหาร เส้นใยอากาศฟูมีผนังกั้น โคโลนีในระยะอ่อนมีสีขาว และในระยะเต็มวัยมีสีขาวอมเหลือง ดังแสดงในรูปที่ 4.13



(กำลังขยาย 1,000 เท่า)

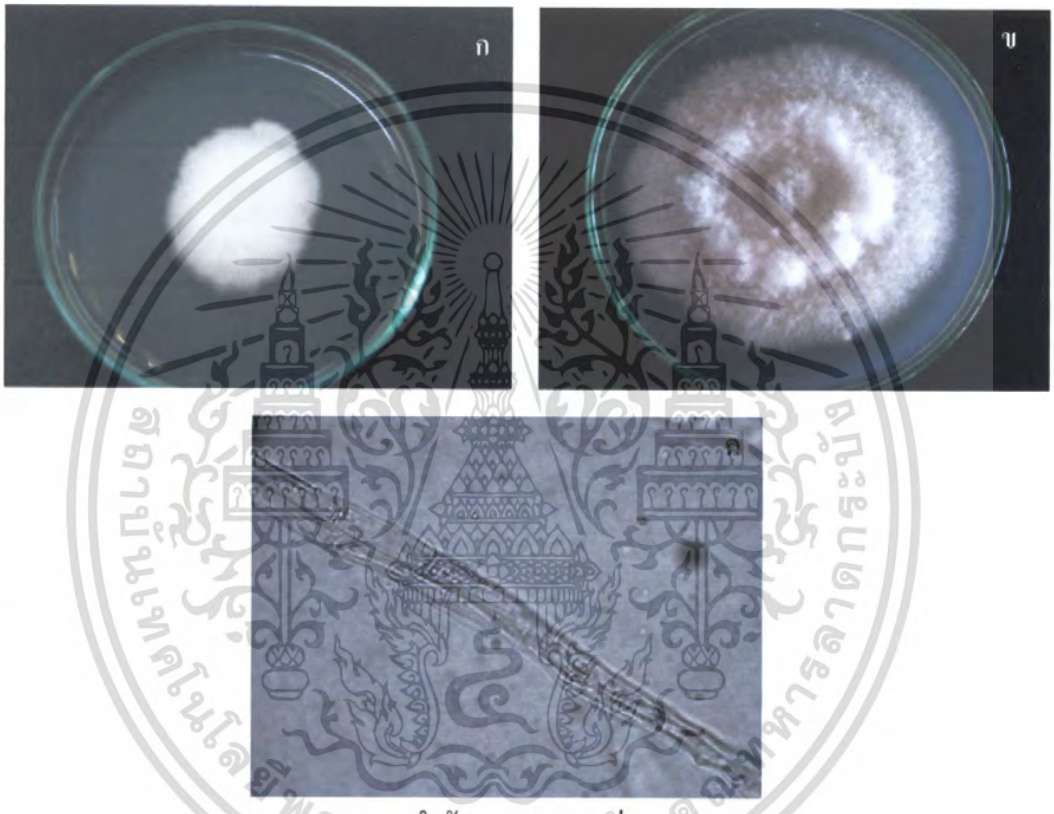
รูปที่ 4.13 ลักษณะโคโลนีของเชื้อราเอนโดไฟท์ตัวแทนกลุ่มที่ 12 ไอโซเลต AC-L15 ในระยะอ่อน (ก) ระยะเต็มวัย (ข) และลักษณะของเส้นใย (ค)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- กลุ่มที่ 13

  <u>สมาชิกในกลุ่ม</u> ได้แก่ AC-L16*

  <u>ลักษณะทางสัณฐานวิทยาโดยรวม</u> เป็นเชื้อราที่ไม่สร้างสปอร์และรงควัตถุที่ละลายน้ำบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เส้นใยอากาศฟูมีผนังกั้น โคโลนีมีสีขาวทั้งในระยะอ่อนและในระยะเต็มวัย ดังแสดงในรูปที่ 4.14



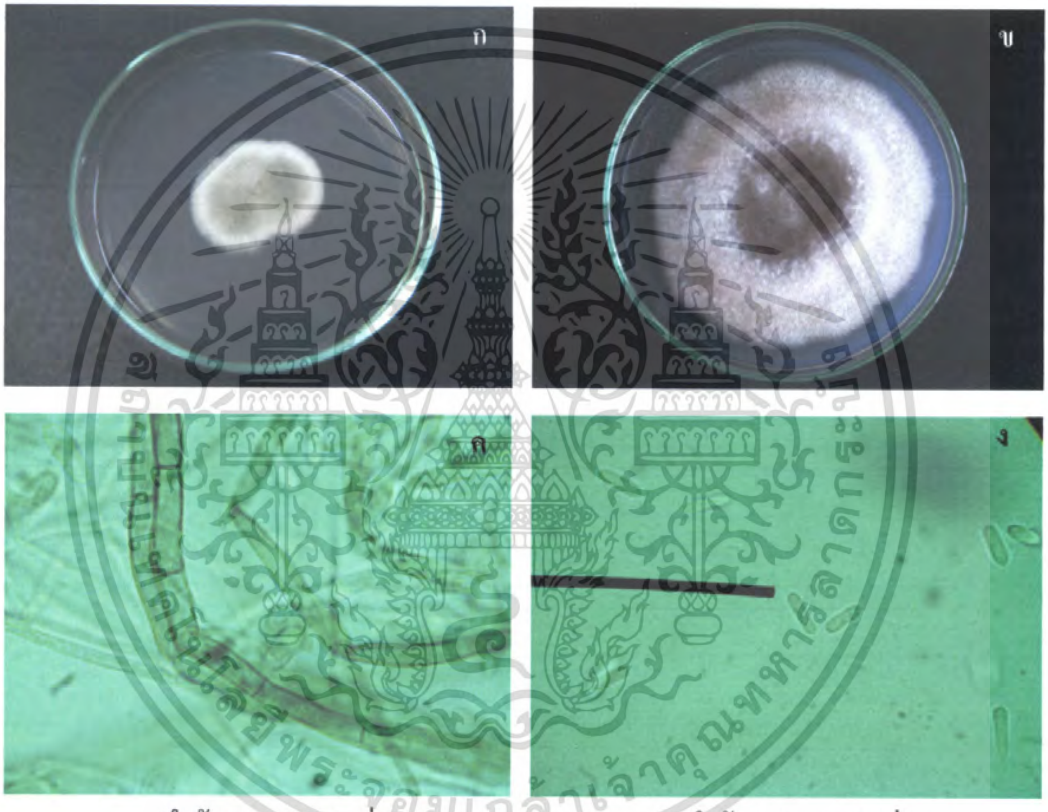
รูปที่ 4.14 ลักษณะโคโลนีของเชื้อราเอนโดไฟท์ตัวแทนกลุ่มที่ 13 ไอโซเลต AC-L16 ในระยะอ่อน (ก) ระยะเต็มวัย (ข) และลักษณะของเส้นใย (ค)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- กลุ่มที่ 14

  สมาชิกในกลุ่ม ได้แก่ AC-L17*

  ลักษณะทางสัณฐานวิทยาโดยรวม เป็นเชื้อราที่สร้างอาร์โธรสปอร์ (Arthrospore) รูปทรงแท่งบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ เส้นใยอากาศฟูมีผนังกั้น โคโลนีในระยะอ่อนมีสีขาวอมเหลือง และในระยะเต็มวัยมีสีเทาอ่อนอมเขียว บริเวณกลางโคโลนีมีสีน้ำตาล ดังแสดงในรูปที่ 4.15



(กำลังขยาย 1,000 เท่า) (กำลังขยาย 1,000 เท่า)

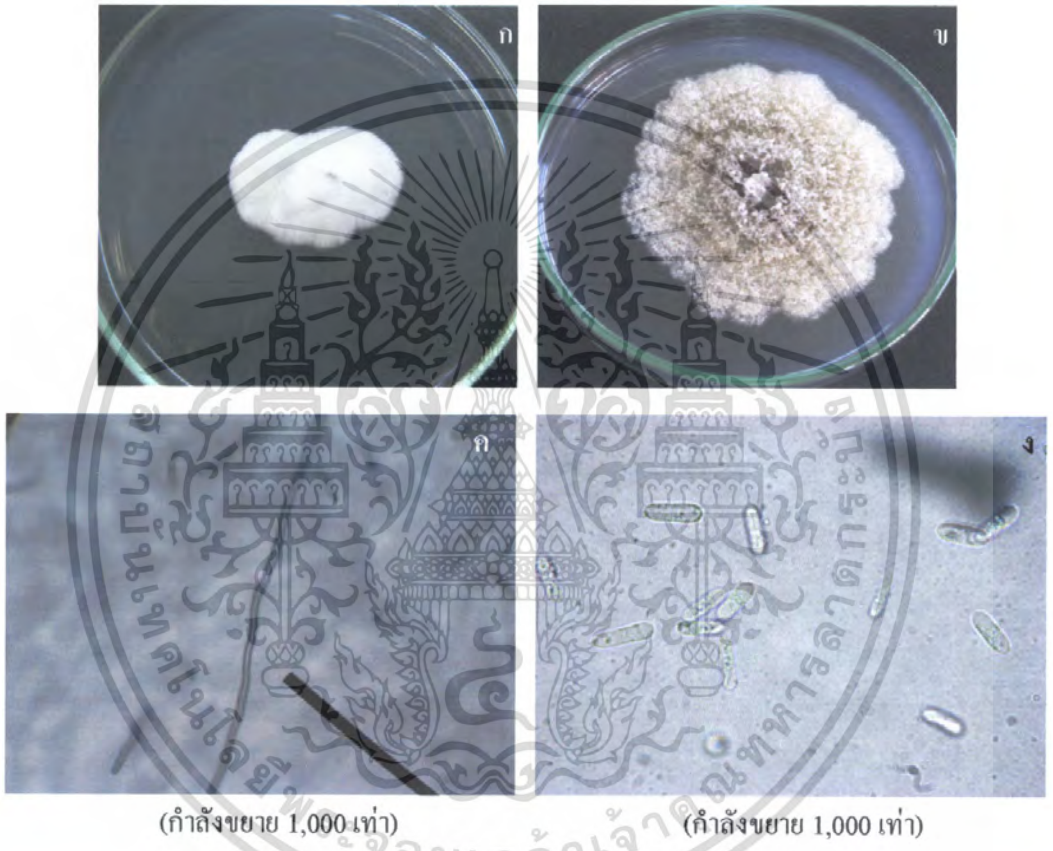
รูปที่ 4.15 ลักษณะโคโลนีของเชื้อราเอนโดไฟท์ตัวแทนกลุ่มที่ 14 ไอโซเลต AC-L17 ในระยะอ่อน (ก) ระยะเต็มวัย (ข) ลักษณะของเส้นใย (ค) และรูปร่างของสปอร์ (ง)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- กลุ่มที่ 15

  สมาชิกในกลุ่ม ได้แก่ AC-L18*

  ลักษณะทางสัณฐานวิทยาโดยรวม เป็นเชื้อราที่สร้างอาร์โธรสปอร์รูปทรงแท่งบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ เส้นใยอากาศฟูไม่มีผนังกั้น โคโลนีในระยะอ่อนมีสีขาว และในระยะเต็มวัยมีสีขาวอมเหลือง ดังแสดงในรูปที่ 4.16



(กำลังขยาย 1,000 เท่า) (กำลังขยาย 1,000 เท่า)

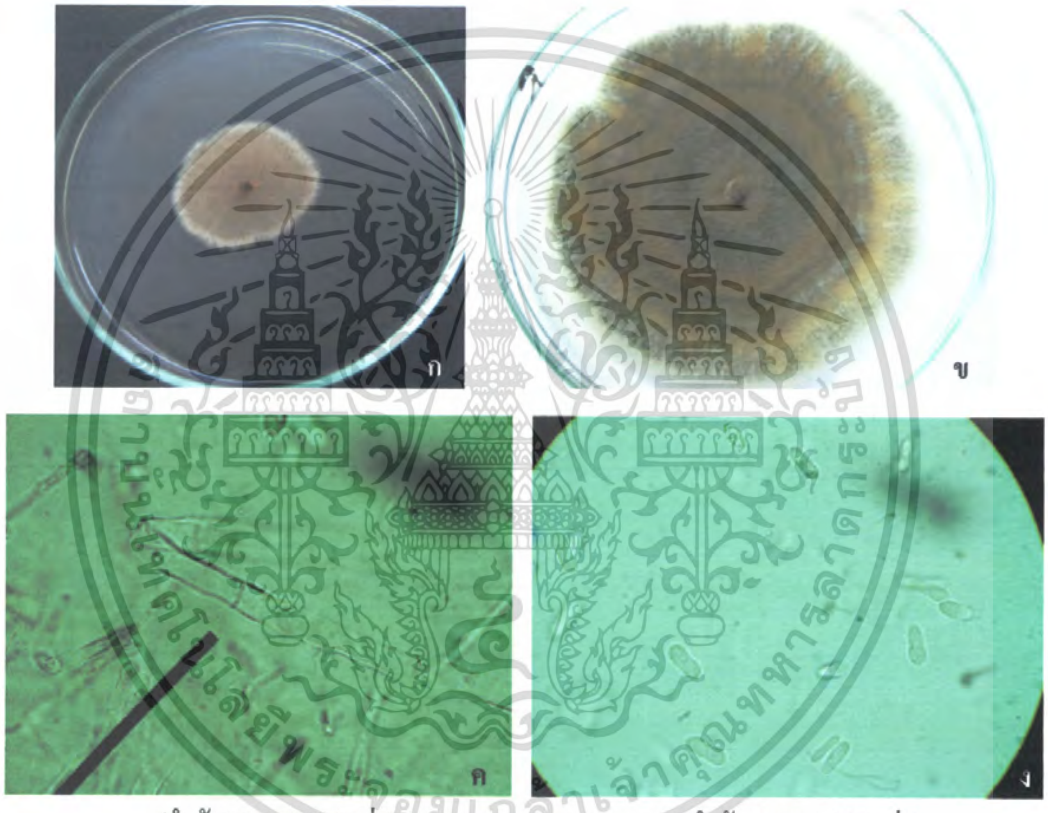
รูปที่ 4.16 ลักษณะโคโลนีของเชื้อราเอนโดไฟท์ตัวแทนกลุ่มที่ 15 ไอโซเลต AC-L18 ในระยะอ่อน (ก) ระยะเต็มวัย (ข) ลักษณะของเส้นใย (ค) และรูปร่างของสปอร์ (ง)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- กลุ่มที่ 16

  สมาชิกในกลุ่ม ได้แก่ AC-L20*

  ลักษณะทางสัณฐานวิทยาโดยรวม เป็นเชื้อราที่สร้างอาร์โธรสปอร์รูปทรงแท่งบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ เส้นใยอากาศคล้ายผงแป้งมีผนังกั้น โคโลนีในระยะอ่อนมีสีเหลืองสดอมส้มขอบโคโลนีมีสีขาว และในระยะเต็มวัยโคโลนีซ้อนกันเป็นชั้นสีดำน้ำตาล และเหลืองสลับกัน ดังแสดงในรูปที่ 4.17



(กำลังขยาย 1,000 เท่า) (กำลังขยาย 1,000 เท่า)

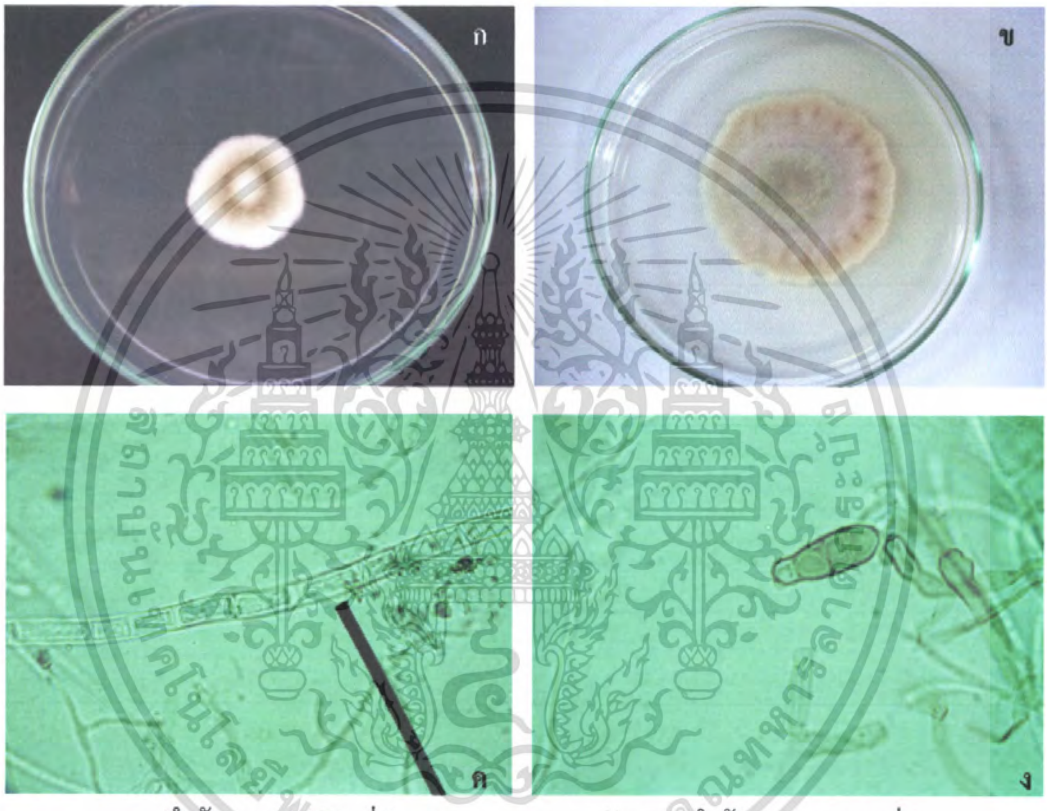
รูปที่ 4.17 ลักษณะโคโลนีของเชื้อราเอนโดไฟท์ตัวแทนกลุ่มที่ 16 ไอโซเลต AC-L20 ในระยะอ่อน (ก) ระยะเต็มวัย (ข) ลักษณะของเส้นใย (ค) และรูปร่างของสปอร์ (ง)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- กลุ่มที่ 17

  <u>สมาชิกในกลุ่ม</u> ได้แก่ PG-L1*

  <u>ลักษณะทางสัณฐานวิทยาโดยรวม</u> เป็นเชื้อราที่สร้างสปอร์แรงจิโอสปอร์รูปทรงยาว รีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ เส้นใยอากาศฟูมีผนังกั้น โคโลนีในระยะอ่อนมีสีขาวอมเหลือง และในระยะเต็มวัยมีสีเหลืองซีด ดังแสดงในรูปที่ 4.18



(กำลังขยาย 1,000 เท่า) (กำลังขยาย 1,000 เท่า)

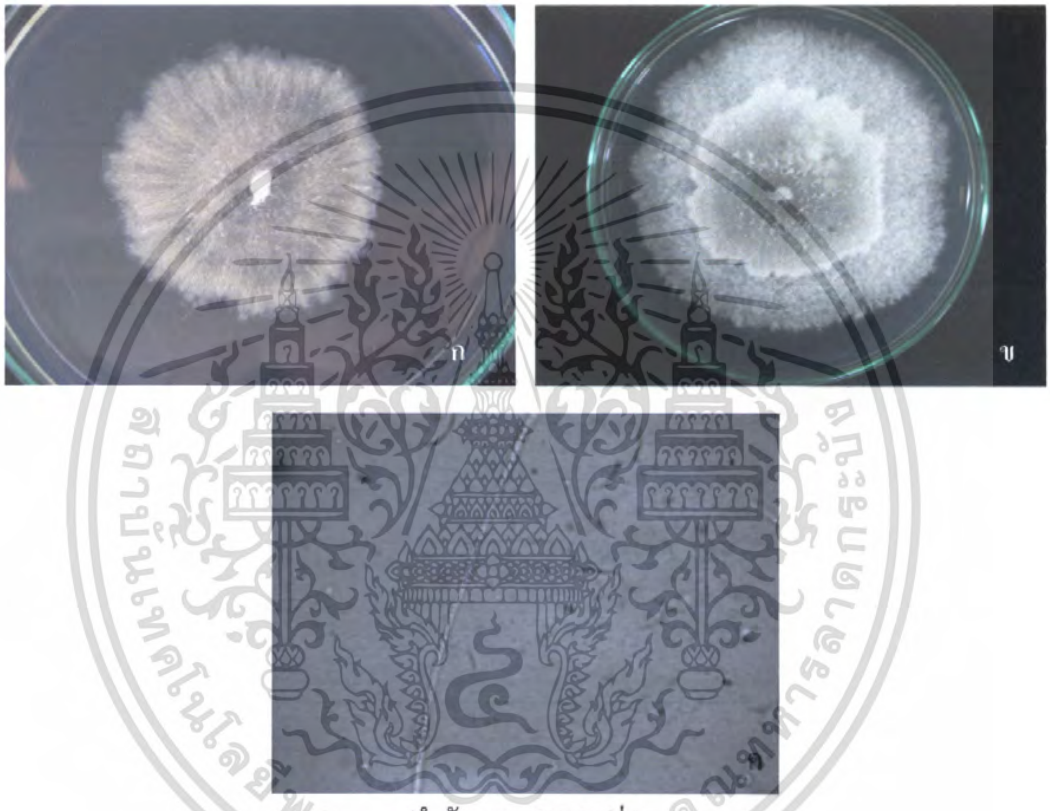
รูปที่ 4.18 ลักษณะโคโลนีของเชื้อราเอนโดไฟท์ตัวแทนกลุ่มที่ 17 ไอโซเลต PG-L1 ในระยะอ่อน (ก) ระยะเต็มวัย (ข) ลักษณะของเส้นใย (ค) และรูปร่างของสปอร์ (ง)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- กลุ่มที่ 18

  <u>สมาชิกในกลุ่ม</u> ได้แก่ PG-LV2*

  <u>ลักษณะทางสัณฐานวิทยาโดยรวม</u> เป็นเชื้อราที่ไม่สร้างสปอร์และรงควัตถุที่ละลายน้ำบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เส้นใยอากาศฟูไม่มีผนังกั้น โคโลนีในระยะอ่อนมีสีขาว และในระยะเต็มวัยมีสีเทาอ่อนอมเขียว ดังแสดงในรูปที่ 4.19



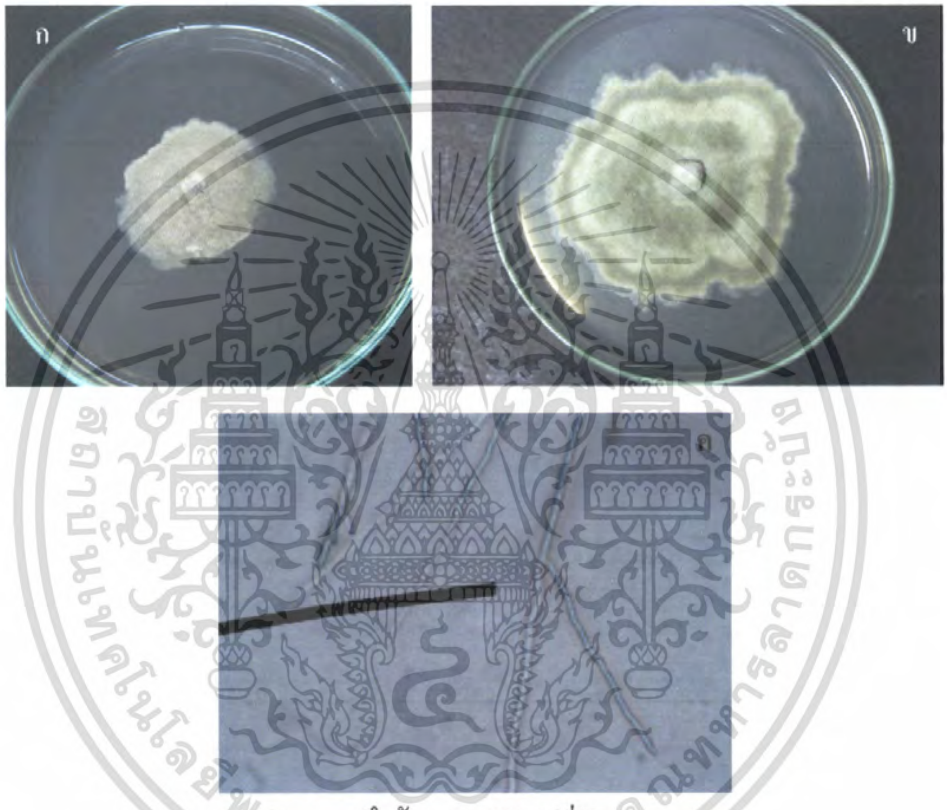
รูปที่ 4.19 ลักษณะโคโลนีของเชื้อราเอนโดไฟท์ตัวแทนกลุ่มที่ 18 ไอโซเลต PG-LV2 ในระยะอ่อน (ก) ระยะเต็มวัย (ข) และลักษณะของเส้นใย (ค)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- กลุ่มที่ 19

  <u>สมาชิกในกลุ่ม</u> ได้แก่ PG-LV7*

  <u>ลักษณะทางสัณฐานวิทยาโดยรวม</u> เป็นเชื้อราที่ไม่สร้างสปอร์และรงควัตถุที่ละลายน้ำบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เส้นใยอากาศคล้ายผงแป้งไม่มีผนังกั้น โคโลนีในระยะอ่อนมีสีเขียวเทาอมเหลือง และในระยะเต็มวัยมีสีเหลืองเทาอมเขียว ดังแสดงในรูปที่ 4.20



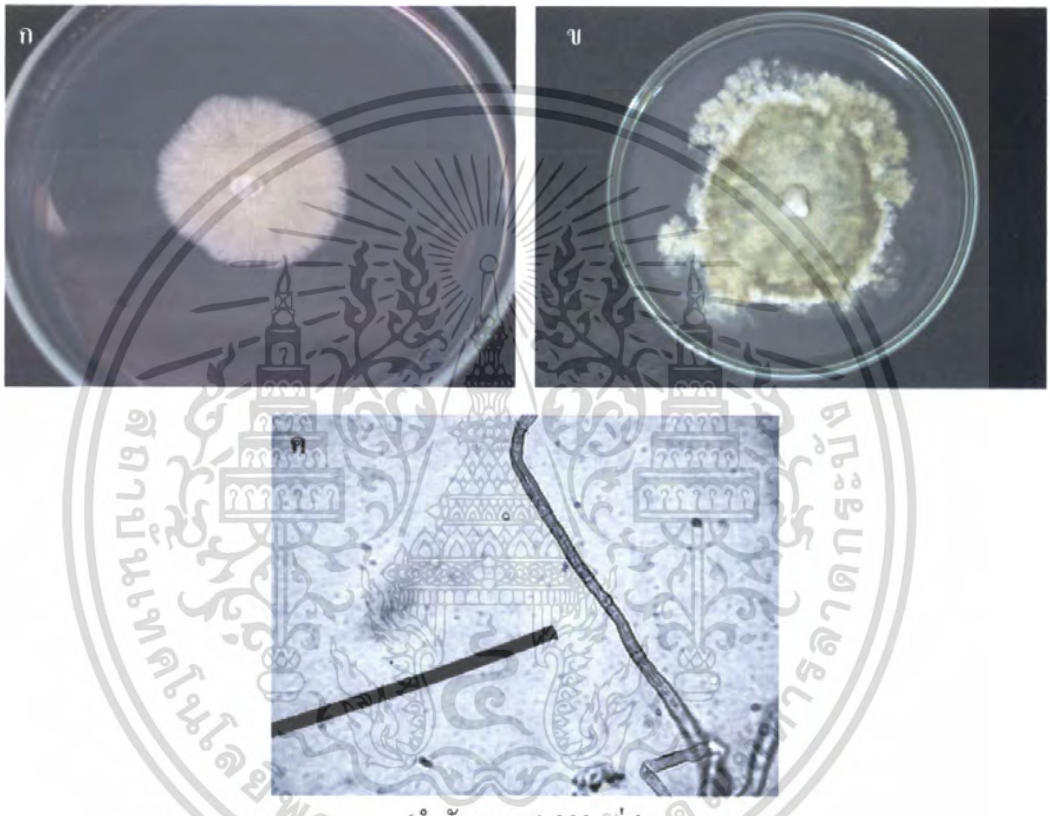
รูปที่ 4.20 ลักษณะโคโลนีของเชื้อราแอนโคไฟท์ตัวแทนกลุ่มที่ 19 ไอโซเลต PG-LV7 ในระยะอ่อน (ก) ระยะเต็มวัย (ข) และลักษณะของเส้นใย (ค)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- กลุ่มที่ 20

  <u>สมาชิกในกลุ่ม</u> ได้แก่ PG-LV8*

  <u>ลักษณะทางสัณฐานวิทยาโดยรวม</u> เป็นเชื้อราที่ไม่สร้างสปอร์และรงควัตถุที่ละลายน้ำบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เส้นใยอากาศคล้ายผงแป้งมีผนังกั้น โคโลนีในระยะอ่อนมีสีเหลืองเขียวซีดอมเหลือง และในระยะเต็มวัยมีสีเขียวขี้ม้าอ่อนอมเทา ดังแสดงในรูปที่ 4.21



(กำลังขยาย 1,000 เท่า)

รูปที่ 4.21 ลักษณะโคโลนีของเชื้อราเอนโดไฟท์ตัวแทนกลุ่มที่ 20 ไอโซเลต PG-LV8 ในระยะอ่อน (ก) ระยะเต็มวัย (ข) และลักษณะของเส้นใย (ค)

<u>หมายเหตุ</u>

* หมายถึง เชื้อราเอนโดไฟท์ที่ถูกเลือกเป็นตัวแทนกลุ่ม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4 การศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของเชื้อราเอนโดไฟท์ที่มีต่อเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ

4.4.1 การศึกษาชนิดของอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมในการผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของเชื้อราเอนโดไฟท์

เมื่อนำเชื้อราเอนโดไฟท์แต่ละไอโซเลตที่เป็นตัวแทนกลุ่มไปเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ 5 ชนิด ได้แก่ CMA PDA SDA TWA และ YES ในที่มืด ณ อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 14 วัน จากนั้นทำการสังเกตและบันทึกลักษณะต่างๆ ได้แก่ การเจริญของเชื้อ สีของเส้นใยอาหารและเส้นใยอากาศ ผิวหน้าโคโลนี และสีของรงควัตถุที่ละลายน้ำ ได้ผลดังแสดงไว้ดังตารางที่ 4.3 (แสดงรูปในภาคผนวก ก)

ตารางที่ 4.3 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อราเอนโดไฟท์ตัวแทนกลุ่มบนอาหารชนิดต่างๆ

กลุ่มที่ (ไอโซเลต)	ชนิดอาหารเลี้ยงเชื้อ	การเจริญ	ลักษณะโคโลนี			สีของรงควัตถุที่ละลายน้ำ
			สีของเส้นใยอาหาร	สีของเส้นใยอากาศ	ผิวหน้าโคโลนี	
1 (AC-L4)	CMA	ดี	ขาว (white, #FFC9D7)	ขาว (white, #FFC9D7)	ฟู	-
	PDA	ดีมาก	เขียวเทาอมเหลือง (Grayish Yellowish Green, #90845B)	เขียวเทาอมเหลือง (Grayish Yellowish Green, #90845B)	ฟู	-
	SDA	ดีมาก	เขียวเทาอมเหลือง (Grayish Yellowish Green, #90845B)	ขาวอมเขียว (Greenish White, #F5E6CB)	ฟู	-
	TWA	น้อย	เขียวเทาอมเหลือง (Grayish Yellowish Green, #90845B)	เขียวเทาอมเหลือง (Grayish Yellowish Green, #90845B)	ฟู	-
	YES	ดีมาก	เหลืองเข้มอมเขียว (Deep Greenish Yellow, #9F8200)	เหลืองเทาอมเขียว (Grayish Greenish Yellow, #C4A55F)	ฟู	-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3 (ต่อ)

กลุ่มที่ (ไอโซเลต)	ชนิดอาหารเลี้ยงเชื้อ	การเจริญ	ลักษณะโคโลนี			สีของรงค-วัตถุที่ละลายน้ำ
			สีของเส้นใยอาหาร	สีของเส้นใยอากาศ	ผิวหน้าโคโลนี	
2 (AC-L11)	CMA	ดี	ขาว (white, #FFC9D7)	ขาว (white, #FFC9D7)	ฟู	-
	PDA	ดีมาก	เขียวซีดอมเหลือง (Pale Yellowish Green, #F0D698)	ขาว (white, #FFC9D7)	ฟู	-
	SDA	ดีมาก	เหลืองซีดอมเขียว (Pale Greenish Yellow, #FFDF84)	ขาว (white, #FFC9D7)	ฟู	-
	TWA	น้อย	เขียวซีด (Pale Green, #8D917A)	เขียวซีด (Pale Green, #8D917A)	ฟู	-
	YES	ดีมาก	เหลืองอ่อน (Light Yellow, #FFD35F)	ขาว (white, #FFC9D7)	ฟู	-
3 (AC-L19)	CMA	ดีมาก	ขาว (white, #FFC9D7)	ขาว (white, #FFC9D7)	ฟู	-
	PDA	ดี	เทาอ่อนอมเขียว (Light Greenish Gray, #BAAF96)	เขียวเทาอมเหลือง (Grayish Yellowish Green, #90845B)	ฟู	-
	SDA	ดีมาก	เขียวเทาอมเหลือง (Grayish Yellowish Green, #90845B)	ขาวอมเขียว (Greenish White, #F5E6CB)	ฟู	-
	TWA	น้อย	ขาว (white, #FFC9D7)	ขาว (white, #FFC9D7)	ฟู	-
	YES	ดีมาก	เหลืองซีดอมเขียว (Pale Greenish Yellow, #FFDF84)	ขาว (white, #FFC9D7)	ผงแป้ง	-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3 (ต่อ)

กลุ่มที่ (ไอโซเลต)	ชนิดอาหารเลี้ยงเชื้อ	การเจริญ	ลักษณะโคโลนี			สีของรงค-วัตถุที่ละลายน้ำ
			สีของเส้นใยอาหาร	สีของเส้นใยอากาศ	ผิวหน้าโคโลนี	
4 (PG-LV6)	CMA	ปานกลาง	ขาวอมเขียว (Greenish White, #F5E6CB)	เขียวขี้ม้า (Moderate Olive Green, #434B1B)	หนังสัตว์	-
	PDA	ปานกลาง	เขียวเข้มอมเหลือง (Dark Greenish Yellowish Green, #313830)	ดำอมเขียว (Greenish Black, #181513)	หนังสัตว์	-
	SDA	ปานกลาง	เทาอมเขียว (Greenish Gray, #7A7666)	ดำอมเขียว (Greenish Black, #181513)	หนังสัตว์	-
	TWA	น้อย	เขียวขี้ม้า (Moderate Olive Green, #434B1B)	เขียวขี้ม้า (Moderate Olive Green, #434B1B)	ผงแป้ง	-
	YES	ดี	เขียวซีด (Pale Green, #8D917A)	ดำอมเขียว (Greenish Black, #181513)	กำมะหยี่	-
5 (CF-LM4)	CMA	ดีมาก	ขาวอมเขียว (Greenish White, #F5E6CB)	ขาวอมเขียว (Greenish White, #F5E6CB)	ฟู	-
	PDA	ดีมาก	เขียวซีดอมเหลือง (Pale Yellowish Green, #F0D698)	ขาวอมเขียว (Greenish White, #F5E6CB)	ฟู	-
	SDA	ดีมาก	เขียวซีดอมเหลือง (Pale Yellowish Green, #F0D698)	ขาวอมเขียว (Greenish White, #F5E6CB)	ฟู	-
	TWA	น้อย	ขาว (white, #FFC9D7)	ขาว (white, #FFC9D7)	ฟู	-
	YES	ดีมาก	เขียวเทาอมเหลือง (Grayish Yellowish Green, #90845B)	เทาอมเหลือง (Yellowish Gray, #CAA885)	ฟู	-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3 (ต่อ)

กลุ่มที่ (ไอโซเลต)	ชนิดอาหารเลี้ยงเชื้อ	การเจริญ	ลักษณะโคโลนี			สีของรงค-วัตถุที่ละลายน้ำ
			สีของเส้นใยอาหาร	สีของเส้นใยอากาศ	ผิวหน้าโคโลนี	
6 (PG-L13)	CMA	ดีมาก	เหลืองซีดอมเขียว (Pale Greenish Yellow, #FFDF84)	ขาว (white, #FFC9D7)	ฟู	-
	PDA	ดีมาก	เหลืองซีดอมเขียว (Pale Greenish Yellow, #FFDF84)	เหลืองซีด (Pale Yellow, #FFDB8B)	ฟู	-
	SDA	ดีมาก	เหลืองสดอมเขียว (Brilliant Greenish Yellow, #FFDC33)	ขาวอมเหลือง (Yellowish White, #FFE2B7)	ฟู	-
	TWA	น้อย	ขาว (white, #FFC9D7)	ขาว (white, #FFC9D7)	ฟู	-
	YES	ดีมาก	เหลืองอ่อน (Light Yellow, #FFD35F)	เหลืองซีดอมเขียว (Pale Greenish Yellow, #FFDF84)	ผงแป้ง	-
7 (AC-L7)	CMA	ดีมาก	ขาว (white, #FFC9D7)	ขาว (white, #FFC9D7)	ฟู	-
	PDA	ดี	เหลืองซีดอมเขียว (Pale Greenish Yellow, #FFDF84)	ขาวอมเขียว (Greenish White, #F5E6CB)	ฟู	-
	SDA	ดี	เหลืองซีดอมเขียว (Pale Greenish Yellow, #FFDF84)	เขียวซีดอมเหลือง (Pale Yellowish Green, #F0D698)	ฟู	-
	TWA	น้อย	ขาว (white, #FFC9D7)	ขาว (white, #FFC9D7)	ฟู	-
	YES	ดีมาก	เหลืองอ่อนอมเขียว (Light Greenish Yellow, #FFDE5A)	ขาว (white, #FFC9D7)	ฟู	-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3 (ต่อ)

กลุ่มที่ (ไอโซเอต)	ชนิดอาหารเลี้ยงเชื้อ	การเจริญ	ลักษณะโคโลนี			สีของรงค-วัตถุที่ละลายน้ำ
			สีของเส้นใยอาหาร	สีของเส้นใยอากาศ	ผิวหน้าโคโลนี	
8 (AC-L10)	CMA	ดีมาก	เทา (Medium Gray, #817066)	เทาเข้ม (Dark Gray, #49423D)	ฟู	-
	PDA	ดี	เขียวขี้ม้าอมเทา (Grayish Olive Green, #48442D)	เทาอมเขียว (Greenish Gray, #7A7666)	กำมะหยี่	-
	SDA	ดี	เทาอมชมพู (Pinkish Gray, #C8A696)	เทาอมแดง (Reddish Gray, #8B6C62)	กำมะหยี่	-
	TWA	น้อย	เทาอ่อนอมเขียวขี้ม้า (Light Olive Gray, #887359)	เทาอ่อนอมเขียวขี้ม้า (Light Olive Gray, #887359)	ฟู	-
	YES	ดีมาก	เหลืองซีด (Pale Yellow, #FFDB8B)	เหลืองสด (Brilliant Yellow, #FFCF40)	กำมะหยี่	-
9 (AC-L12)	CMA	ดีมาก	เทาอมเขียว (Greenish Gray, #7A7666)	เทาอมเขียว (Greenish Gray, #7A7666)	ฟู	-
	PDA	ดีมาก	เทาเข้มอมเขียว (Dark Greenish Gray, #45433B)	เทาอมเขียว (Greenish Gray, #7A7666)	ฟู	-
	SDA	ดีมาก	เทาเข้มอมเขียว (Dark Greenish Gray, #45433B)	เทาอ่อนอมเขียว (Light Greenish Gray, #BAAF96)	ฟู	-
	TWA	น้อย	เขียวเทาอมเหลือง (Grayish Yellowish Green, #90845B)	เขียวเทาอมเหลือง (Grayish Yellowish Green, #90845B)	ฟู	-
	YES	ดีมาก	น้ำตาลอมเหลือง (Moderate Yellowish Brown, #7D512D)	เหลืองอมเทา (Grayish Yellow, #CEA262)	ฟู	-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3 (ต่อ)

กลุ่มที่ (ไอโซเลต)	ชนิดอาหารเลี้ยงเชื้อ	การเจริญ	ลักษณะโคโลนี			สีของรงคะวัตถุที่ละลายน้ำ
			สีของเส้นใยอาหาร	สีของเส้นใยอากาศ	ผิวหน้าโคโลนี	
10 (AC-L13)	CMA	ดี	ขาวอมเขียว (Greenish White, #F5E6CB)	ขาวอมเขียว (Greenish White, #F5E6CB)	กำมะหยี่	-
	PDA	ดีมาก	เทาเข้มอมเขียว (Dark Greenish Gray, #45433B)	เทาอมเขียว (Greenish Gray, #7A7666)	กำมะหยี่	-
	SDA	ดีมาก	เทาอมเขียว (Greenish Gray, #7A7666)	เทาอ่อนอมเขียว (Light Greenish Gray, #BAAF96)	กำมะหยี่	-
	TWA	น้อย	เขียวเทาอมเหลือง (Grayish Yellowish Green, #90845B)	เขียวเทาอมเหลือง (Grayish Yellowish Green, #90845B)	ฟู	-
	YES	ดีมาก	เหลืองเข้มอมเขียว (Deep Greenish Yellow, #9F8200)	เหลืองเทาอมเขียว (Grayish Greenish Yellow, #C4A55F)	กำมะหยี่	-
11 (AC-L14)	CMA	ดี	เขียวเทาอมเหลือง (Grayish Yellowish Green, #90845B)	เขียวเทาอมเหลือง (Grayish Yellowish Green, #90845B)	ฟู	-
	PDA	ปานกลาง	เขียวขี้ม้าอมเทา (Grayish Olive Green, #48442D)	เขียวขี้ม้าอมเทา (Grayish Olive Green, #48442D)	ฟู	-
	SDA	ดีมาก	ดำอมเขียว (Greenish Black, #181513)	เขียวขี้ม้าอมเทา (Grayish Olive Green, #48442D)	ผงแป้ง	-
	TWA	ปานกลาง	เขียวเทาอมเหลือง (Grayish Yellowish Green, #90845B)	เขียวเทาอมเหลือง (Grayish Yellowish Green, #90845B)	ฟู	-
	YES	ดีมาก	เทาอมเขียวขี้ม้า (Olive Gray, #4D4234)	เทาอ่อนอมเขียวขี้ม้า (Light Olive Gray, #887359)	ผงแป้ง	-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3 (ต่อ)

กลุ่มที่ (ไอโซเลต)	ชนิดอาหารเลี้ยงเชื้อ	การเจริญ	ลักษณะโคโลนี			สีของรงควัตถุที่ละลายน้ำ
			สีของเส้นใยอาหาร	สีของเส้นใยอากาศ	ผิวหน้าโคโลนี	
12 (AC-L15)	CMA	ดีมาก	ขาว (white, #FFC9D7)	ขาว (white, #FFC9D7)	ฟู	-
	PDA	ดี	เหลืองซีด (Pale Yellow, #FFDB8B)	ขาวอมเหลือง (Yellowish White, #FFE2B7)	ฟู	เหลือง
	SDA	ดี	เหลืองซีด (Pale Yellow, #FFDB8B)	ขาว (white, #FFC9D7)	ฟู	-
	TWA	น้อย	เขียวเทาอมเหลือง (Grayish Yellowish Green, #90845B)	เขียวเทาอมเหลือง (Grayish Yellowish Green, #90845B)	ฟู	-
	YES	ดี	น้ำตาลเข้มอมเหลือง (Deep Yellowish Brown, #593315)	ขาวอมเหลือง (Yellowish White, #FFE2B7)	ฟู	-
13 (AC-L16)	CMA	ดี	ขาว (white, #FFC9D7)	ขาว (white, #FFC9D7)	ฟู	-
	PDA	ดีมาก	เหลืองซีด (Pale Yellow, #FFDB8B)	ขาว (white, #FFC9D7)	ฟู	-
	SDA	ดีมาก	เหลืองซีด (Pale Yellow, #FFDB8B)	ขาว (white, #FFC9D7)	ฟู	-
	TWA	น้อย	ขาว (white, #FFC9D7)	ขาว (white, #FFC9D7)	ฟู	-
	YES	ดีมาก	เหลืองซีด (Pale Yellow, #FFDB8B)	ขาว (white, #FFC9D7)	ผงแป้ง	-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3 (ต่อ)

กลุ่มที่ (ไอโซเลต)	ชนิดอาหารเลี้ยงเชื้อ	การเจริญ	ลักษณะโคโลนี			สีของรงควัตถุที่ละลายน้ำ
			สีของเส้นใยอาหาร	สีของเส้นใยอากาศ	ผิวหน้าโคโลนี	
14 (AC-L17)	CMA	ดีมาก	เทาอ่อนอมเขียว (Light Greenish Gray, #BAAF96)	เขียวเทาอมเหลือง (Grayish Yellowish Green, #90845B)	ฟู	-
	PDA	ดีมาก	ขาวอมเหลือง (Yellowish White, #FFE2B7)	ขาว (white, #FFC9D7)	ฟู	-
	SDA	ดีมาก	เขียวซีดอมเหลือง (Pale Yellowish Green, #F0D698)	ขาว (white, #FFC9D7)	ฟู	-
	TWA	น้อย	เขียวเทาอมเหลือง (Grayish Yellowish Green, #90845B)	เขียวเทาอมเหลือง (Grayish Yellowish Green, #90845B)	ฟู	-
	YES	ดีมาก	เหลืองซีดอมเขียว (Pale Greenish Yellow, #FFDF84)	ขาวอมเหลือง (Yellowish White, #FFE2B7)	ฟู	-
15 (AC-L18)	CMA	ดีมาก	ขาว (white, #FFC9D7)	ขาวอมเขียว (Greenish White, #F5E6CB)	ฟู	-
	PDA	ดีมาก	เทาอ่อนอมเขียว (Light Greenish Gray, #BAAF96)	ขาว (white, #FFC9D7)	ฟู	-
	SDA	ดีมาก	เทาอ่อนอมเขียว (Light Greenish Gray, #BAAF96)	ขาวอมเขียว (Greenish White, #F5E6CB)	ฟู	-
	TWA	น้อย	เทาอ่อนอมเขียว (Light Greenish Gray, #BAAF96)	เทาอ่อนอมเขียว (Light Greenish Gray, #BAAF96)	ผงแป้ง	-
	YES	ดีมาก	เหลืองซีดอมเขียว (Pale Greenish Yellow, #FFDF84)	ขาว (white, #FFC9D7)	ฟู	-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3 (ต่อ)

กลุ่มที่ (ไอโซเลต)	ชนิดอาหารเลี้ยงเชื้อ	การเจริญ	ลักษณะโคโลนี			สีของรงควัตถุที่ละลายน้ำ
			สีของเส้นใยอาหาร	สีของเส้นใยอากาศ	ผิวหน้าโคโลนี	
16 (AC-L20)	CMA	ดีมาก	เขียวอมเทา (Grayish Green, #575E4E)	เขียวขี้ม้าอมเทา (Grayish Olive Green, #48442D)	ฟู	-
	PDA	ดี	เทาเข้มอมเขียว (Dark Greenish Gray, #45433B)	เหลือง (Moderate Yellow, #D79D41)	ผงแป้ง	-
	SDA	ดี	เขียวเข้ม (Dark Green, #203A27)	เทาอมเขียว (Greenish Gray, #7A7666)	ผงแป้ง	-
	TWA	น้อย	ขาว (white, #FFC9D7)	ขาว (white, #FFC9D7)	ฟู	-
	YES	ดีมาก	เหลืองอ่อน (Light Yellow, #FFD35F)	เหลืองซีด (Pale Yellow, #FFDB8B)	ฟู	-
17 (PG-L1)	CMA	ดีมาก	ขาวอมเหลือง (Yellowish White, #FFE2B7)	ขาวอมเหลือง (Yellowish White, #FFE2B7)	กำมะหยี่	-
	PDA	ดี	ขาวอมชมพู (Pinkish White, #F9DBC8)	เหลืองซีด (Pale Yellow, #FFDB8B)	ฟู	-
	SDA	ดี	ขาวอมเหลือง (Yellowish White, #FFE2B7)	เหลืองซีด (Pale Yellow, #FFDB8B)	กำมะหยี่	-
	TWA	น้อย	ขาว (white, #FFC9D7)	ขาว (white, #FFC9D7)	ฟู	-
	YES	ดี	ขาวอมเหลือง (Yellowish White, #FFE2B7)	น้ำตาลอ่อนอมเขียวขี้ม้า (Light Olive Brown, #945D0B)	ฟู	-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3 (ต่อ)

กลุ่มที่ (ไอโซเลต)	ชนิดอาหารเลี้ยงเชื้อ	การเจริญ	ลักษณะโคโลนี			สีของรงค-วัตถุที่ละลายน้ำ
			สีของเส้นใยอาหาร	สีของเส้นใยอากาศ	ผิวหน้าโคโลนี	
18 (PG-LV2)	CMA	ดีมาก	เหลืองซีด (Pale Yellow, #FFDB8B)	ขาวอมเขียว (Greenish White, #F5E6CB)	ฟู	-
	PDA	ดีมาก	เหลืองซีดอมเขียว (Pale Greenish Yellow, #FFDF84)	ขาวอมเหลือง (Yellowish White, #FFE2B7)	ผงแป้ง	-
	SDA	ดีมาก	เหลืองซีดอมเขียว (Pale Greenish Yellow, #FFDF84)	ขาวอมเหลือง (Yellowish White, #FFE2B7)	ผงแป้ง	-
	TWA	น้อย	ขาว (white, #FFC9D7)	ขาว (white, #FFC9D7)	ฟู	-
	YES	ดีมาก	เหลืองอ่อน (Light Yellow, #FFD35F)	ขาวอมเหลือง (Yellowish White, #FFE2B7)	ผงแป้ง	-
19 (PG-LV7)	CMA	ดีมาก	เทาอ่อน (Light Gray, #C2A894)	เทา (Medium Gray, #817066)	ผงแป้ง	-
	PDA	ดี	เขียวเทาอมเหลือง (Grayish Yellowish Green, #90845B)	เหลืองเทาอมเขียว (Grayish Greenish Yellow, #C4A55F)	ผงแป้ง	-
	SDA	ดี	เขียวซีด (Pale Green, #8D917A)	เขียวเทาอมเหลือง (Grayish Yellowish Green, #90845B)	ผงแป้ง	-
	TWA	น้อย	ขาว (white, #FFC9D7)	ขาว (white, #FFC9D7)	ฟู	-
	YES	ดี	เหลืองซีด (Pale Yellow, #FFDB8B)	เหลืองซีดอมเขียว (Pale Greenish Yellow, #FFDF84)	ผงแป้ง	-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3 (ต่อ)

กลุ่มที่ (ไอโซเลต)	ชนิดอาหารเลี้ยงเชื้อ	การเจริญ	ลักษณะโคโลนี			สีของรงค-วัตถุที่ละลายน้ำ
			สีของเส้นใยอาหาร	สีของเส้นใยอากาศ	ผิวหน้าโคโลนี	
20 (PG-LV8)	CMA	ดีมาก	เขียวเทาอมเหลือง (Grayish Yellowish Green, #90845B)	เทาอ่อน (Light Gray, #C2A894)	ผงแป้ง	-
	PDA	ดี	เขียวเทาอมเหลือง (Grayish Yellowish Green, #90845B)	เขียวขี้ม้าอ่อนอมเทา (Light Grayish Olive, #8B734B)	ผงแป้ง	-
	SDA	ดีมาก	เขียวซีดอมเหลือง (Pale Yellowish Green, #F0D698)	เหลืองอ่อน (Light Yellow, #FFD35F)	ผงแป้ง	-
	TWA	น้อย	เขียวเทาอมเหลือง (Grayish Yellowish Green, #90845B)	เขียวเทาอมเหลือง (Grayish Yellowish Green, #90845B)	ผงแป้ง	-
	YES	ดี	เขียวซีดอมเหลือง (Pale Yellowish Green, #F0D698)	น้ำตาลอ่อนอมเขียวขี้ม้า (Light Olive Brown, #945D0B)	ผงแป้ง	-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4.2 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบโดยเชื้อราเอนโดไฟท์

หลังจากที่ทำการเลี้ยงเชื้อราตัวแทนกลุ่มบนอาหารชนิดต่างๆ เป็นเวลา 14 วันแล้ว จึงนำมาทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพกับเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบโดยวิธี Dual-Culture Agar Diffusion Assay และทำการตรวจวัดบริเวณใสรอบชิ้นวุ้น (inhibition zone) พบว่ามีเชื้อราตัวแทนกลุ่มที่สามารถยับยั้งเชื้อ *B. subtilis* ATCC 6633 ได้ 12 ไอโซเลต ยับยั้ง *C. albicans* ATCC 10231 ได้ 2 ไอโซเลต ยับยั้ง *E. coli* ATCC 25922 ได้ 7 ไอโซเลต ยับยั้ง *M. luteus* ATCC 9341 ได้ 10 ไอโซเลต และมีฤทธิ์ในการยับยั้ง *S. aureus* ATCC 25923 จำนวน 5 ไอโซเลต แต่ไม่มีเชื้อราเอนโดไฟท์ตัวแทนกลุ่มใดๆ ที่สามารถยับยั้งเชื้อ *P. aeruginosa* ATCC 27853 ได้ และมีเชื้อราเอนโดไฟท์ตัวแทนกลุ่มที่ 13 16 19 และ 20 ที่ไม่สามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบชนิดใดได้ ไม่ว่าจะทำการเลี้ยงเชื้อบนอาหารชนิดใดก็ตาม (แสดงรูปในภาคผนวก ข)

เชื้อราเอนโดไฟท์กลุ่มที่ 7 8 9 12 15 และ 17 มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *B. subtilis* ATCC 6633 ได้ดีกว่ายาปฏิชีวนะ Tetracycline ความเข้มข้น 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิตร (ชุดควบคุมเชิงบวก) เมื่อเลี้ยงเชื้อราเอนโดไฟท์ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ YES ส่วนเชื้อราเอนโดไฟท์กลุ่มที่ 7 9 10 12 และ 17 มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *E. coli* ATCC 25922 ได้ดีกว่ายาปฏิชีวนะ Amoxicillin ความเข้มข้น 25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (ชุดควบคุมเชิงบวก) เมื่อเลี้ยงเชื้อราเอนโดไฟท์ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ YES เช่นกัน และพบว่าเชื้อราตัวแทนกลุ่มที่ 8 และ 11 มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *C. albicans* ATCC 10231 ได้ เมื่อเลี้ยงบนอาหาร SDA และ PDA ตามลำดับ ในขณะที่ยาปฏิชีวนะ Amphotericin B (ชุดควบคุมเชิงบวก) ไม่สามารถยับยั้งได้ ขนาดบริเวณใสรอบชิ้นวุ้นที่เกิดขึ้นแสดงไว้ดังตารางที่ 4.4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4 ฤทธิ์การยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบของเชื้อราเอนโดไฟท์

กลุ่ม (ไอโซเลต)	ชนิดอาหาร / จุลินทรีย์ทดสอบ	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของขอบเขตการยับยั้ง (มิลลิเมตร)					
		CMA	PDA	SDA	TWA	YES	Control
1 (AC-L4)	*B. subtilis*	-	12^{STA}	13^{STA}	-	15^{STA}	15
	C. albicans	-	-	-	-	-	-
	E. coli	-	-	13^{STA}	-	-	15
	M. luteus	-	-	-	-	14	45
	P. aeruginosa	-	-	-	-	-	15
	S. aureus	-	-	-	-	-	40
2 (AC-L11)	*B. subtilis*	-	-	-	-	-	15
	C. albicans	-	-	-	-	-	-
	E. coli	-	-	-	-	-	12
	M. luteus	-	-	-	11	-	52
	P. aeruginosa	-	-	-	-	-	14
	S. aureus	-	-	-	-	-	23
3 (AC-L19)	*B. subtilis*	-	-	-	-	-	14
	C. albicans	-	-	-	-	-	-
	E. coli	-	-	-	-	-	12
	M. luteus	-	-	-	11.5	-	55
	P. aeruginosa	-	-	-	-	-	13
	S. aureus	-	-	-	-	-	42
4 (PG-LV6)	*B. subtilis*	-	11	-	-	12	15
	C. albicans	-	-	-	-	-	-
	E. coli	-	-	-	-	-	12
	M. luteus	12	15	13	12	18	50
	P. aeruginosa	-	-	-	-	-	13
	S. aureus	-	12	12	-	13	42

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4 (ต่อ)

กลุ่ม (ไอโซเลต)	ชนิดอาหาร / จุลินทรีย์ทดสอบ	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของขอบเขตการยับยั้ง (มิลลิเมตร)					
		CMA	PDA	SDA	TWA	YES	Control
5 (CF-LM4)	*B. subtilis*	-	-	-	-	-	13
	C. albicans	-	-	-	-	-	-
	E. coli	-	-	-	-	-	13
	M. luteus	-	-	-	12	-	52
	P. aeruginosa	-	-	-	-	-	14
	S. aureus	-	-	-	-	-	40
6 (PG-L13)	*B. subtilis*	-	-	-	-	19^{STA}	15
	C. albicans	-	-	-	-	-	-
	E. coli	-	-	-	-	-	15
	M. luteus	-	-	-	-	-	50
	P. aeruginosa	-	-	-	-	-	15
	S. aureus	-	-	-	-	-	40
7 (AC-L7)	*B. subtilis*	-	-	-	-	18^{STA}	15
	C. albicans	-	-	-	-	-	-
	E. coli	-	-	-	-	19^{STA}	12
	M. luteus	-	-	-	-	-	54
	P. aeruginosa	-	-	-	-	-	14
	S. aureus	-	-	-	11	-	40
8 (AC-L10)	*B. subtilis*	-	-	13	-	23^{STA}	15
	C. albicans	-	-	15	-	-	-
	E. coli	-	-	-	-	22^{STA}	15
	M. luteus	-	-	18	-	-	50
	P. aeruginosa	-	-	-	-	-	13
	S. aureus	-	-	13	-	-	40

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4 (ต่อ)

กลุ่ม (ไอโซเลต)	ชนิดอาหาร / จุลินทรีย์ทดสอบ	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของขอบเขตการยับยั้ง (มิลลิเมตร)					
		CMA	PDA	SDA	TWA	YES	Control
9 (AC-L12)	*B. subtilis*	-	-	-	-	18 STA	15
	C. albicans	-	-	-	-	-	-
	E. coli	-	-	-	-	17 STA	13
	M. luteus	-	-	-	-	-	55
	P. aeruginosa	-	-	-	-	-	14
	S. aureus	-	-	-	-	-	33
10 (AC-L13)	*B. subtilis*	-	-	-	-	13 STA	15
	C. albicans	-	-	-	-	-	-
	E. coli	-	-	14 STA	-	22 STA	14
	M. luteus	-	-	-	-	17	50
	P. aeruginosa	-	-	-	-	-	13
	S. aureus	-	-	-	-	12	16
11 (AC-L14)	*B. subtilis*	-	12	-	-	-	15
	C. albicans	-	18	-	-	-	-
	E. coli	-	-	-	-	-	13
	M. luteus	-	15	13	-	14 STA	50
	P. aeruginosa	-	-	-	-	-	13
	S. aureus	-	13	-	-	-	37
12 (AC-L15)	*B. subtilis*	-	-	-	-	17 STA	15
	C. albicans	-	-	-	-	-	-
	E. coli	-	-	-	-	17 STA	15
	M. luteus	-	-	-	-	-	56
	P. aeruginosa	-	-	-	-	-	15
	S. aureus	-	-	-	-	-	45

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4 (ต่อ)

กลุ่ม (ไอโซเลต)	ชนิดอาหาร / จุลินทรีย์ที่ทดสอบ	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของขอบเขตการยับยั้ง (มิลลิเมตร)					
		CMA	PDA	SDA	TWA	YES	Control
13 (AC-L16)	*B. subtilis*	-	-	-	-	-	13
	C. albicans	-	-	-	-	-	-
	E. coli	-	-	-	-	-	14
	M. luteus	-	-	-	-	-	50
	P. aeruginosa	-	-	-	-	-	13
	S. aureus	-	-	-	-	-	36
14 (AC-L17)	*B. subtilis*	-	-	-	-	14 STA	16
	C. albicans	-	-	-	-	-	-
	E. coli	-	-	-	-	-	14
	M. luteus	-	-	-	-	-	50
	P. aeruginosa	-	-	-	-	-	14
	S. aureus	-	-	-	-	-	37
15 (AC-L18)	*B. subtilis*	-	-	-	-	18 STA	15
	C. albicans	-	-	-	-	-	-
	E. coli	-	-	-	-	-	16
	M. luteus	-	-	-	-	-	45
	P. aeruginosa	-	-	-	-	-	15
	S. aureus	-	-	-	-	-	40
16 (AC-L20)	*B. subtilis*	-	-	-	-	-	15
	C. albicans	-	-	-	-	-	-
	E. coli	-	-	-	-	-	16
	M. luteus	-	-	-	-	-	45
	P. aeruginosa	-	-	-	-	-	15
	S. aureus	-	-	-	-	-	40

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4 (ต่อ)

กลุ่ม (ไอโซเลต)	ชนิดอาหาร / จุลินทรีย์ทดสอบ	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของขอบเขตการยับยั้ง (มิลลิเมตร)					
		CMA	PDA	SDA	TWA	YES	Control
17 (PG-L1)	*B. subtilis*	-	-	13 STA	-	21 STA	14
	C. albicans	-	-	-	-	-	-
	E. coli	-	-	-	-	23 STA	13
	M. luteus	-	13 STA	13 STA	-	-	50
	P. aeruginosa	-	-	-	-	-	13
	S. aureus	-	12	-	-	12 STA	40
18 (PG-LV2)	*B. subtilis*	-	-	-	-	-	15
	C. albicans	-	-	-	-	-	-
	E. coli	-	-	-	-	-	14
	M. luteus	-	12	15	-	-	50
	P. aeruginosa	-	-	-	-	-	14
	S. aureus	-	-	-	-	-	38
19 (PG-LV7)	*B. subtilis*	-	-	-	-	-	14
	C. albicans	-	-	-	-	-	-
	E. coli	-	-	-	-	-	12
	M. luteus	-	-	-	-	-	50
	P. aeruginosa	-	-	-	-	-	15
	S. aureus	-	-	-	-	-	40
20 (PG-LV8)	*B. subtilis*	-	-	-	-	-	15
	C. albicans	-	-	-	-	-	-
	E. coli	-	-	-	-	-	14
	M. luteus	-	-	-	-	-	50
	P. aeruginosa	-	-	-	-	-	14
	S. aureus	-	-	-	-	-	39

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

<u>หมายเหตุ</u>

- **STA** = Static หมายถึง บริเวณยับยั้งที่ไม่เป็นวงใส ซึ่งเกิดจากฤทธิ์ยับยั้งทางชีวภาพของสารทุติยภูมิในชิ้นวุ้นจากเชื้อราแอนโดไฟท์ ทำให้มีการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบในบริเวณดังกล่าวน้อยกว่าบริเวณรอบนอก
- **Control** หมายถึง ชุดควบคุมเชิงบวกที่ใช้ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ มีดังนี้

- *B. subtilis* ATCC 6633	ใช้ยาปฏิชีวนะ Tetracycline	ความเข้มข้น 50 µg/ml
- *C. albicans* ATCC 10231	ใช้ยาปฏิชีวนะ Amphotericin B	ความเข้มข้น 50 µg/ml
- *E. coli* ATCC 25922	ใช้ยาปฏิชีวนะ Amoxicillin	ความเข้มข้น 25 µg/ml
- *M .luteus* ATCC 9341	ใช้ยาปฏิชีวนะ Penicillin G	ความเข้มข้น 50 µg/ml
- *P. aeruginosa* ATCC 27853	ใช้ยาปฏิชีวนะ Gentamicin	ความเข้มข้น 25 µg/ml
- *S. aureus* ATCC 25923	ใช้ยาปฏิชีวนะ Penicillin G	ความเข้มข้น 50 µg/ml

ในการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ พบว่ายาปฏิชีวนะ Amphotericin B ความเข้มข้น 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (ชุดควบคุมเชิงบวก) ไม่สามารถยับยั้งเชื้อ *C. albicans* ATCC 10231 ได้ แม้ว่าจะเพิ่มความเข้มข้นของยาปฏิชีวนะ Amphotericin B หรือเปลี่ยนไปใช้ยาปฏิชีวนะ Nystatin ความเข้มข้น 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร แทนก็ตาม (ดังรูปที่ ข.21 ภาคผนวก ข) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากมีการต่อเชื้อเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบมาหลายรุ่น ทำให้เชื้อมีโอกาสเกิดการกลายพันธุ์ และสามารถต้านทานต่อยาปฏิชีวนะ Amphotericin B และ Nystatin ซึ่งเป็นยาในกลุ่มที่มีกลไกการออกฤทธิ์ต่อเชื้อจุลินทรีย์เหมือนกันได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการทดลอง

จากการทดลองสามารถแยกเชื้อราเอนโดไฟท์จากใบของพืชสมุนไพร 5 ชนิด ได้รวมทั้งสิ้น 46 ไอโซเลต แบ่งออกเป็นเชื้อราเอนโดไฟท์จากใบของต้นไฟเดือนห้า 20 ไอโซเลต ต้อยติ่ง 4 ไอโซเลต ฝรั่ง 15 ไอโซเลต ทองหลาง 3 ไอโซเลต และราชพฤกษ์ 4 ไอโซเลต เมื่อศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อราเอนโดไฟท์บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ซึ่งบ่มไว้ในที่มืด ณ อุณหภูมิห้อง พบว่าส่วนมากเป็นเชื้อราที่มีเส้นใยแบบมีผนังกั้น ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ ยกเว้นไอโซเลต AC-L15 ซึ่งสามารถสร้างรงควัตถุสีเหลืองละลายน้ำได้ และมีเพียง 6 ไอโซเลตที่สามารถสร้างสปอร์ได้ คือ AC-L10 AC-L14 AC-L17 AC-L18 AC-L20 และ PG-L1 เชื้อราเอนโดไฟท์ทั้ง 46 ไอโซเลตนี้เมื่อพิจารณาจากผนังกั้นภายในเส้นใย การสร้างสปอร์ สีของรงควัตถุที่ละลายน้ำ ลักษณะผิวหน้าโคโลนีในระยะอ่อนและระยะเต็มวัย และสีของเส้นใยอากาศ สามารถนำมาจัดกลุ่มเชื้อราได้ทั้งสิ้น 20 กลุ่ม และคัดเลือกเชื้อตัวแทนมากลุ่มละ 1 ไอโซเลต มาเลี้ยงบนอาหาร CMA PDA SDA TWA และ YES พบว่าส่วนมากเชื้อราเอนโดไฟท์สามารถเจริญบนอาหาร YES ได้ดีที่สุด รองลงมาคือ CMA SDA PDA และ TWA ตามลำดับ เมื่อนำเชื้อตัวแทนกลุ่มที่เลี้ยงบนอาหารชนิดต่างๆ มาทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบด้วยวิธี Dual - Culture Agar Diffusion Assay โดยใช้เชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ 6 ชนิด ได้แก่ *Escherichia coli* ATCC 25922 *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 *Bacillus subtilis* ATCC 6633 *Micrococcus luteus* ATCC 9341 *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 และ *Candida albicans* ATCC 10231 พบว่ามีเชื้อราเอนโดไฟท์ 16 กลุ่มที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบได้ โดยชนิดของอาหารที่เหมาะสมต่อการสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพมากที่สุด คือ YES รองลงมาคือ SDA PDA TWA และ CMA ตามลำดับ ซึ่งสามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบชนิดแบคทีเรียแกรมบวกได้ดีที่สุด รองลงมาคือแบคทีเรียแกรมลบและยีสต์ ตามลำดับ และจากการทดลองพบว่าเชื้อราเอนโดไฟท์ไอโซเลต AC-L10 มีความน่าสนใจที่สุด เนื่องจากมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบได้ทุกชนิด ยกเว้น *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ซึ่งเป็นเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบที่ไม่มีเชื้อราเอนโดไฟท์ไอโซเลตใดสามารถยับยั้งการเจริญได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข้อเสนอแนะ

ในการทดลองนี้สามารถแยกเชื้อราแอนโดไฟท์ที่มีความสามารถในการสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพได้หลายไอโซเลต ซึ่งเชื้อราเหล่านี้นับเป็นทรัพยากรทางชีวภาพที่สำคัญ จึงเป็นแนวทางไปสู่การศึกษาวิจัยที่กว้างขวางและลึกซึ้งมากขึ้น เพื่อนำมาใช้ประโยชน์ในทางวิทยาศาสตร์สาธารณะสุขต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

กมลพร เดชพงษ์, สุตราพร เผือกสูงเนิน, และ จีรพันธ์ วรพงษ์. 2550. การตรวจแยกเชื้อราเอนโดไฟท์จากพืชสมุนไพรพื้นบ้านในป่าเขตร้อนชื้นในประเทศไทยเพื่อนำไปใช้ในทางชีววิธีควบคุมเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคกับพืชเศรษฐกิจในดิน. มหาวิทยาลัยมหิดล. [Online].Available : http://www.irpus.org/project_file/2547_2006-08-23_R10034-47.pdf

กัญญา ปรีชาศุทธิ์, ขจรศักดิ์ ตระกูลพัว และ บงกชวรรณ สุตะพาหะ. 2547. เชื้อราที่สำคัญทางการแพทย์. เชียงใหม่ : ภาควิชาจุลชีววิทยาคลินิก คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

จักรพงษ์ มะนะโส และ จีรพันธ์ วรพงษ์. 2550. การจำแนกและศึกษาคุณสมบัติของเอนไซม์ไฟเทสที่ทนอุณหภูมิสูงจากเชื้อเอนโดไฟท์. สถาบันวิจัยและพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหิดล. [Online].Available : http://www.irpus.org/project_reward_search.php?project_year=&sa.x=1&sa..

ชนินทร ดวงสอาด. 2545. การควบคุมโรคถอดฝักดาบของข้าวที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium moniliforme* Sheldon โดยเชื้อราเอนโดไฟต์ในข้าว. ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาโรคพืช. [Online].Available : http://dcms.thailis.or.th/dcms/browse.php?option=show&browse_type=title&titleid=46310

นคร หน่อแก้ว. 2548. เอ็นโดไฟต์ Endophytes จุลินทรีย์ที่น่าสนใจ. *วารสารวิชาการ มหาวิทยาลัยราชภัฏอุตรดิตถ์*. ปีที่ 1 (ฉบับที่ 1) : 52-55

นิรนาม ก. 2550. การตรวจกรองหาสารมีฤทธิ์ทางชีวภาพของราเอนโดไฟท์ในพืชสมุนไพรไทย. ฝ่ายสนับสนุนการวิจัย พัฒนาและวิศวกรรม, ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ. [Online].Available : http://rde.biotec.or.th/rdedocs/Proposal/383PP/AbstractTh.doc

นิรนาม ข. 2550. การฟอกฆ่าเชื้อจุลินทรีย์. กลุ่มงานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ส่วนพัฒนาการเพาะเลี้ยงและจัดการพันธุ์พืช กรมส่งเสริมการเกษตร. [Online].Available : http://agriqua.doae.go.th/TISSUE%20WEB/tissue-7.html

นิรนาม ค. 2550. วิธีเก็บสมุนไพรส่วนที่ใช้เป็นยา. [Online].Avilable : http://www.samunpai.com/samunpai

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นิรนาม ง. 2550. ทองหลางน้ำ. [Online].Avilable : http://www.samunpai.com/samunpai/show.php?cat=1&id=69

นิรนาม จ. 2550. ฝรั่ง. สถาบันการแพทย์แผนไทย. [Online].Avilable : http://ittm.dtam.moph.go.th/Service/herb_data/herb_ssm29.htm

นิรนาม ฉ. 2548. ไม้ดีมีประโยชน์ "ไฟเดือนห้า". [Online].Avilable : http://komchadluek.net/news/2005/06-07/farm1-17600909.html

นิรนาม ช. 2550. ราชพฤกษ์. โครงการปลูกต้นราชพฤกษ์เฉลิมพระเกียรติเนื่องในมหามงคลสมัยพระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัวจะทรงมีพระชนมพรรษาครบ 80 พรรษา ในปี 2550. [Online].Avilable : http://www.dnp.go.th/Golden_Shower/index.htm

นิรนาม ซ. 2550. ราชพฤกษ์. วิกิพีเดีย สารานุกรมเสรี. [Online].Avilable : http://th.wikipedia.org/wiki/%E0%B8%A3%E0%B8%B2%E0%B8%8A%E0%B8%9E%E0%B8%A4%E0%B8%81%E0%B8%A9%E0%B9%8C

นิรนาม ฌ. 2550. *Pseudomonas aeruginosa*. [Online].Available : http://www.bloggang.com/viewblog.php?id=narusaru&group=5

นิรนาม ญ. 2550. รายละเอียดของทองหลาง. ฐานข้อมูลองค์ความรู้สมุนไพรไทย. [Online].Available : http://dit.dru.ac.th/herb/

พรรณกร อิ่มวิทยา. 2538. เชื้อราก่อโรคในคน. พิมพ์ครั้งที่ 2 ปรับปรุง. กรุงเทพฯ : โรงพิมพ์สามัคคีสาร.

พวงเพชร พูนพรัพย์. 2541. Biotech กับสารหอมระเหย, *R&D Newsletter* ปีที่ 5 (ฉบับที่ 2). [Online].Available : http://www.gpo.or.th/rdi/html/jon.html

ไพโรจน์ พวงสุวรรณ. 2517. การแยกราสาเหตุของโรคพืช. บทปฏิบัติการโรคพืชเบื้องต้น. ภาควิชาชีววิทยาป่าไม้ คณะวนศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. [Online].Available : http://cyberlab.lh1.ku.ac.th/elearn/faculty/forest/fo27/web/lab3.htm

ไพร มัทธวรัตน์. 2548. พันธุ์ไม้สมุนไพร. งานเรือนปลูกพืชทดลอง, ฝ่ายปฏิบัติการวิจัยและเรือนปลูกพืชทดลอง, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน, นครปฐม. [Online].Avilable : http://clgc.rdi.ku.ac.th/resource/herb/waterkanon/ruellia.html

รอฮายา แยนา. 2550. ฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ของสารสกัดจากพืชสกุล *Cassia sp.* สถาบันราชภัฏยะลา. [Online].Available : http://yalor.yru.ac.th/~dolah/notes/4902-1-48G12/RESPPSAL/Pm_404652017.doc

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รัชนี สวัสดิ์ชูพงศ์. 2544. ฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ของราเอนโดไฟท์ที่แยกจากพืชสมุนไพรไทย. ปริญญาเภสัชศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาจุลชีววิทยา ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

เลขา มาโนช, กัญญา เจริญไทย, คนึงนิจ บุศราคำ, พรพิมล อธิปัญญาคม, อภิรัชต์ สมฤทธิ์ และ อรอุมา เจียมจิตต์. 2550. เชื้อราโรคพืช รา endophyte และราดินในประเทศไทย. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. [Online].Available : http://kucon.lib.ku.ac.th/FullText/KC3901068.pdf

วรวิทย์ วงศ์กิระปราชญ์, สิรินทิพย์ บุดดา และ อินทนนท์ หิรัญคำ. 2549. ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ต้านแบคทีเรียจากสารสกัดหยาบของไม้ไทย. โครงงานพิเศษวิทยาศาสตรบัณฑิต ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์, คณะวิทยาศาสตร์, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

วีณา จิรัจฉริยากูล. 2550. ผู้หญิงกับสมุนไพร. [Online].Avilable : http://province.moph.go.th/nakhonratchasima/Thai_Med/Lady.htm

สมบูรณ์ ธนาศุภวัฒน์. 2544. เทคนิคการเก็บรักษาจุลินทรีย์. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

สำนักงานเกษตรอำเภอภูเรือ. 2550. พืชสมุนไพร. [Online].Avilable : http://loei.doae.go.th/phuruea/hone/hone24.doc

อรอนงค์ รัชตราเชนชัย. 2550. "*Escherichia coli* O157:H7" ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับโรคติดเชื้อและพาหะนำโรค. ศูนย์ข้อมูลโรคติดเชื้อและพาหะนำโรค. [Online].Avilable : http://webdb.dmsc.moph.go.th/ifc_nih/a_nih_1_001c.asp?info_id=1079

Barrow, J.R., Havstad, K.M. and McClslin, B.D. 1997. Fungal root endophytes in fourwing saltbush, *Altriplex canescens*, on arid vangelands of southwestern USA. *Arid Soil Research and Rehabilitation* 11 : 177-185.

Bayman, P., Angulo, S.P., Baez, O.Z. and Lodge, D.J. 1998. Distribution and dispersal of Xylaria endophytes in two tree species in Puerto Rico. *Mycological Research* 102 : 944-948.

Bettucci, L. and Saravay, M. 1993. Endophytic fungi of *Eucalyptus globulus* : a preliminary study. *Mycological Research* 67 : 679-682

David A. Mundie. 1995. The NBS/ISCC Color System. [Online].Available : http://www.anthus.com/Colors/NBS.html

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Fisher, P.J., Anson, A.E. and Petrini, O. 1986. Fungal endophytes in *Ulex europaceus* and *Ulex gallii*. *Transcations of the Brithish Mycological Society* 86: 153-193.

Lalitha. 2007. Manual on Antimicrobial Susceptibility Testing. Department of Microbiology, Christian Medical College : 43-44. [Online].Available : http://www.ijmm.org/documents/Antimicrobial.doc

Lumyong, S., Pongsomboon, S. and Niamsub, P. 1996. Preliminary study of endophytic fungi of indigenous plants in Chiangmai. Biotechnology for Sustainable Utilization of Biological Resources in the Tropics. International Center for Biotechnology, Osaka University, Osaka, Japan. 11 : 259-263.

National Food Institute Thailand. 2547. *Staphylococcus aureus* ภัยในอาหาร. สถาบันอาหาร. [Online].Available : http://www.gogi-foods.com/index.php?lay=show&ac=article&Id=168665&Ntype=4

Okane, I., Nakagiri, A. and Ito, T. 2001. Assemblages of endophytic fungi on *Bruguiera gymnorrhiza* in the Shiira river basin, Iriomote Is. The Institute for Fermentation, Osaka Research Communications 20 : 41-49.

Pelaez, F. 1998. Endophytic fungi from plants living on gypsum soils as a source of secondary metabolites with antimicrobial activity. *Mycological Research* 102 : 755-761.

Petrini, O., Petrini, L.E. and Rodrigues. K.F. 1995. Xylariaceous endophytes: an exercise in biodiversity. *Phytopathology* 20 : 513-539.

Rodrigues, K.F. 1994. The foliar fungal endophytes of the Amazonian palm *Euterpe pleracea*. *Mycologia* 86 : 376-385.

Sieber, T.N. 1989. Endophytic fungi in twings of healthy and diseased Norway spruce and white fir. *Mycological Research* 92 : 322-326.

Sieber, T.N., Sieber-Canavesi, F. and Dorworth, C.E. 1991. Endophytic fungi of red alder (*Alnus rubra*) leaves and twings in Britain Columbia. *Canadian Journal of Botany* 69 : 407-411.

Sinclair, J.B. 1991. Latent infection of soybean plants and seed by fungi. *Plant Disease* 75 : 220-224.

Spurr, J.H.W. and Welty, G.W. 1975. Characterization on endophytic fungi in healthy leaves of *Nicotiana* spp. *Phytopathology* 65 : 417-422.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

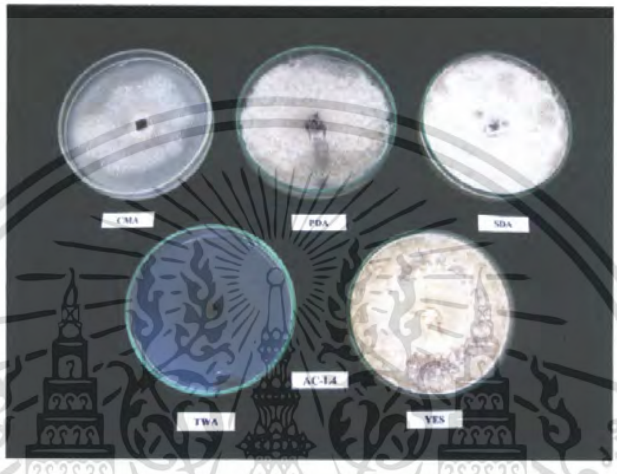
Wattana Panphut. 2001. Bioactive Compounds from Endophytic Fungi of Thai Medicinal Plants. The Degree of Master of Science (Microbiology), Faculty of Graduate Studies, Mahidol University.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

ลักษณะโคโลนีของเชื้อราเอนโดไฟท์ที่เป็นตัวแทนกลุ่มบนอาหารเลี้ยงเชื้อ 5 ชนิด

- ตัวแทนกลุ่มที่ 1 (AC-L4)



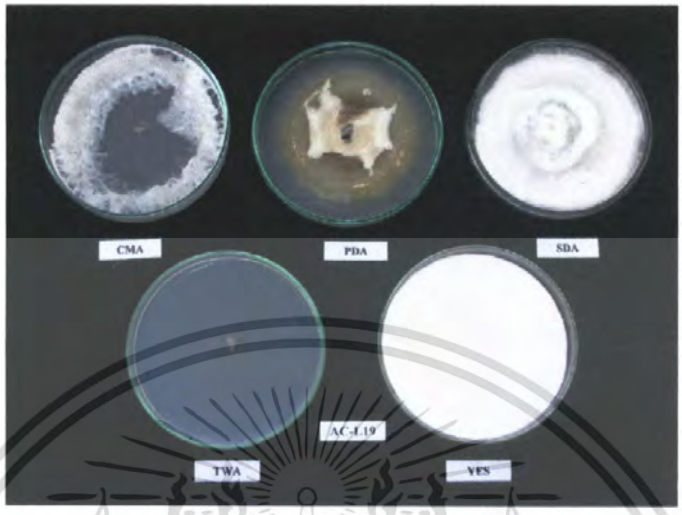
รูปที่ ก.1 ลักษณะโคโลนีของเชื้อราเอนโดไฟท์ไอโซเลต AC-L4 บนอาหารเลี้ยงเชื้อทั้ง 5 ชนิด (CMA PDA SDA TWA และ YES) หลังจากบ่มในที่มืด ณ อุณหภูมิห้อง นาน 14 วัน

- ตัวแทนกลุ่มที่ 2 (AC-L11)

รูปที่ ก.2 ลักษณะโคโลนีของเชื้อราเอนโดไฟท์ไอโซเลต AC-L11 บนอาหารเลี้ยงเชื้อทั้ง 5 ชนิด (CMA PDA SDA TWA และ YES) หลังจากบ่มในที่มืด ณ อุณหภูมิห้อง นาน 14 วัน

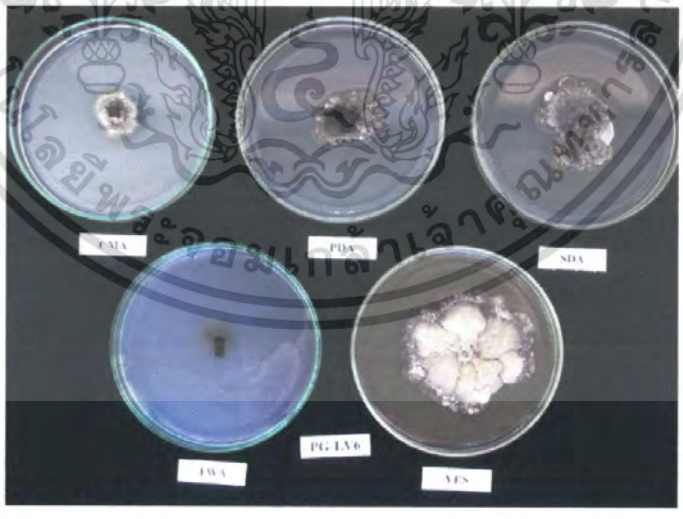
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- ตัวแทนกลุ่มที่ 3 (AC-L19)



รูปที่ ก.3 ลักษณะโคโลนีของเชื้อราเอนโดไฟท์ไอโซเลต AC-L19 บนอาหารเลี้ยงเชื้อทั้ง 5 ชนิด (CMA PDA SDA TWA และ YES) หลังจากบ่มในที่มืด ณ อุณหภูมิห้อง นาน 14 วัน

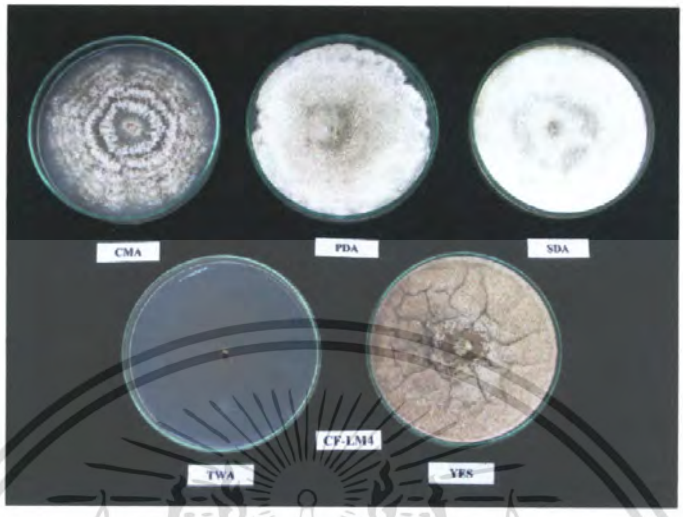
- ตัวแทนกลุ่มที่ 4 (PG-LV6)



รูปที่ ก.4 ลักษณะโคโลนีของเชื้อราเอนโดไฟท์ไอโซเลต PG-LV6 บนอาหารเลี้ยงเชื้อทั้ง 5 ชนิด (CMA PDA SDA TWA และ YES) หลังจากบ่มในที่มืด ณ อุณหภูมิห้อง นาน 14 วัน

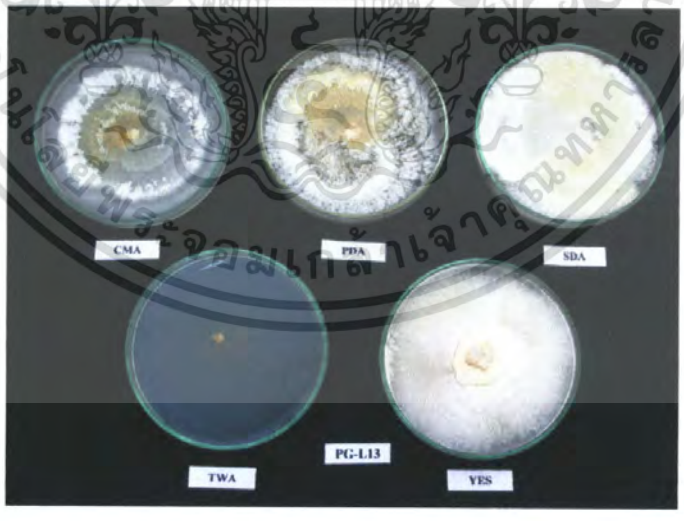
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- ตัวแทนกลุ่มที่ 5 (CF-LM4)



รูปที่ ก.5 ลักษณะโคโลนีของเชื้อราเอนโดไฟท์ไอโซเลต CF-LM4 บนอาหารเลี้ยงเชื้อทั้ง 5 ชนิด (CMA PDA SDA TWA และ YES) หลังจากบ่มในที่มืด ณ อุณหภูมิห้อง นาน 14 วัน

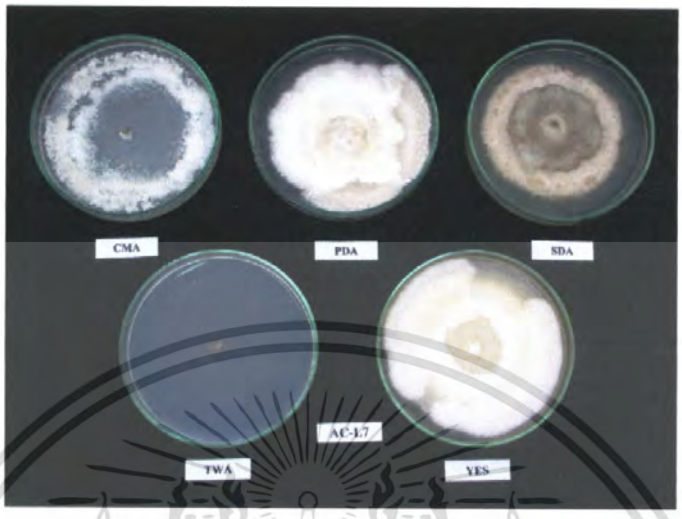
- ตัวแทนกลุ่มที่ 6 (PG-L13)



รูปที่ ก.6 ลักษณะโคโลนีของเชื้อราเอนโดไฟท์ไอโซเลต PG-L13 บนอาหารเลี้ยงเชื้อทั้ง 5 ชนิด (CMA PDA SDA TWA และ YES) หลังจากบ่มในที่มืด ณ อุณหภูมิห้อง นาน 14 วัน

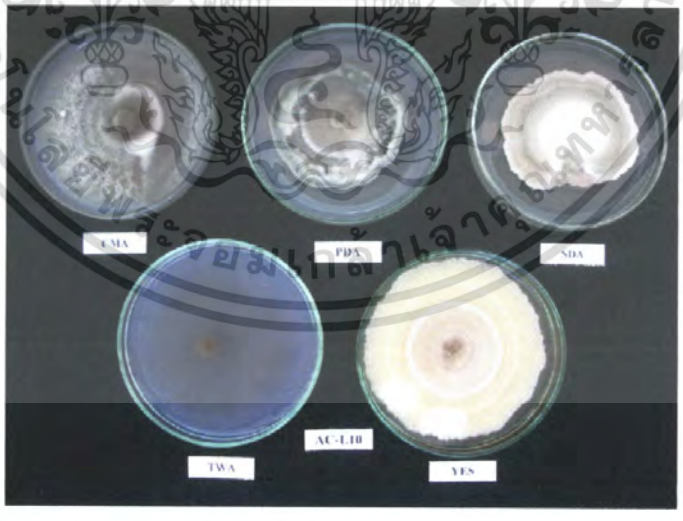
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- ตัวแทนกลุ่มที่ 7 (AC-L7)



รูปที่ ก.7 ลักษณะโคโลนีของเชื้อราเอนโดไฟท์ไอโซเลต AC-L7 บนอาหารเลี้ยงเชื้อทั้ง 5 ชนิด (CMA PDA SDA TWA และ YES) หลังจากบ่มในที่มืด ณ อุณหภูมิห้อง นาน 14 วัน

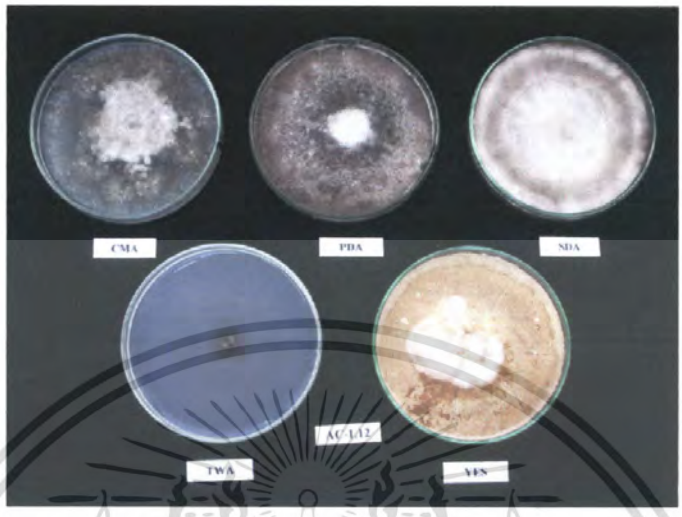
- ตัวแทนกลุ่มที่ 8 (AC-L10)



รูปที่ ก.8 ลักษณะโคโลนีของเชื้อราเอนโดไฟท์ไอโซเลต AC-L10 บนอาหารเลี้ยงเชื้อทั้ง 5 ชนิด (CMA PDA SDA TWA และ YES) หลังจากบ่มในที่มืด ณ อุณหภูมิห้อง นาน 14 วัน

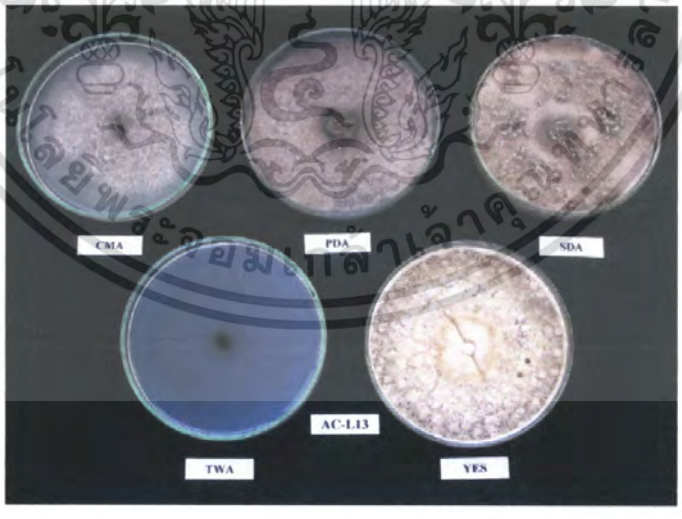
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- ตัวแทนกลุ่มที่ 9 (AC-L12)



รูปที่ ก.9 ลักษณะโคโลนีของเชื้อราเอนโดไฟท์ไอโซเลต AC-L12 บนอาหารเลี้ยงเชื้อทั้ง 5 ชนิด (CMA PDA SDA TWA และ YES) หลังจากบ่มในที่มืด ณ อุณหภูมิห้อง นาน 14 วัน

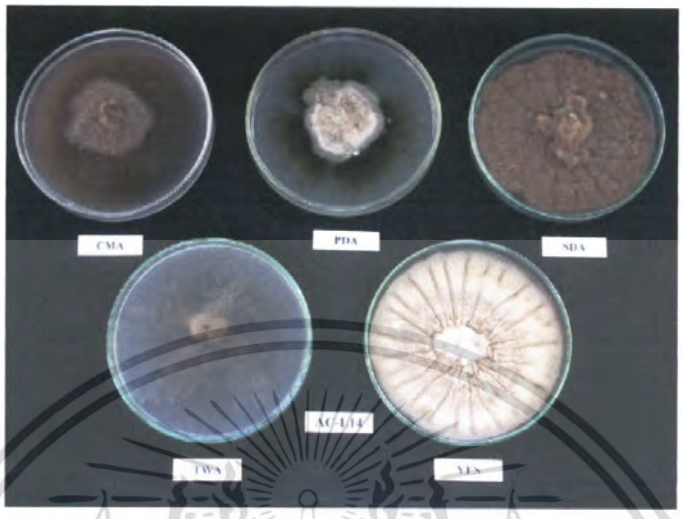
- ตัวแทนกลุ่มที่ 10 (AC-L13)



รูปที่ ก.10 ลักษณะโคโลนีของเชื้อราเอนโดไฟท์ไอโซเลต AC-L13 บนอาหารเลี้ยงเชื้อทั้ง 5 ชนิด (CMA PDA SDA TWA และ YES) หลังจากบ่มในที่มืด ณ อุณหภูมิห้อง นาน 14 วัน

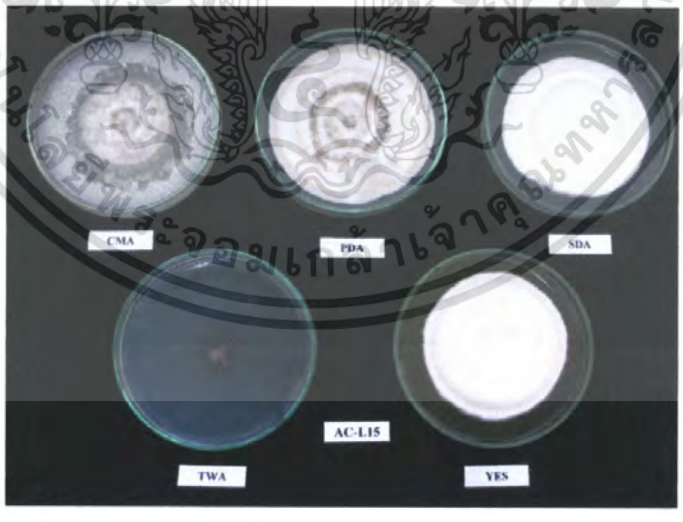
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- ตัวแทนกลุ่มที่ 11 (AC-L14)



รูปที่ ก.11 ลักษณะโคโลนีของเชื้อราเอนโดไฟท์ไอโซเลต AC-L14 บนอาหารเลี้ยงเชื้อทั้ง 5 ชนิด (CMA PDA SDA TWA และ YES) หลังจากบ่มในที่มืด ณ อุณหภูมิห้อง นาน 14 วัน

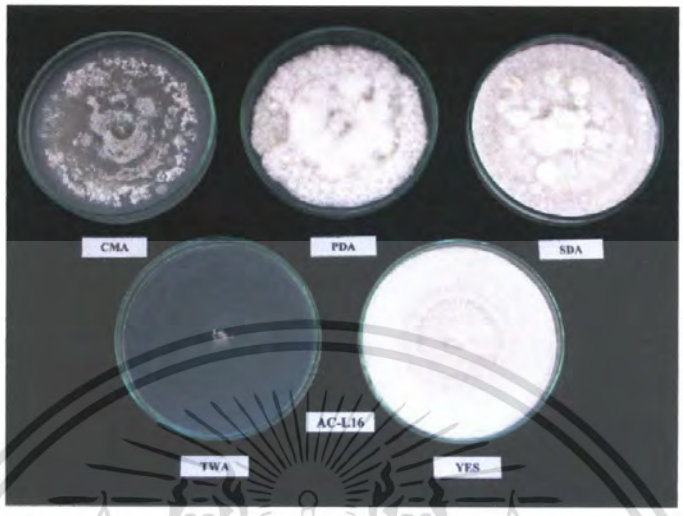
- ตัวแทนกลุ่มที่ 12 (AC-L15)



รูปที่ ก.12 ลักษณะโคโลนีของเชื้อราเอนโดไฟท์ไอโซเลต AC-L15 บนอาหารเลี้ยงเชื้อทั้ง 5 ชนิด (CMA PDA SDA TWA และ YES) หลังจากบ่มในที่มืด ณ อุณหภูมิห้อง นาน 14 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- ตัวแทนกลุ่มที่ 13 (AC-L16)



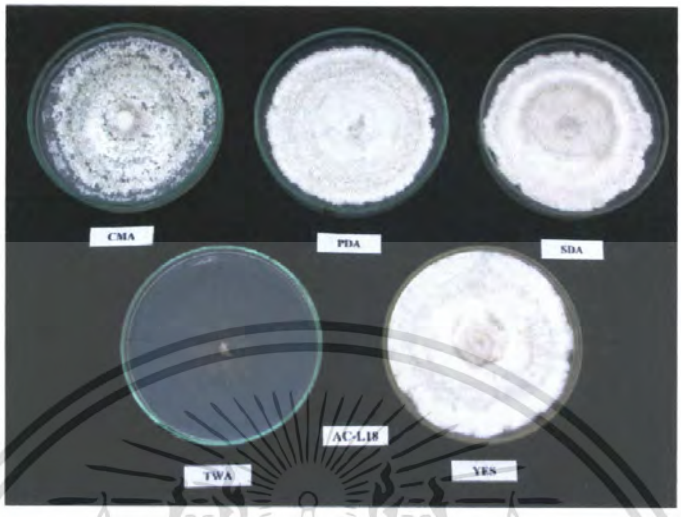
รูปที่ ก.13 ลักษณะโคโลนีของเชื้อราเอนโดไฟท์ไอโซเลต AC-L16 บนอาหารเลี้ยงเชื้อทั้ง 5 ชนิด (CMA PDA SDA TWA และ YES) หลังจากบ่มในที่มืด ณ อุณหภูมิห้อง นาน 14 วัน

- ตัวแทนกลุ่มที่ 14 (AC-L17)

รูปที่ ก.14 ลักษณะโคโลนีของเชื้อราเอนโดไฟท์ไอโซเลต AC-L17 บนอาหารเลี้ยงเชื้อทั้ง 5 ชนิด (CMA PDA SDA TWA และ YES) หลังจากบ่มในที่มืด ณ อุณหภูมิห้อง นาน 14 วัน

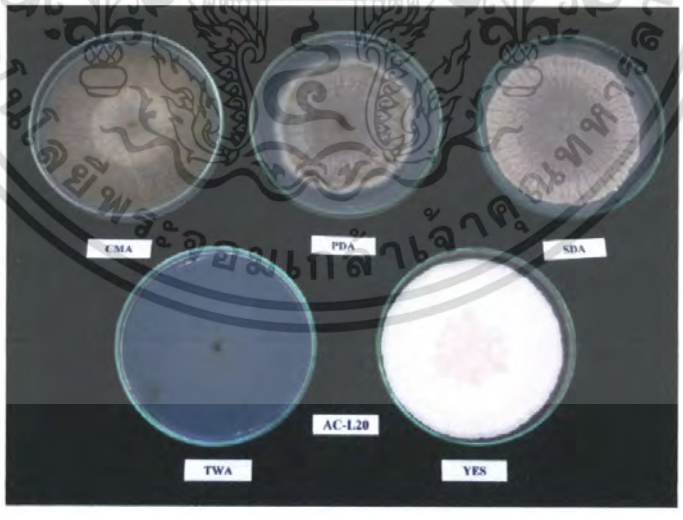
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- ตัวแทนกลุ่มที่ 15 (AC-L18)



รูปที่ ก.15 ลักษณะโคโลนีของเชื้อราเอนโดไฟท์ไอโซเลต AC-L18 บนอาหารเลี้ยงเชื้อทั้ง 5 ชนิด (CMA PDA SDA TWA และ YES) หลังจากบ่มในที่มืด ณ อุณหภูมิห้อง นาน 14 วัน

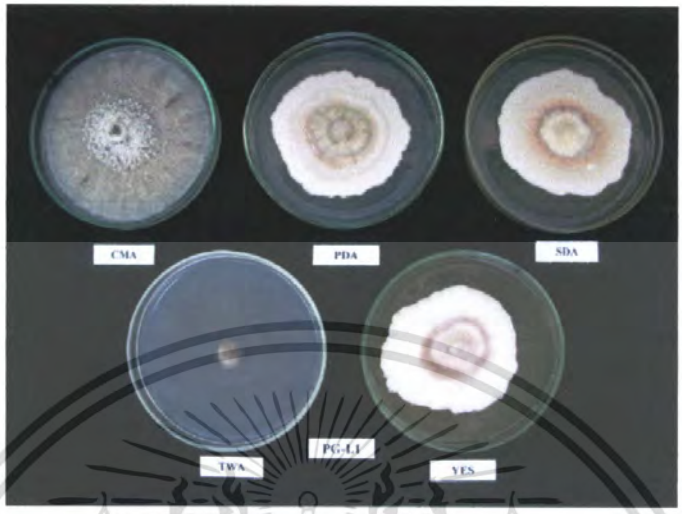
- ตัวแทนกลุ่มที่ 16 (AC-L20)



รูปที่ ก.16 ลักษณะโคโลนีของเชื้อราเอนโดไฟท์ไอโซเลต AC-L20 บนอาหารเลี้ยงเชื้อทั้ง 5 ชนิด (CMA PDA SDA TWA และ YES) หลังจากบ่มในที่มืด ณ อุณหภูมิห้อง นาน 14 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- ตัวแทนกลุ่มที่ 17 (PG-L1)



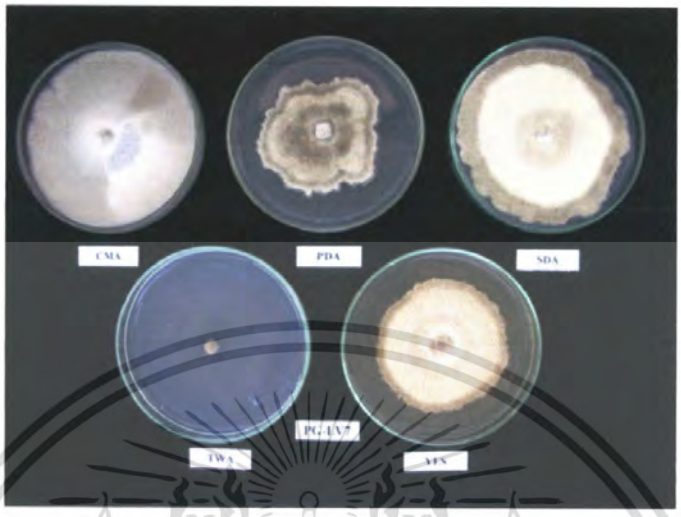
รูปที่ ก.17 ลักษณะโคโลนีของเชื้อราเอนโดไฟท์ไอโซเลต PG-L1 บนอาหารเลี้ยงเชื้อทั้ง 5 ชนิด (CMA PDA SDA TWA และ YES) หลังจากบ่มในที่มืด ณ อุณหภูมิห้อง นาน 14 วัน

- ตัวแทนกลุ่มที่ 18 (PG-LV2)

รูปที่ ก.18 ลักษณะโคโลนีของเชื้อราเอนโดไฟท์ไอโซเลต PG-LV2 บนอาหารเลี้ยงเชื้อทั้ง 5 ชนิด (CMA PDA SDA TWA และ YES) หลังจากบ่มในที่มืด ณ อุณหภูมิห้อง นาน 14 วัน

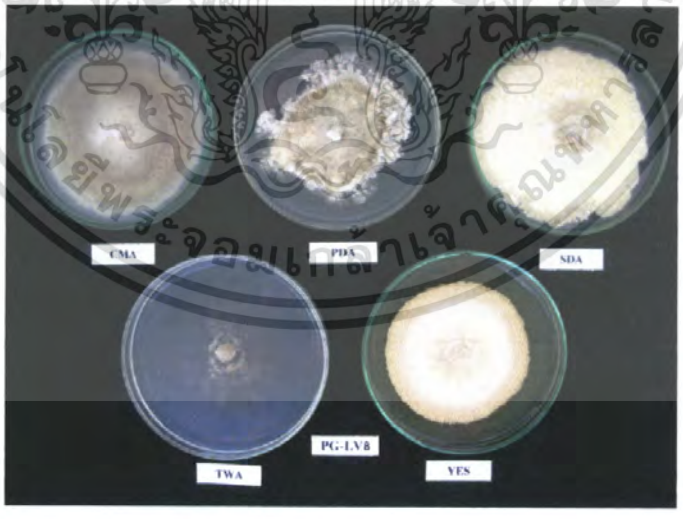
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- ตัวแทนกลุ่มที่ 19 (PG-LV7)



รูปที่ ก.19 ลักษณะโคโลนีของเชื้อราแอนโดไฟท์ไอโซเลต PG-LV7 บนอาหารเลี้ยงเชื้อทั้ง 5 ชนิด (CMA PDA SDA TWA และ YES) หลังจากบ่มในที่มืด ณ อุณหภูมิห้อง นาน 14 วัน

- ตัวแทนกลุ่มที่ 20 (PG-LV8)



รูปที่ ก.20 ลักษณะโคโลนีของเชื้อราแอนโดไฟท์ไอโซเลต PG-LV8 บนอาหารเลี้ยงเชื้อทั้ง 5 ชนิด (CMA PDA SDA TWA และ YES) หลังจากบ่มในที่มืด ณ อุณหภูมิห้อง นาน 14 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

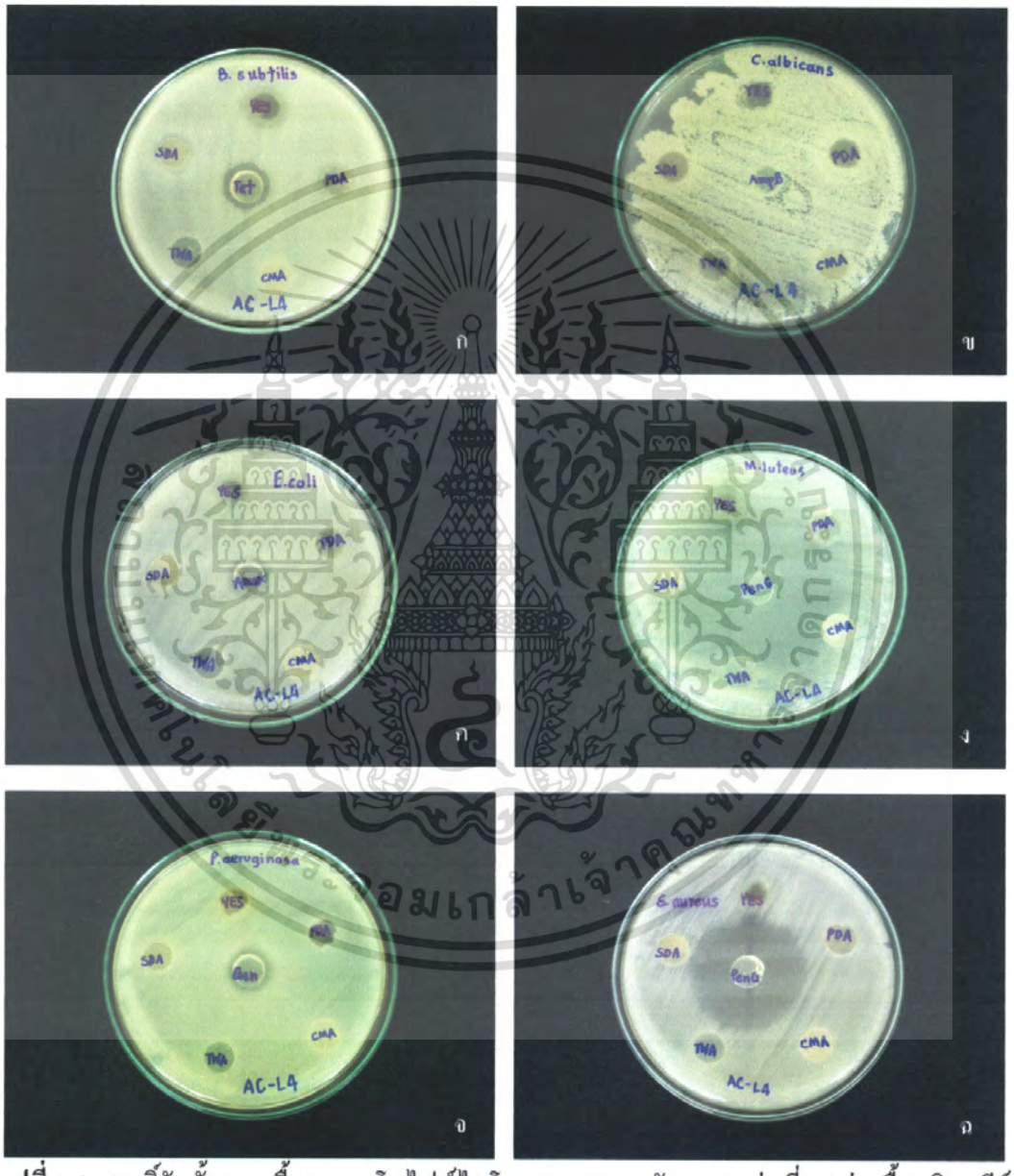
หมายเหตุ

CMA	หมายถึง	อาหารเลี้ยงเชื้อ Corn Meal Agar
PDA	หมายถึง	อาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Agar
SDA	หมายถึง	อาหารเลี้ยงเชื้อ Sabouraud's Dextrose Agar
TWA	หมายถึง	อาหารเลี้ยงเชื้อ Tap Water Agar
YES	หมายถึง	อาหารเลี้ยงเชื้อ Yeast Extract Sucrose Agar

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

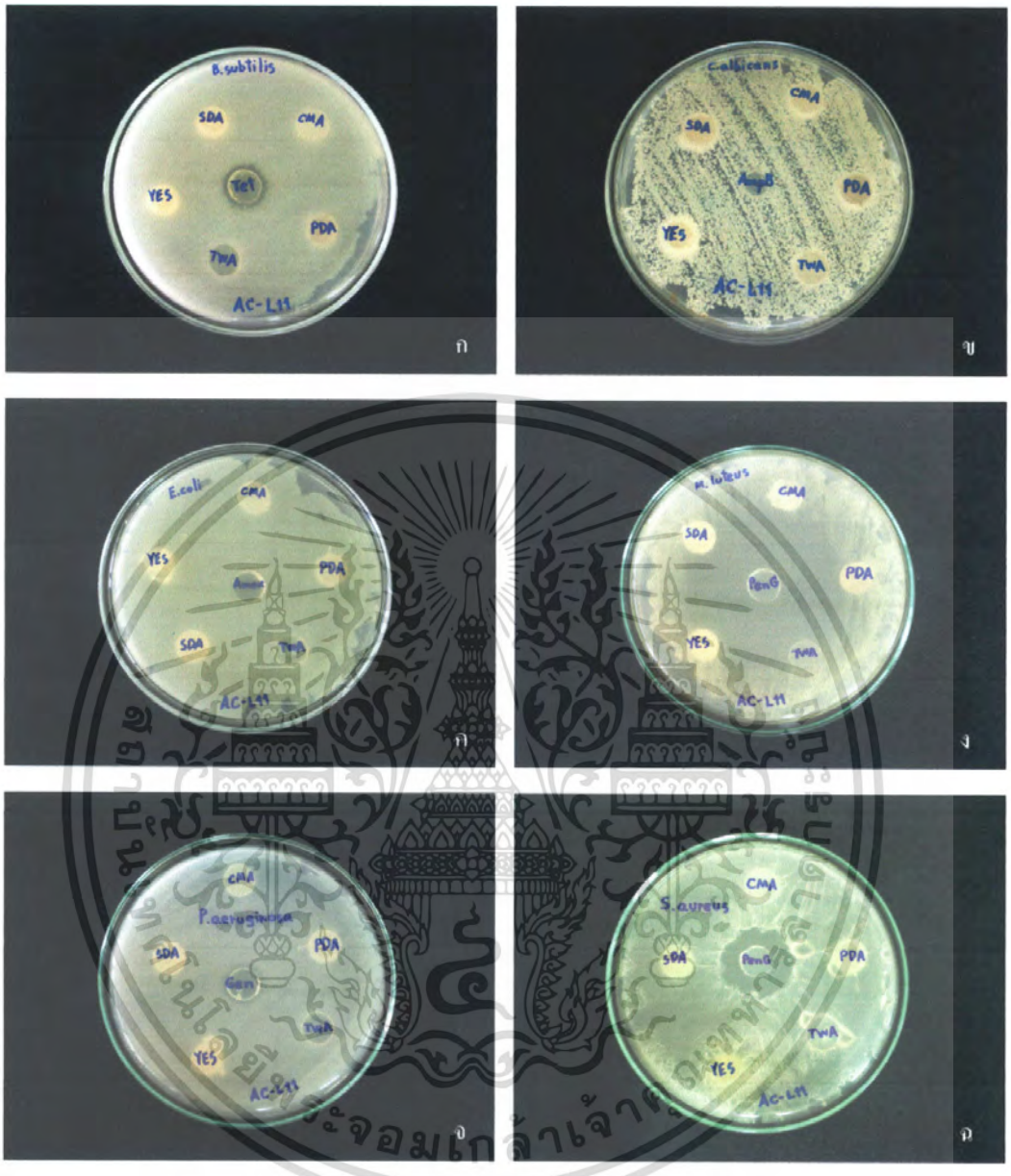
ภาคผนวก ข

ฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบโดยเชื้อราเอนโดไฟท์และชุดควบคุมเชิงบวก



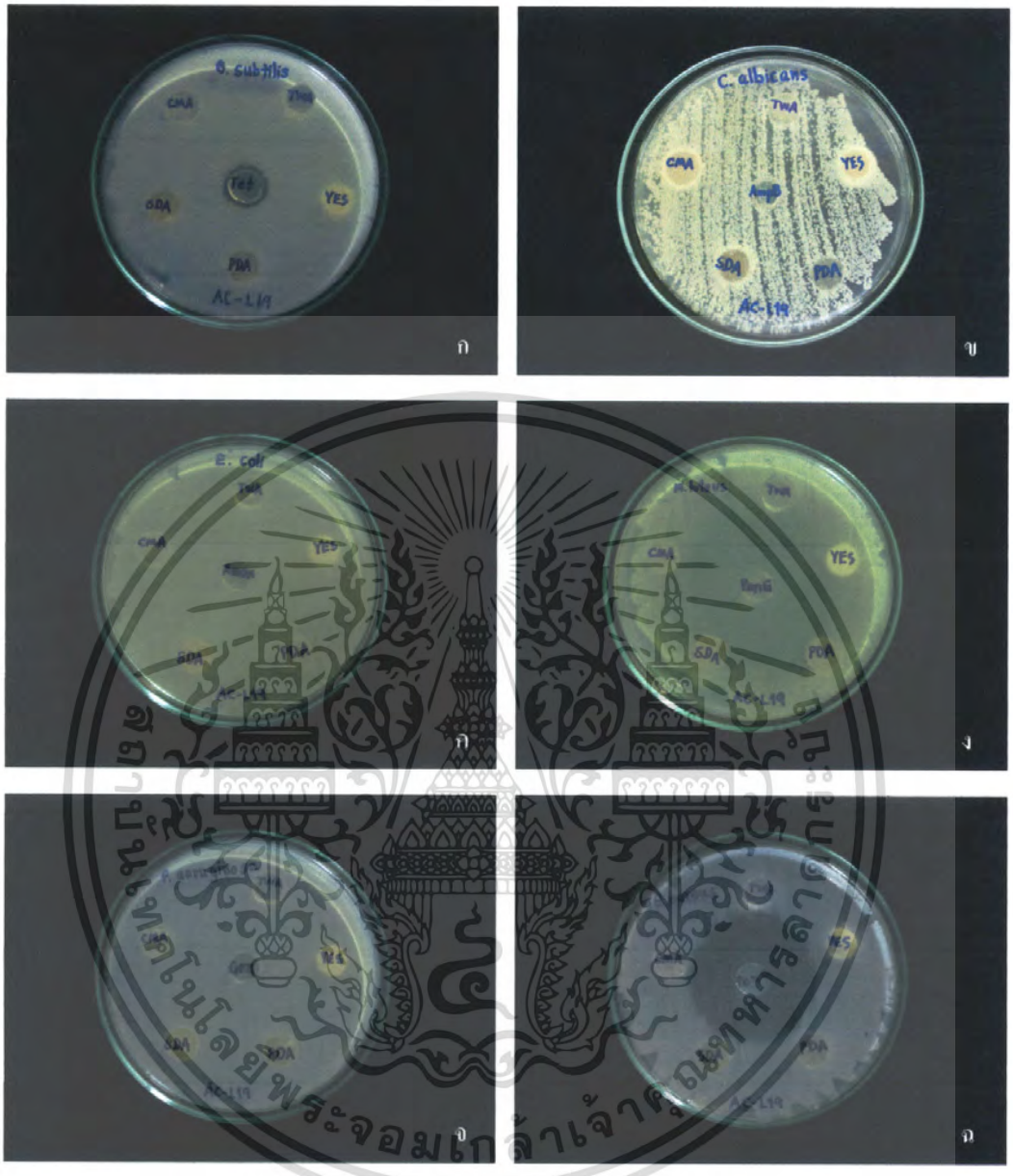
รูปที่ ข.1 ฤทธิ์ยับยั้งของเชื้อราเอนโดไฟท์ไอโซเลต AC-L4 ตัวแทนกลุ่มที่ 1 ต่อเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ *B. subtilis* (ก) *C. albicans* (ข) *E. coli* (ค) *M. luteus* (ง) *P. aeruginosa* (จ) และ *S. aureus* (ฉ)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



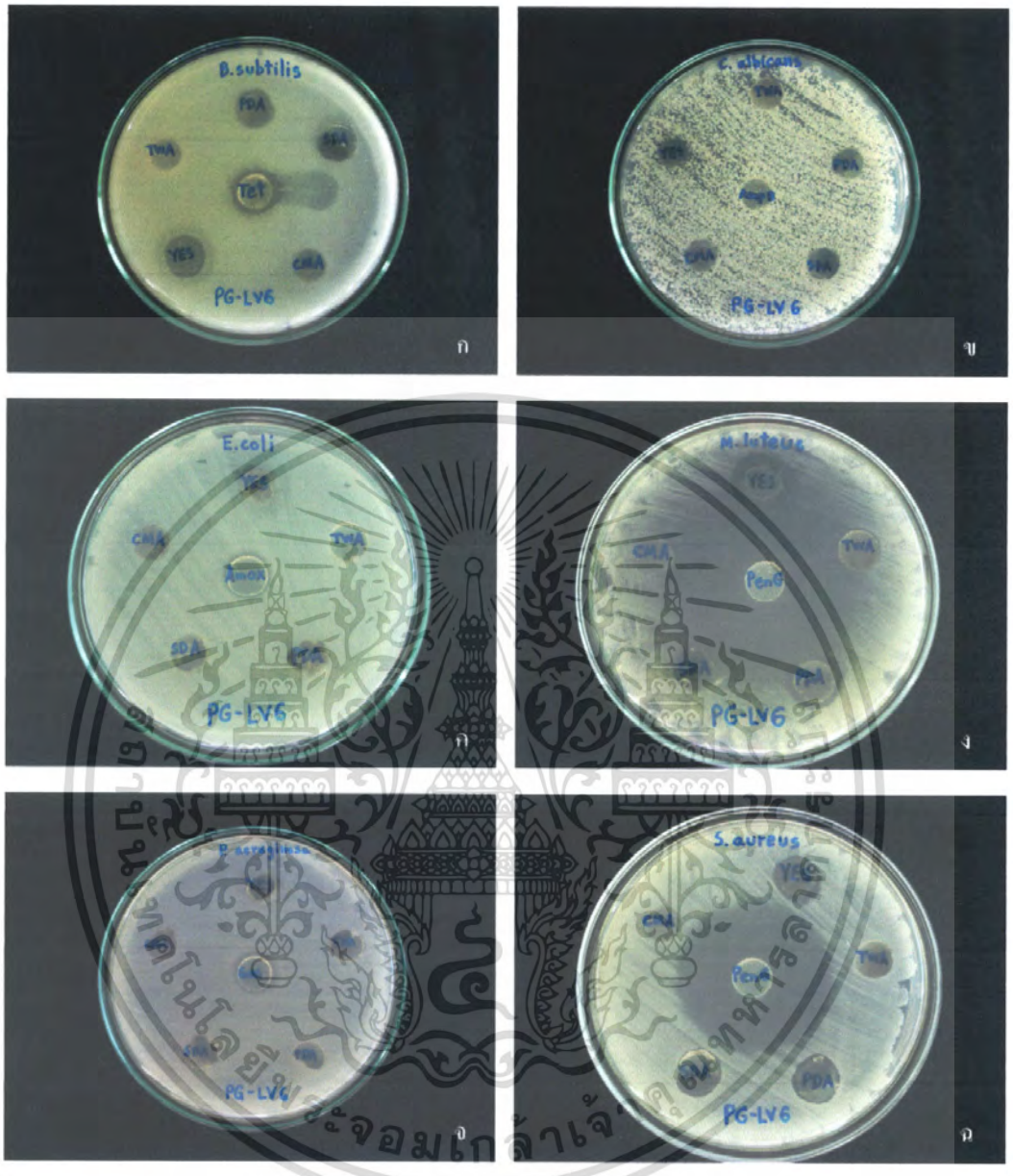
รูปที่ ข.2 ฤทธิ์ยับยั้งของเชื้อราเอนโดไฟท์ไอโซเลต AC-L11 ตัวแทนกลุ่มที่ 2 ต่อเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ *B. subtilis* (ก) *C. albicans* (ข) *E. coli* (ค) *M. luteus* (ง) *P. aeruginosa* (จ) และ *S. aureus* (ฉ)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



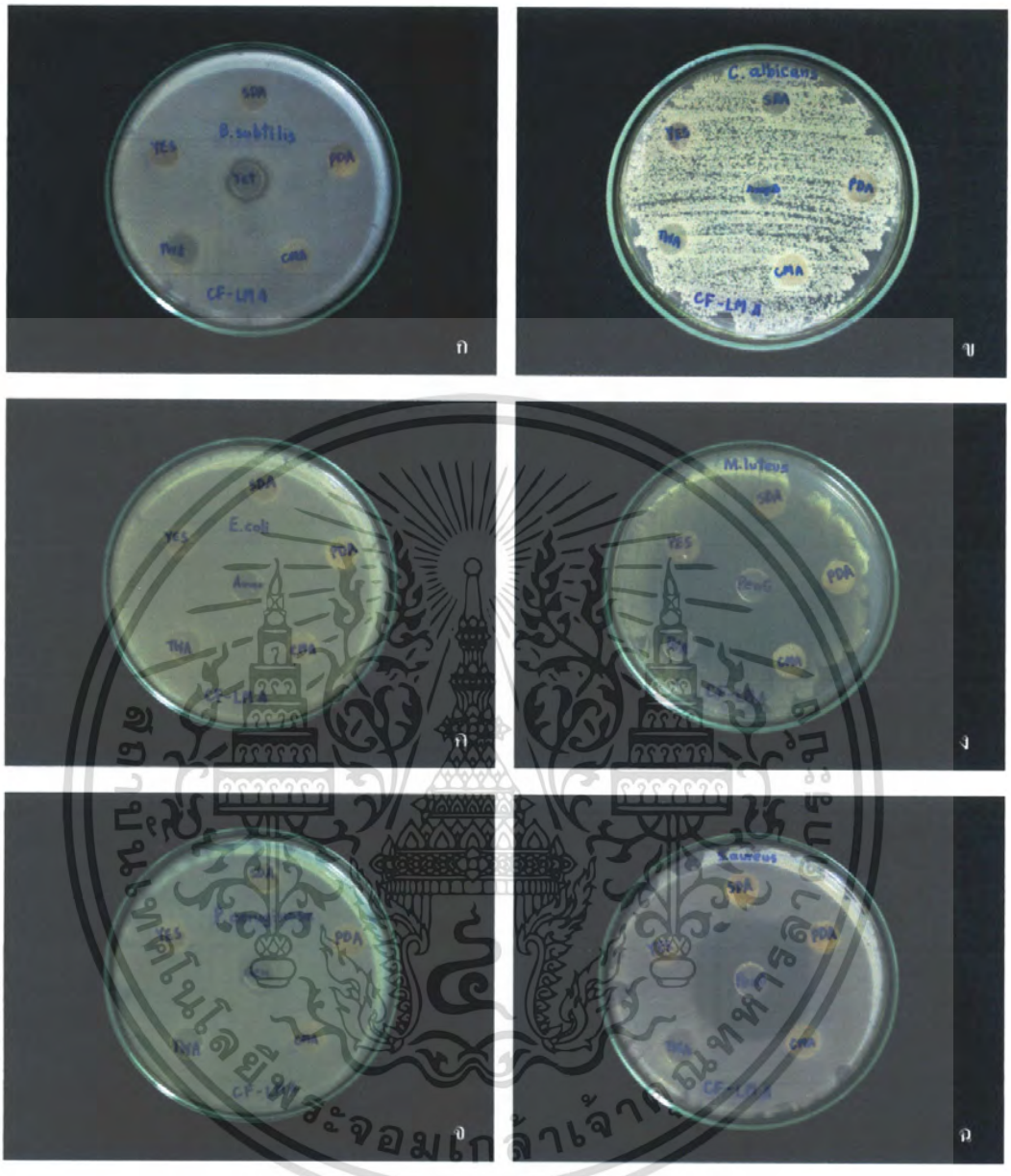
รูปที่ ข.3 ฤทธิ์ยับยั้งของเชื้อราเอนโดไฟท์ไอโซเลต AC-L19 ตัวแทนกลุ่มที่ 3 ต่อเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ *B. subtilis* (ก) *C. albicans* (ข) *E. coli* (ค) *M. luteus* (ง) *P. aeruginosa* (จ) และ *S. aureus* (ฉ)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



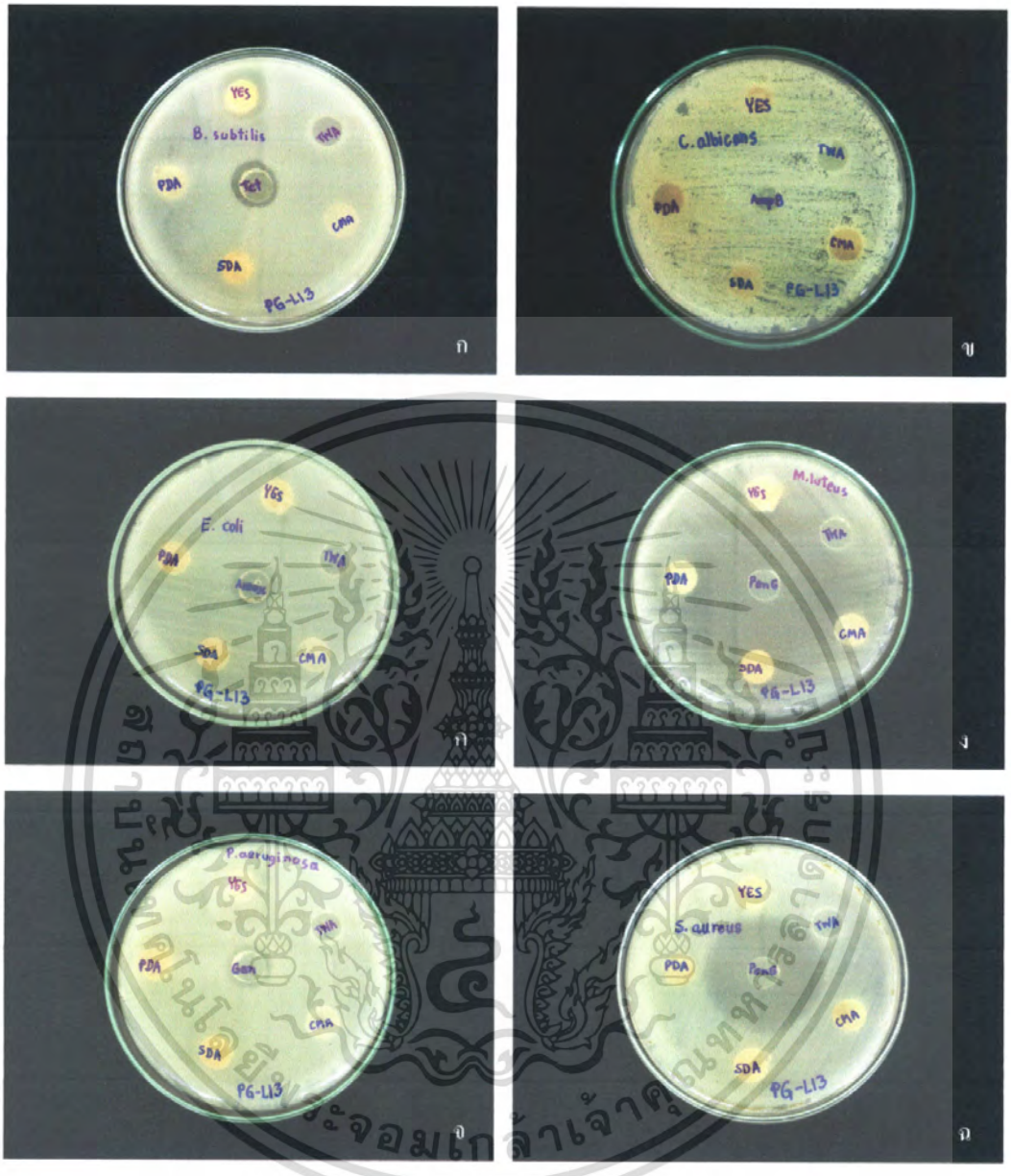
รูปที่ ข.4 ฤทธิ์ยับยั้งของเชื้อราเอนโดไฟท์ไอโซเลต PG-LV6 ตัวแทนกลุ่มที่ 4 ต่อเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ *B. subtilis* (ก) *C. albicans* (ข) *E. coli* (ค) *M. luteus* (ง) *P. aeruginosa* (จ) และ *S. aureus* (ฉ)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



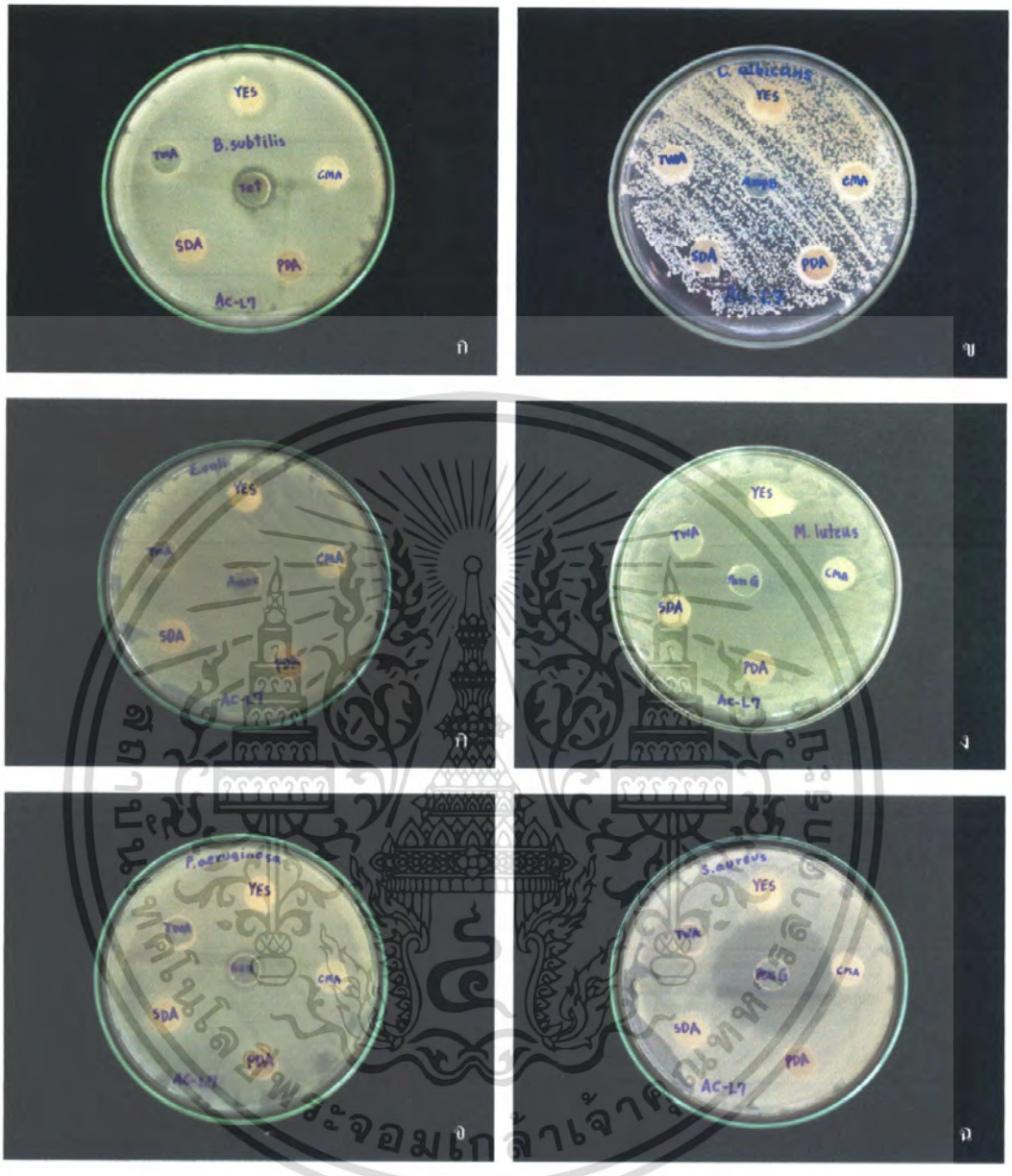
รูปที่ ข.5 ฤทธิ์ยับยั้งของเชื้อราเอนโดไฟท์ไอโซเลต CF-LM4 ตัวแทนกลุ่มที่ 5 ต่อเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ *B. subtilis* (ก) *C. albicans* (ข) *E. coli* (ค) *M. luteus* (ง) *P. aeruginosa* (จ) และ *S. aureus* (ฉ)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



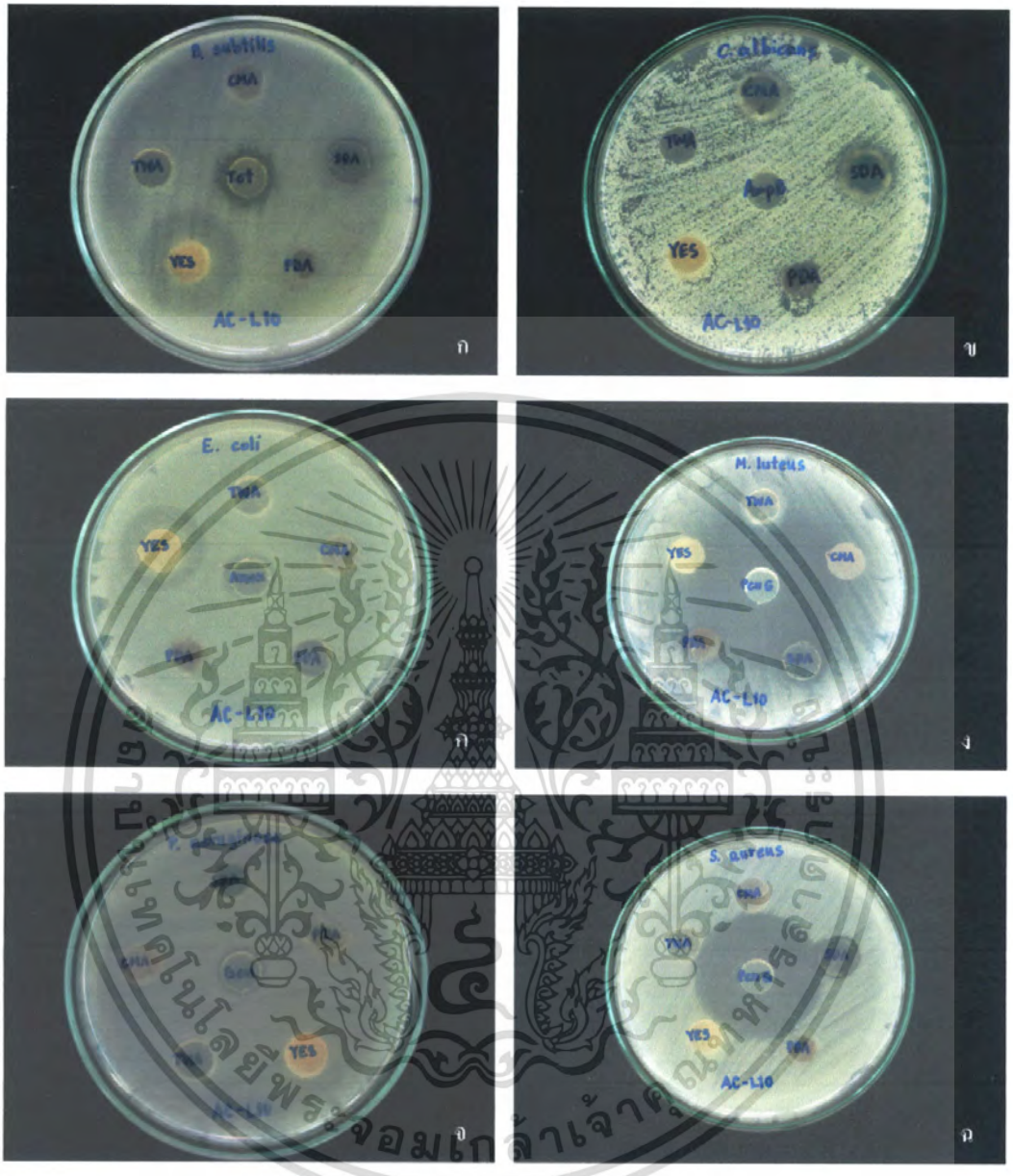
รูปที่ ข.6 ฤทธิ์ยับยั้งของเชื้อราเอนโดไฟท์ไอโซเลต PG-L13 ตัวแทนกลุ่มที่ 6 ต่อเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ *B. subtilis* (ก) *C. albicans* (ข) *E. coli* (ค) *M. luteus* (ง) *P. aeruginosa* (จ) และ *S. aureus* (ฉ)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



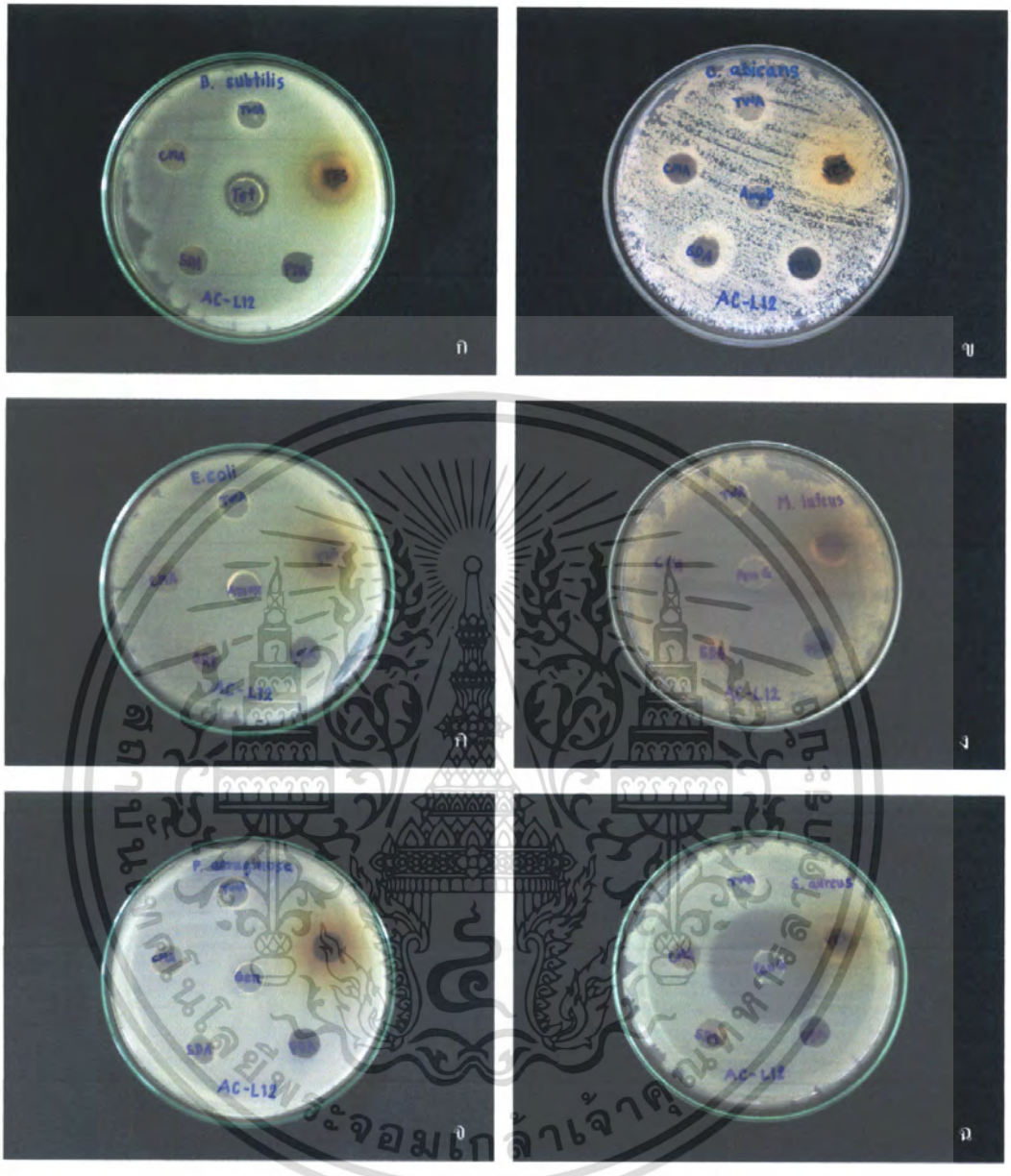
รูปที่ ข.7 ฤทธิ์ยับยั้งของเชื้อราเอนโดไฟท์ไอโซเลต AC-L7 ตัวแทนกลุ่มที่ 7 ต่อเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ *B. subtilis* (ก) *C. albicans* (ข) *E. coli* (ค) *M. luteus* (ง) *P. aeruginosa* (จ) และ *S. aureus* (ฉ)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



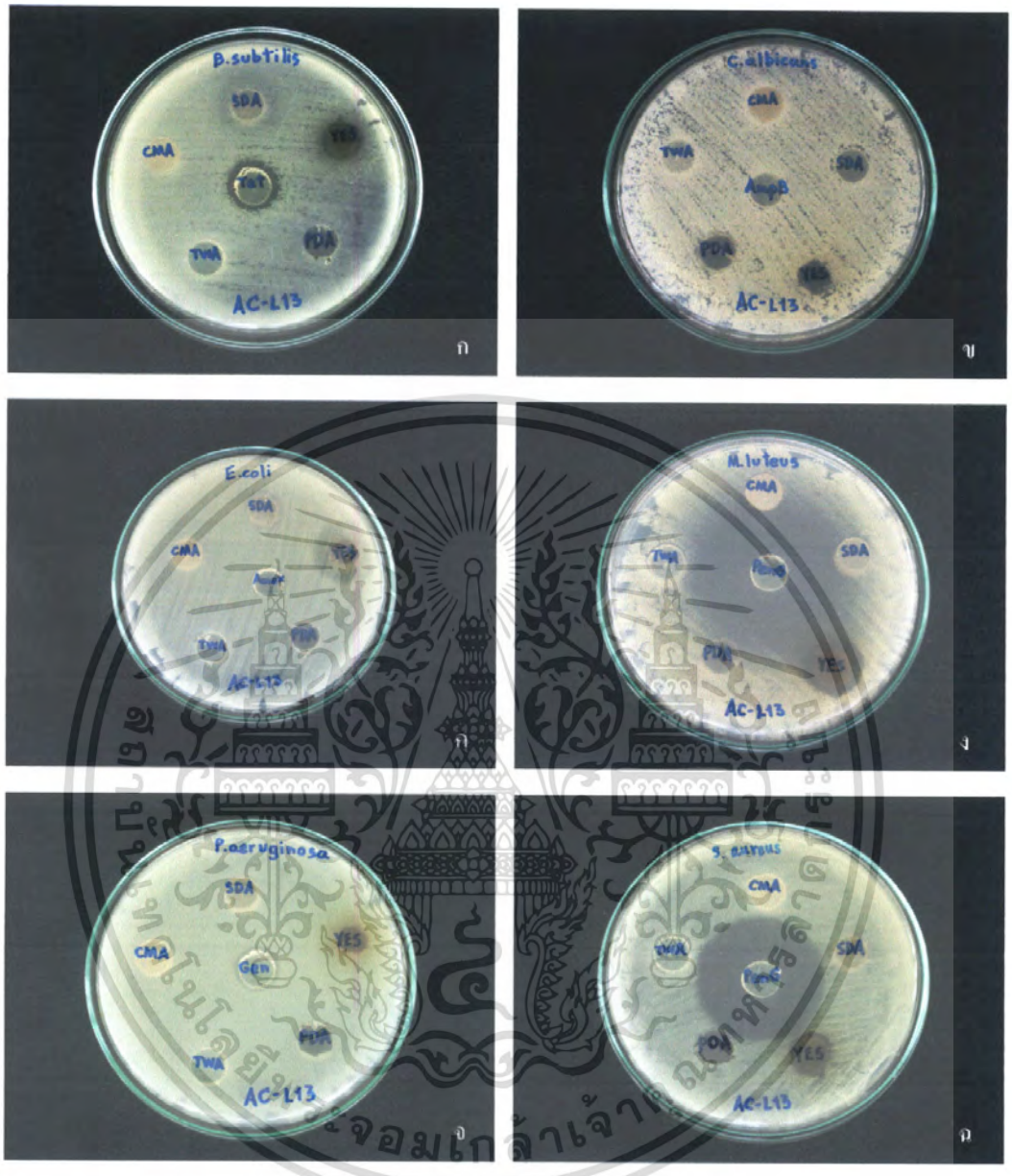
รูปที่ ข.8 ฤทธิ์ยับยั้งของเชื้อราเอนโดไฟท์ไอโซเลต AC-L10 ตัวแทนกลุ่มที่ 8 ต่อเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ *B. subtilis* (ก) *C. albicans* (ข) *E. coli* (ค) *M. luteus* (ง) *P. aeruginosa* (จ) และ *S. aureus* (ฉ)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



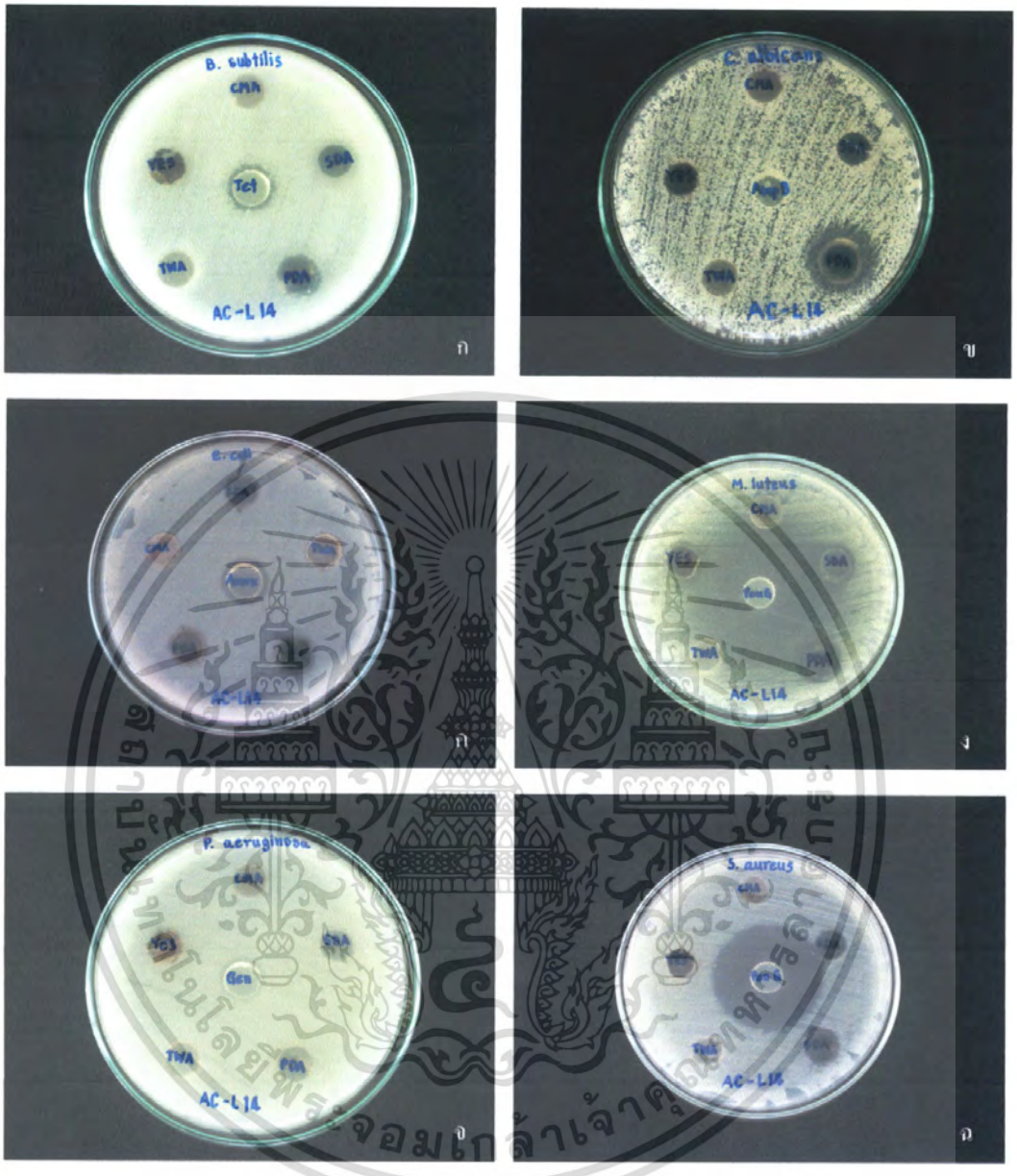
รูปที่ ข.9 ฤทธิ์ยับยั้งของเชื้อราเอนโดไฟท์ไอโซเลต AC-L12 ตัวแทนกลุ่มที่ 9 ต่อเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ *B. subtilis* (ก) *C. albicans* (ข) *E. coli* (ค) *M. luteus* (ง) *P. aeruginosa* (จ) และ *S. aureus* (ฉ)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



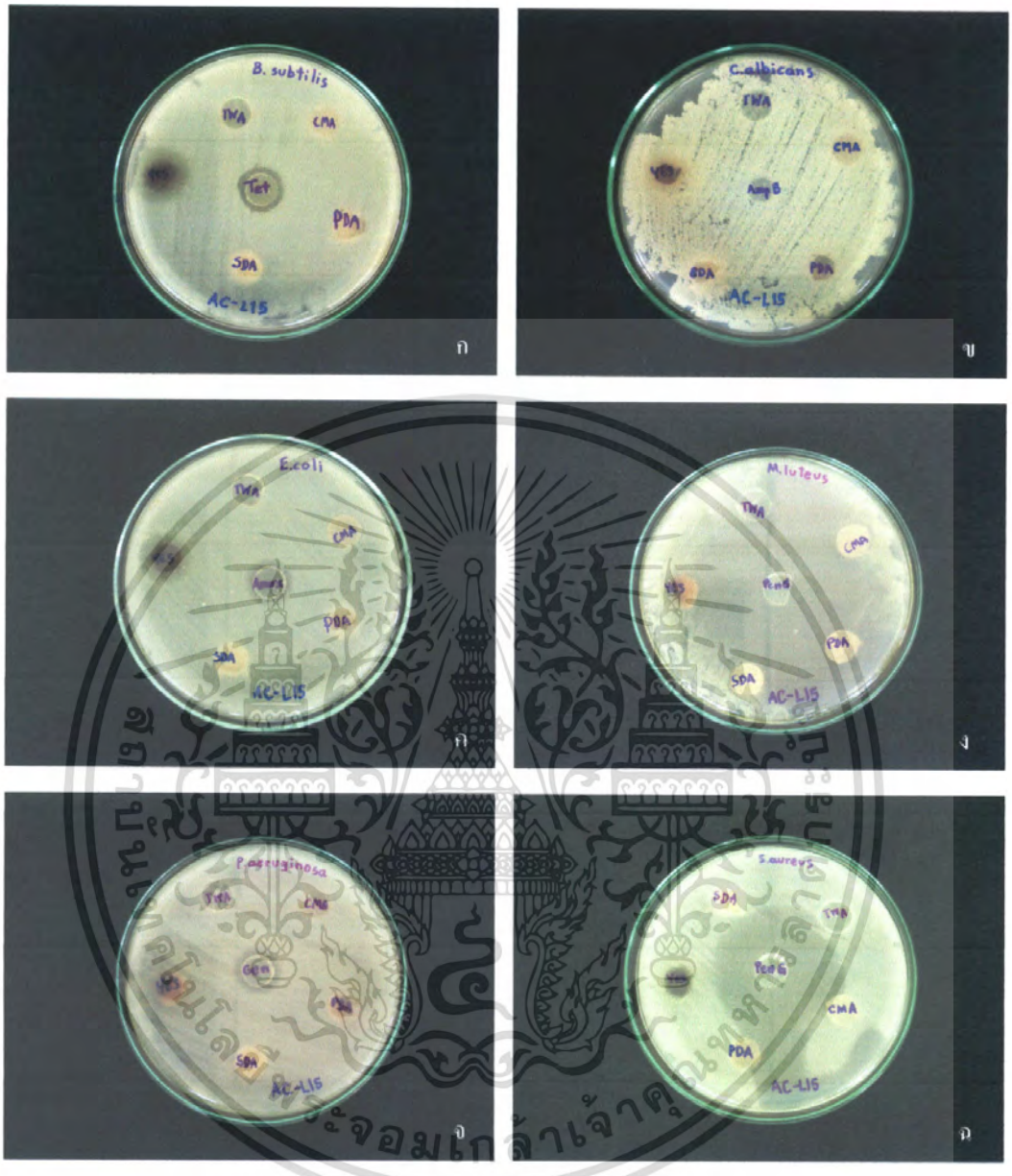
รูปที่ ข.10 ฤทธิ์ยับยั้งของเชื้อราเอนโดไฟท์ไอโซเลต AC-L13 ตัวแทนกลุ่มที่ 10 ต่อเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ *B. subtilis* (ก) *C. albicans* (ข) *E. coli* (ค) *M. luteus* (ง) *P. aeruginosa* (จ) และ *S. aureus* (ฉ)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



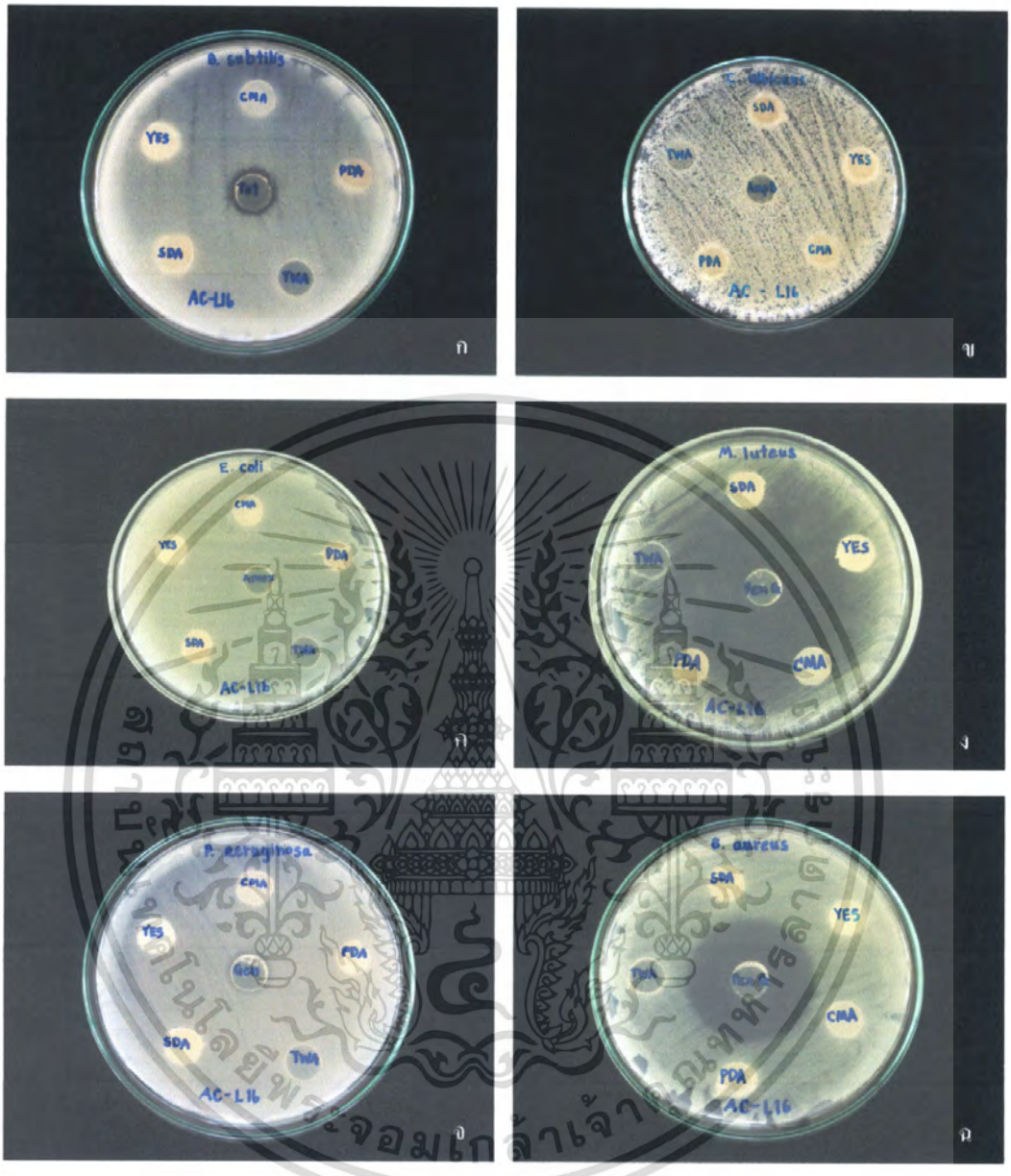
รูปที่ ข.11 ฤทธิ์ยับยั้งของเชื้อราเอนโดไฟท์ไอโซเลต AC-L14 ตัวแทนกลุ่มที่ 11 ต่อเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ *B. subtilis* (ก) *C. albicans* (ข) *E. coli* (ค) *M. luteus* (ง) *P. aeruginosa* (จ) และ *S. aureus* (ฉ)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



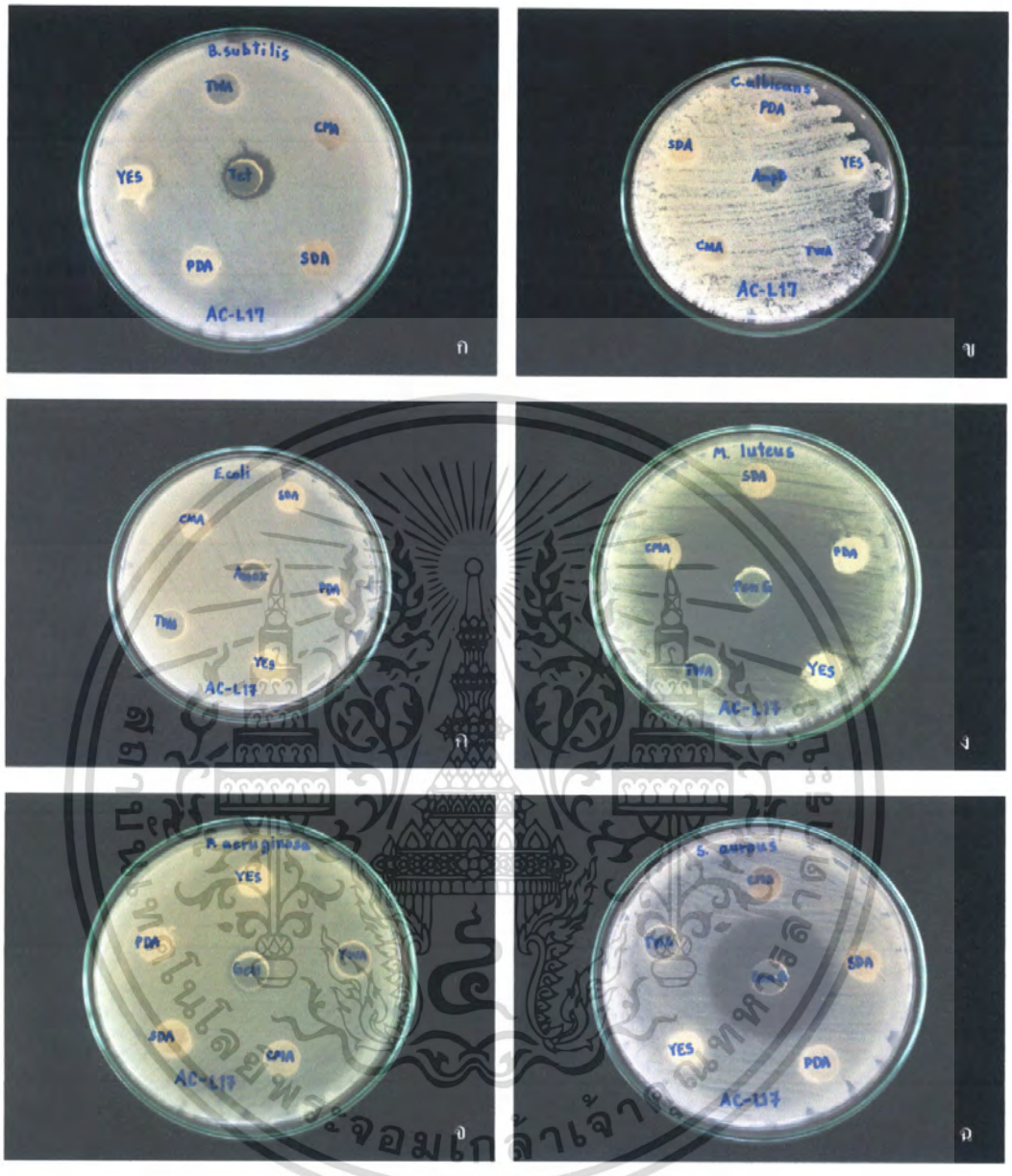
รูปที่ ข.12 ฤทธิ์ยับยั้งของเชื้อราแอนโดไฟท์ไอโซเลต AC-L15 ตัวแทนกลุ่มที่ 12 ต่อเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ *B. subtilis* (ก) *C. albicans* (ข) *E. coli* (ค) *M. luteus* (ง) *P. aeruginosa* (จ) และ *S. aureus* (ฉ)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



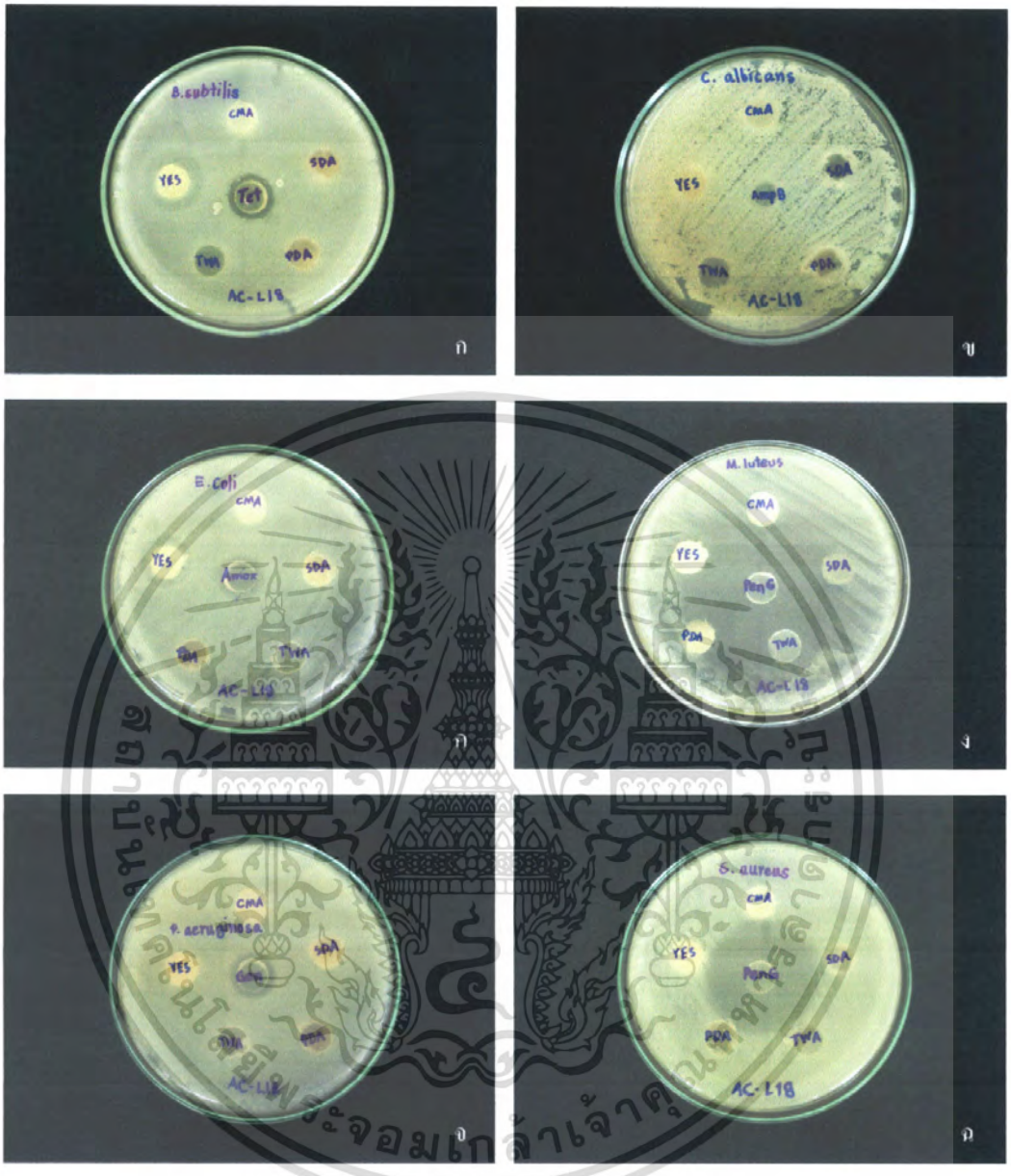
รูปที่ ข.13 ฤทธิ์ยับยั้งของเชื้อราเอนโดไฟท์ไอโซเลต AC-L16 ตัวแทนกลุ่มที่ 13 ต่อเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ *B. subtilis* (ก) *C. albicans* (ข) *E. coli* (ค) *M. luteus* (ง) *P. aeruginosa* (จ) และ *S. aureus* (ฉ)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



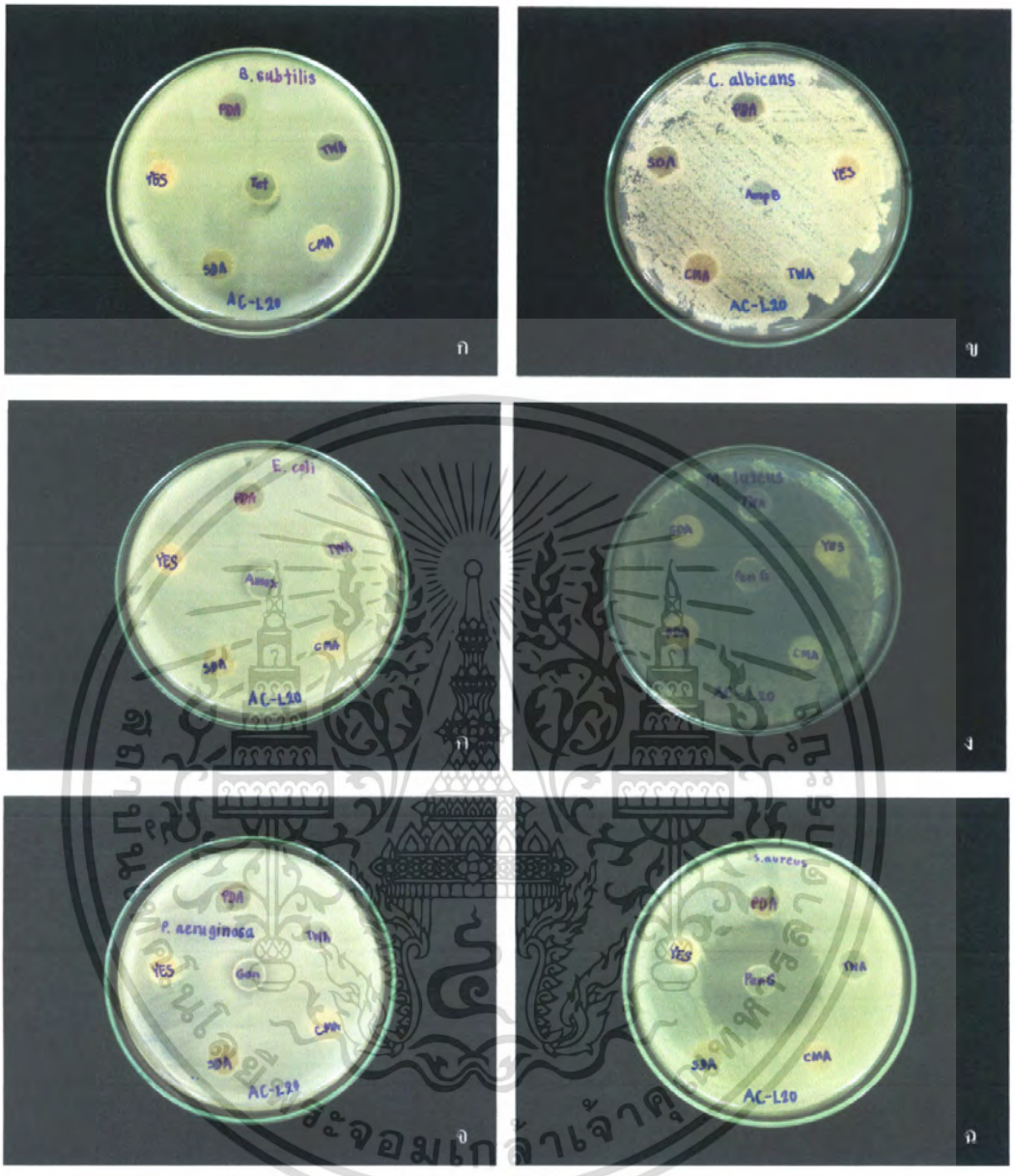
รูปที่ ข.14 ฤทธิ์ยับยั้งของเชื้อราเอนโดไฟท์ไอโซเลต AC-L17 ตัวแทนกลุ่มที่ 14 ต่อเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ *B. subtilis* (ก) *C. albicans* (ข) *E. coli* (ค) *M. luteus* (ง) *P. aeruginosa* (จ) และ *S. aureus* (ฉ)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



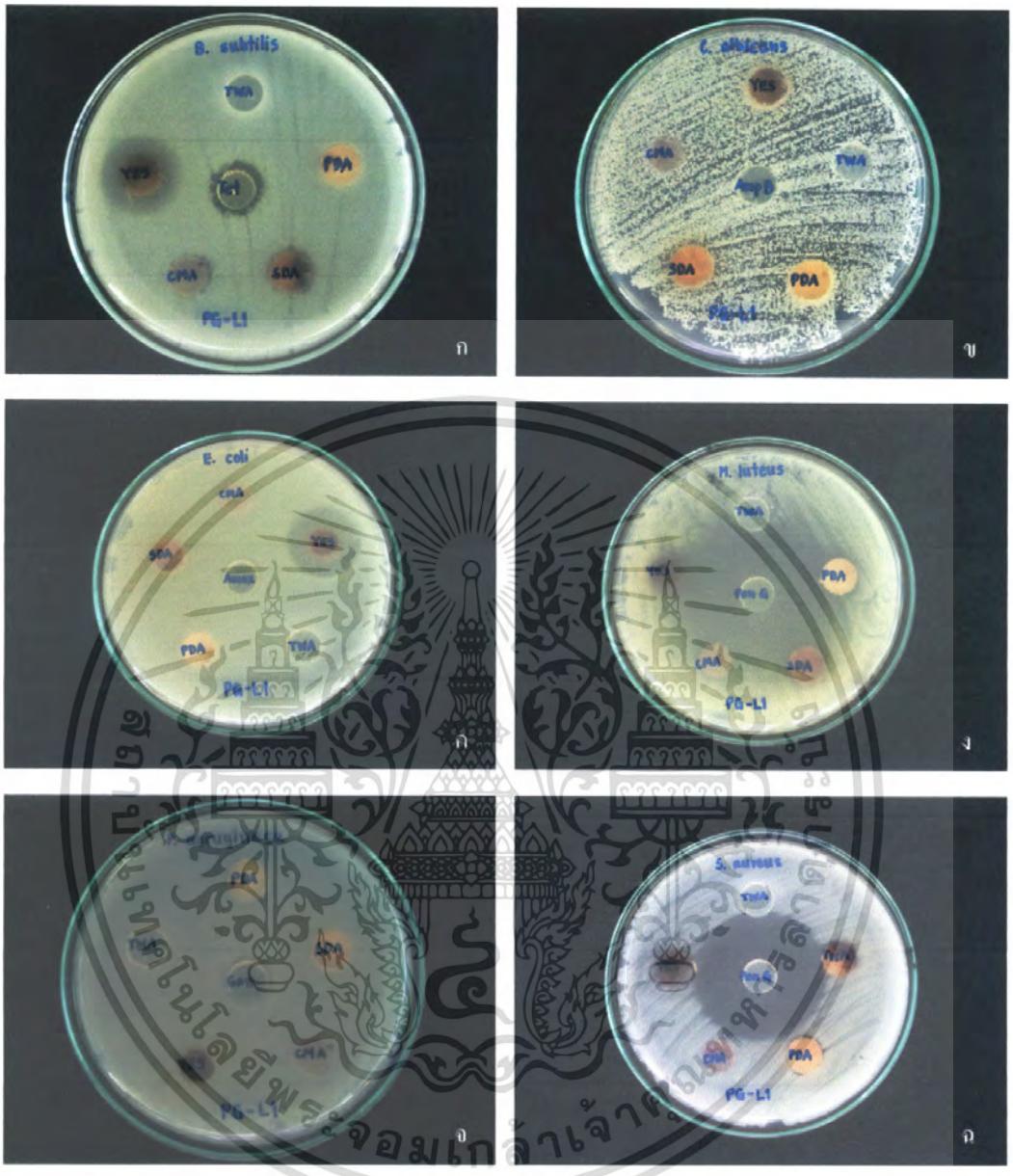
รูปที่ ข.15 ฤทธิ์ยับยั้งของเชื้อราเอนโดไฟท์ไอโซเลต AC-L18 ตัวแทนกลุ่มที่ 15 ต่อเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ *B. subtilis* (ก) *C. albicans* (ข) *E. coli* (ค) *M. luteus* (ง) *P. aeruginosa* (จ) และ *S. aureus* (ฉ)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



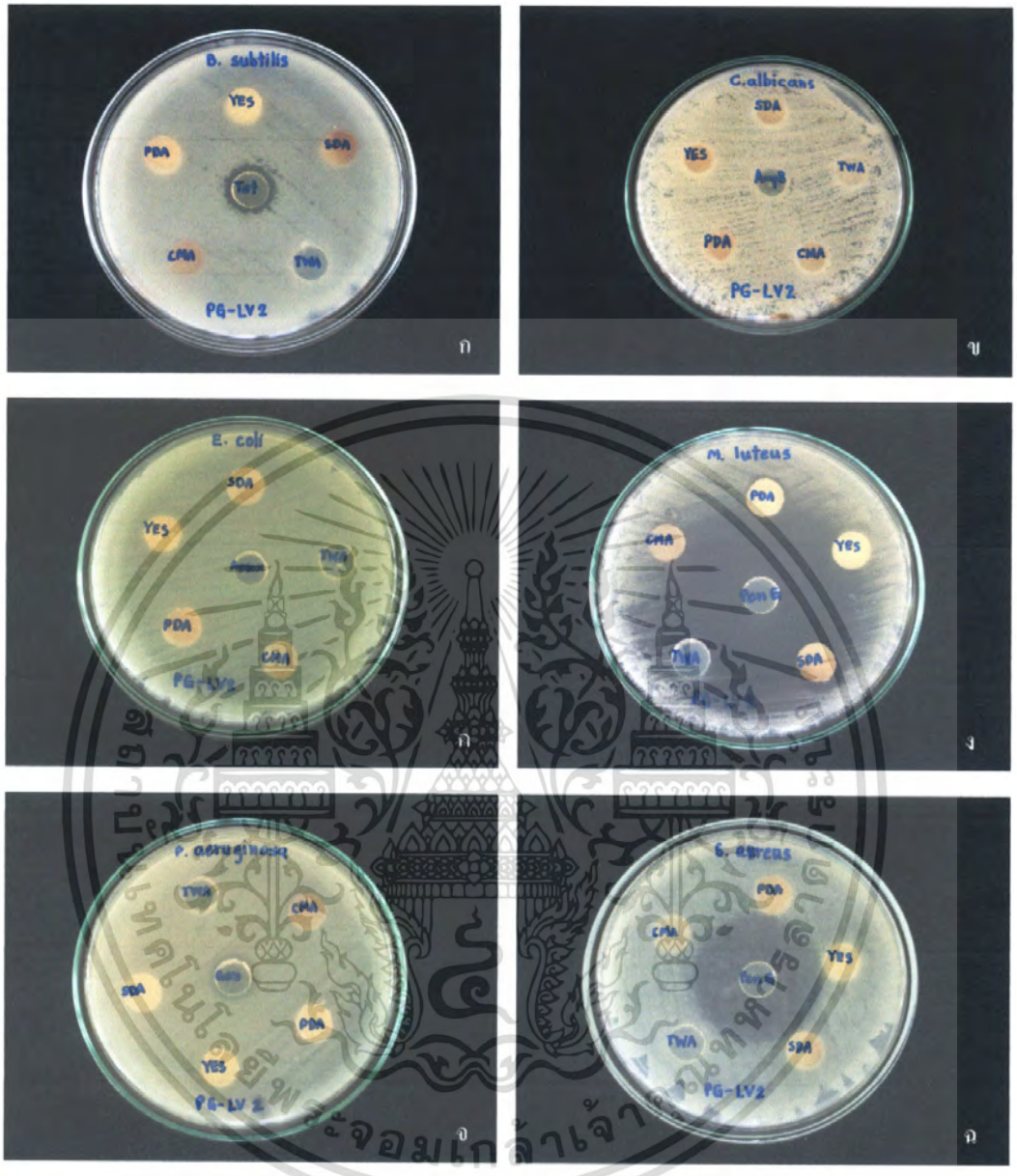
รูปที่ ข.16 ฤทธิ์ยับยั้งของเชื้อราเอนโดไฟท์ไอโซเลต AC-L20 ตัวแทนกลุ่มที่ 16 ต่อเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ *B. subtilis* (ก) *C. albicans* (ข) *E. coli* (ค) *M. luteus* (ง) *P. aeruginosa* (จ) และ *S. aureus* (ฉ)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



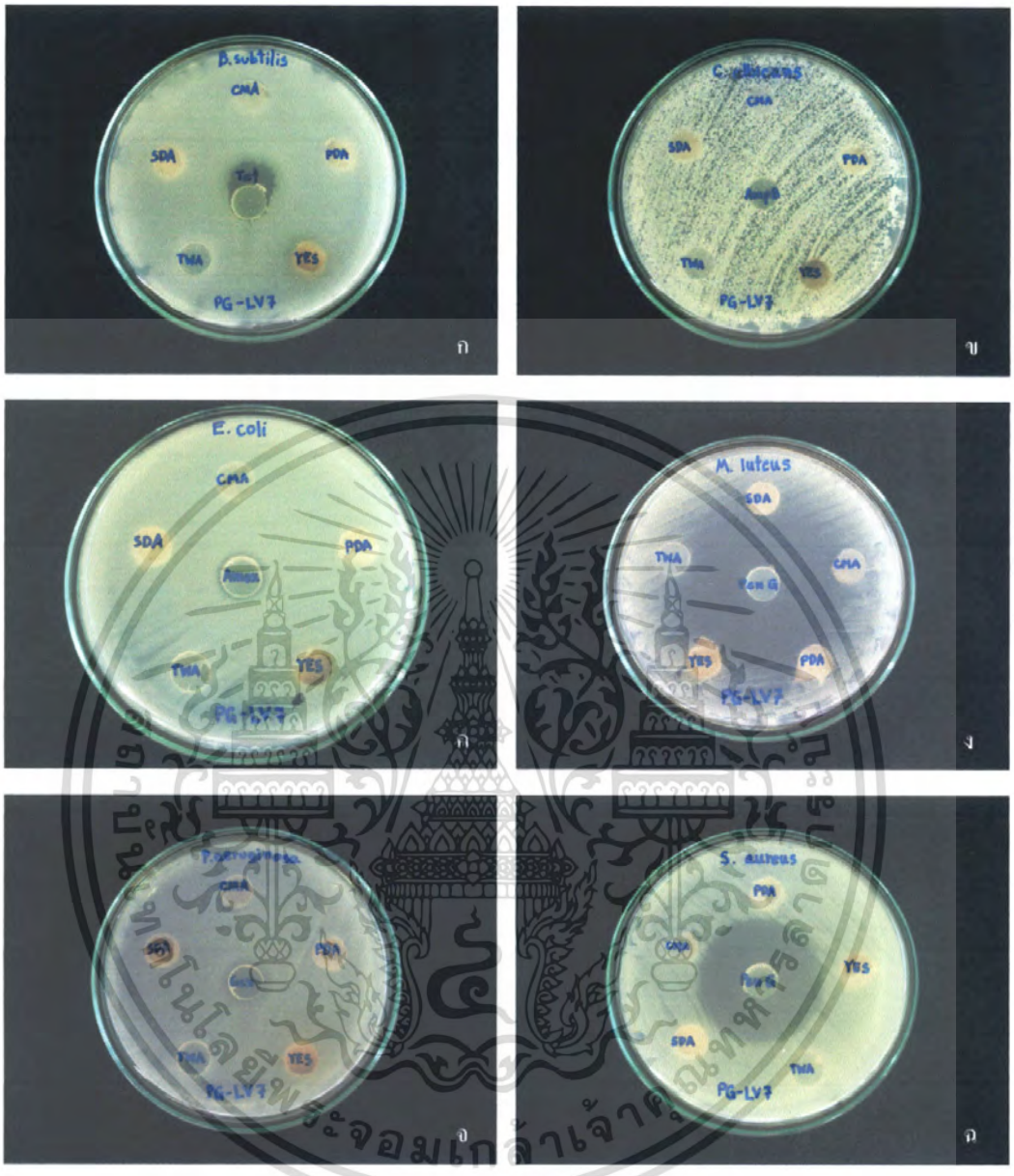
รูปที่ ข.17 ฤทธิ์ยับยั้งของเชื้อราเอนโดไฟท์ไอโซเลต PG-L1 ตัวแทนกลุ่มที่ 17 ต่อเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ *B. subtilis* (ก) *C. albicans* (ข) *E. coli* (ค) *M. luteus* (ง) *P. aeruginosa* (จ) และ *S. aureus* (ฉ)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



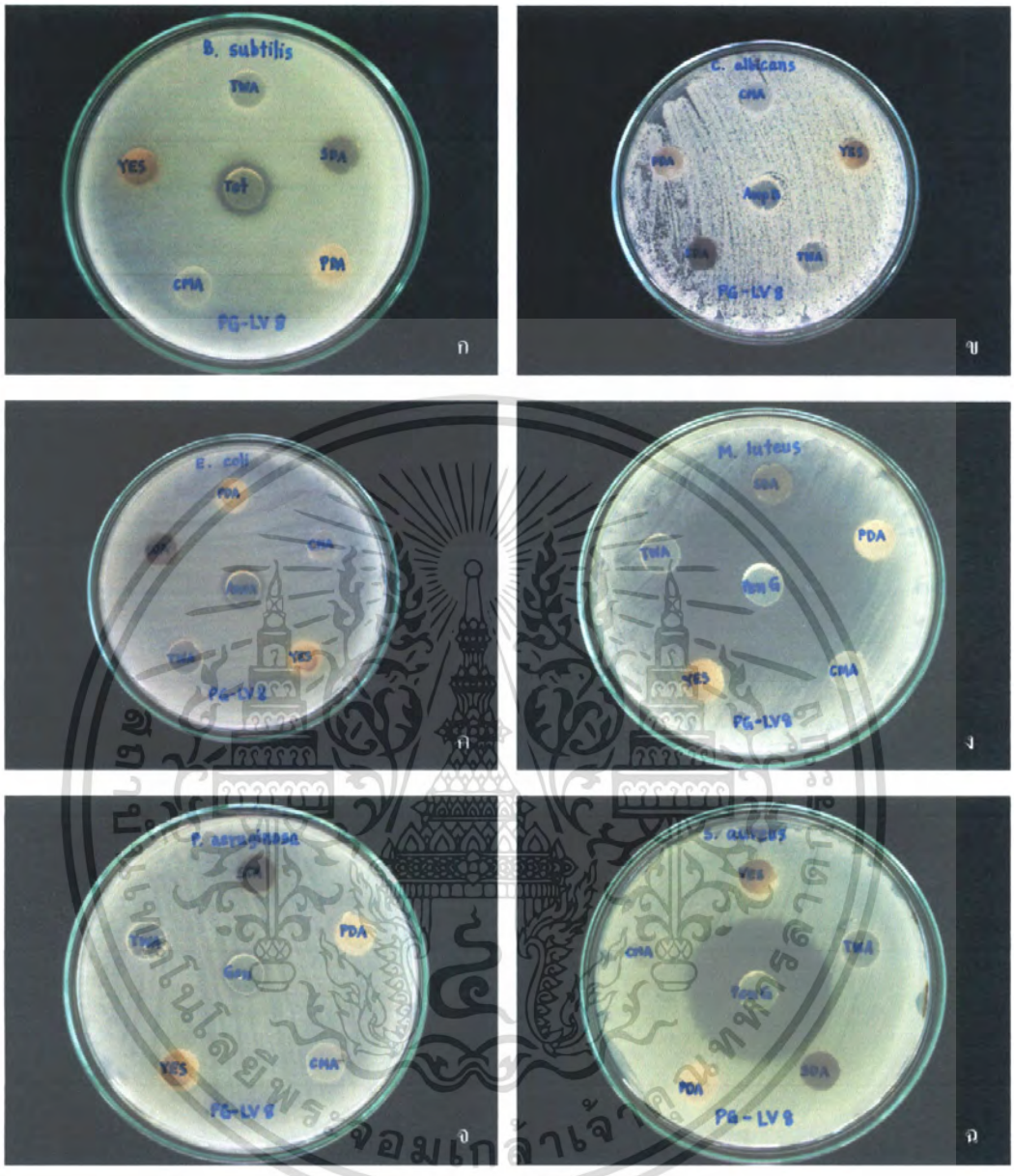
รูปที่ ข.18 ฤทธิ์ยับยั้งของเชื้อราเอนโดไฟท์ไอโซเลต PG-LV2 ตัวแทนกลุ่มที่ 18 ต่อเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ *B. subtilis* (ก) *C. albicans* (ข) *E. coli* (ค) *M. luteus* (ง) *P. aeruginosa* (จ) และ *S. aureus* (ฉ)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ข.19 ฤทธิ์ยับยั้งของเชื้อราเอนโดไฟท์ไอโซเลต PG-LV7 ตัวแทนกลุ่มที่ 19 ต่อเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ *B. subtilis* (ก) *C. albicans* (ข) *E. coli* (ค) *M. luteus* (ง) *P. aeruginosa* (จ) และ *S. aureus* (ฉ)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



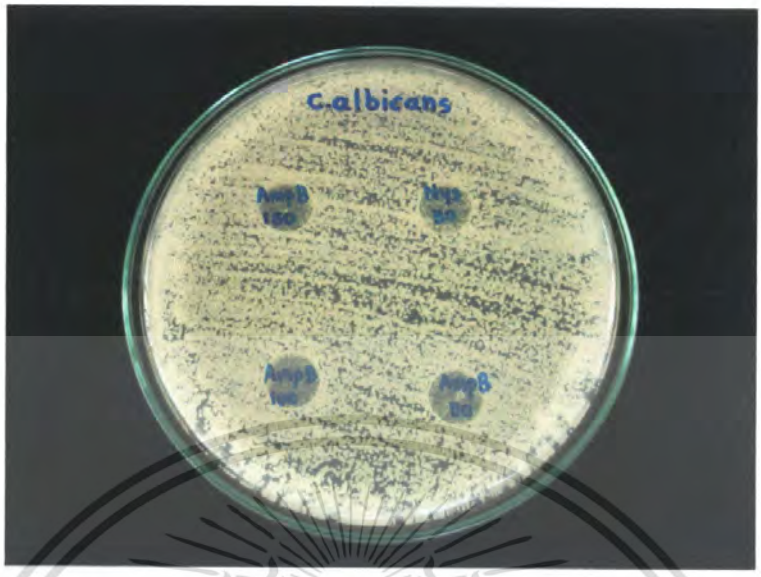
รูปที่ ข.20 ฤทธิ์ยับยั้งของเชื้อราเอนโดไฟท์ไอโซเลต PG-LV8 ตัวแทนกลุ่มที่ 20 ต่อเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ *B. subtilis* (ก) *C. albicans* (ข) *E. coli* (ค) *M. luteus* (ง) *P. aeruginosa* (จ) และ *S. aureus* (ฉ)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หมายเหตุ

- CMA หมายถึง ชิ้นวุ้นของเชื้อราเอนโดไฟท์ที่เลี้ยงบนอาหาร CMA
- PDA หมายถึง ชิ้นวุ้นของเชื้อราเอนโดไฟท์ที่เลี้ยงบนอาหาร PDA
- SDA หมายถึง ชิ้นวุ้นของเชื้อราเอนโดไฟท์ที่เลี้ยงบนอาหาร SDA
- TWA หมายถึง ชิ้นวุ้นของเชื้อราเอนโดไฟท์ที่เลี้ยงบนอาหาร TWA
- YES หมายถึง ชิ้นวุ้นของเชื้อราเอนโดไฟท์ที่เลี้ยงบนอาหาร YES
- Amox หมายถึง ชิ้นวุ้นของอาหารเลี้ยงเชื้อ MHA ที่ผสมยาปฏิชีวนะ Amoxicillin
- Amp B หมายถึง ชิ้นวุ้นของอาหารเลี้ยงเชื้อ SDA ที่ผสมยาปฏิชีวนะ Amphotericin B
- Gen หมายถึง ชิ้นวุ้นของอาหารเลี้ยงเชื้อ MHA ที่ผสมยาปฏิชีวนะ Gentamicin
- Pen G หมายถึง ชิ้นวุ้นของอาหารเลี้ยงเชื้อ MHA ที่ผสมยาปฏิชีวนะ Penicillin G
- Tet หมายถึง ชิ้นวุ้นของอาหารเลี้ยงเชื้อ MHA ที่ผสมยาปฏิชีวนะ Tetracycline

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ข.21 ชุดควบคุมเชิงบวกชนิดต่างๆ ที่ใช้ทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อ *C. albicans*

หมายเหตุ

- Nys 50 หมายถึง ชิ้นวุ้นของอาหารเลี้ยงเชื้อ SDA ที่ผสมยาปฏิชีวนะ Nystatin ความเข้มข้น 50 µg/ml
- Amp B 50 หมายถึง ชิ้นวุ้นของอาหารเลี้ยงเชื้อ SDA ที่ผสมยาปฏิชีวนะ Amphotericin B ความเข้มข้น 50 µg/ml
- Amp B 100 หมายถึง ชิ้นวุ้นของอาหารเลี้ยงเชื้อ SDA ที่ผสมยาปฏิชีวนะ Amphotericin B ความเข้มข้น 100 µg/ml
- Amp B 150 หมายถึง ชิ้นวุ้นของอาหารเลี้ยงเชื้อ SDA ที่ผสมยาปฏิชีวนะ Amphotericin B ความเข้มข้น 150 µg/ml

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค

Corn Meal Agar

- Corn meal, Infusion form	50	กรัม
- Agar	15	กรัม
- น้ำกลั่น	1	ลิตร

Potato Dextrose Agar

- Potatoes, Infusion form	200	กรัม
- Dextrose	20	กรัม
- Agar	15	กรัม
- น้ำกลั่น	1	ลิตร

Tap Water Agar

- Agar	15	กรัม
- น้ำประปา	1	ลิตร

Sabouraud's Dextrose Agar

- Neopeptone	10	กรัม
- Dextrose	40	กรัม
- Agar	15	กรัม
- น้ำกลั่น	1	ลิตร

Yeast Extract Sucrose Agar

- Yeast extract	20	กรัม
- Sugar	150	กรัม
- Agar	15	กรัม
- น้ำกลั่น	1	ลิตร

สารละลายมาตรฐาน McFarland No. 0.5

- 0.048 M $BaCl_2$	0.5	มิลลิลิตร
- 0.18 M H_2SO_4	99.5	มิลลิลิตร

<u>หมายเหตุ</u> มีอายุการใช้งานนาน 6 เดือน ควรเก็บรักษาไว้ในที่มืด ณ อุณหภูมิห้อง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้