3. ผลการทดลอง

3.1 การแยกราเอนโดไฟท์ จากตัวอย่างพืชสกุล *Garcinia*

จากการแยกราเอนโดไฟท์จากตัวอย่างพืชสกุล *Garcinia* ทั้งหมด 5 species ได้แก่ ส้มแขก (*G. atroviridis*, GA) 3 ต้นจากจังหวัดยะลา 2 ต้น สงขลา 1 ต้น มะพูด (*G. dulcis*, GD) 2 ต้นจากจังหวัดสงขลา เก็บตัวอย่างรวม 3 ครั้ง มังคุด (*G. mangostana*, GM) 3 ต้น จากจังหวัดสงขลา 1 ต้น และสุราษฎร์ธานี 2 ต้น ต้นชะมวง (*G. nigrolineata*, GN) และ *G. scortechinii* (GS) อย่างละ 1 ต้น จากจังหวัดสงขลา รวม 10 ต้น สามารถแยกราเอนโดไฟท์ ได้จากตัวอย่างพืชสกุล *Garcinia* ทุกชนิด รวมทั้งหมด 1,979 isolates แล้วทำการคัดเลือกเฉพาะ isolate ที่มีลักษณะของ colony ที่แตกต่างกัน ชนิดละ 1-5 colonies ถ้า colony แบบใดพบมาก ก็จะทำการสุ่มเลือกมามาก ประมาณ 20% ของเชื้อที่แยกได้ แต่ถ้าเป็น colony แบบที่พบน้อย ไม่เกิน 1-2 colony จะนำมาศึกษาทั้งหมด นำมาเพาะเลี้ยงในอาหาร PDB เพื่อศึกษาถึงความสามารถในการสร้างสารต้านจุลินทรีย์ โดยในการศึกษาครั้งนี้ทำการเลือกมาทั้งหมด 377 isolates คิดเป็น 19.05% ของเชื้อที่แยกได้ทั้งหมด เป็นเชื้อที่แยกได้จากส้มแขก 80 isolates, มะพูด 84 isolates, มังคุด 112 isolates, ชะมวง 47 isolates และ *G. scortechinii* 54 isolates (ตารางที่ 3 และรูปที่ 19)

เมื่อทำการแยกราเอนโดไฟท์จากต้นส้มแขกเป็นจำนวนทั้งหมด 3 ต้น ประกอบไปด้วย ต้นส้มแขกจากจังหวัดยะลา (1GA) แยกราเอนโดไฟท์ได้ทั้งหมด 179 isolates ซึ่งพบว่าได้จำนวนมากกว่าต้นส้มแขกจากจังหวัดสงขลา (2GA) ซึ่งแยกได้เพียง 94 isolates ซึ่งทำการเลือกไปทดสอบฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์เท่ากับ 31 และ 10 isolates ตามลำดับ หลังจากนั้นจึงทำการแยกเชื้อราเอนโดไฟท์เพิ่มเติมจากต้นส้มแขกจากจังหวัดยะลาอีกต้นหนึ่ง (3GA) ซึ่งพบว่าได้จำนวนเชื้อมากถึง 235 isolates จึงได้คัดเลือกไปทดสอบฤทธิ์จำนวน 39 isolates ซึ่งจากการแยกราเอนโดไฟท์ทั้งหมดจากต้นส้มแขก ได้ทำการคัดเลือกไปทดสอบการสร้างสารต้านจุลินทรีย์รวมเป็นจำนวน 80 isolates

จากการแยกราเอนโดไฟท์จากต้นมะพูดจำนวน 2 ต้น โดยต้นที่ 1 จากวัดหินเกลี้ยง จ.สงขลา ทำการแยกเชื้อทั้งหมด 2 ครั้ง (1GD และ1Gd) พบว่าแยกได้เชื้อจากต้นมะพูดต้นที่ 1 จำนวน 344 isolates จึงทำการคัดเลือกไปทดสอบฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์เป็นจำนวน 80 isolates สำหรับต้นมะพูดต้นที่ 2 (2GD) จากวัดทรายขาว จ.สงขลา สามารถแยกราเอนโดไฟท์ได้ทั้งหมด 81 isolates แต่พบว่าราเอนโดไฟท์ที่แยกได้มีลักษณะ colony คล้ายกันเป็นส่วนใหญ่มีความหลากหลายน้อย จึงได้คำการคัดเลือกไปทดสอบเพียง 4 isolates รวมราเอนโดไฟท์จากต้นมะพูดที่นำไปทดสอบฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ทั้งหมด 84 isolates

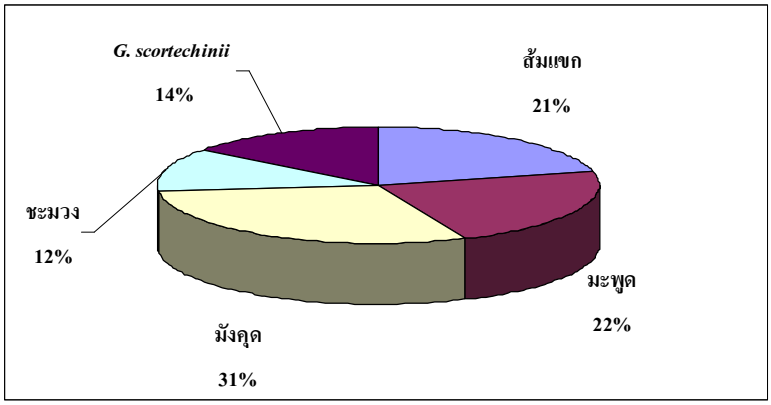
สำหรับตัวอย่างต้นชะมวง (*G. nigrolineata*) (1GN) และ *G. scortechinii* (1GS) จากเขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่าโตนงาช้าง จังหวัดสงขลา แยกได้ราเอนโดไฟท์ จำนวนใกล้เคียงกัน คือ 274 และ 257 isolates ตามลำดับ แต่เชื้อส่วนใหญ่มีลักษณะ colony คล้ายๆ กัน จึงทำการคัดเลือกเชื้อไปทดสอบต่อ ได้เพียง 47 และ 54 isolates ตามลำดับ

การแยกราเอนโดไฟท์ จากต้นมังคุดต้นที่ 1 (1GM) ซึ่งเก็บตัวอย่างต้นมังคุดจากแปลงเพาะปลูก คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ พบว่าได้จำนวนเชื้อทั้งหมด 184 isolates โดยพบว่าลักษณะ colony มีความหลากหลาย คัดเลือกได้ 48 isolates จึงได้ทำแยกเชื้อเพิ่มเติม โดยแยกจากต้นมังคุด จำนวน 2 ต้น จากสวนมังคุด ในจังหวัดสุราษฎร์ธานี ซึ่งพบว่าได้ผลในทำนองเดียวกัน คือแยกได้จำนวนมากใกล้เคียงกันคือ 166 (2GM) และ 165 isolates (3GM) ซึ่งจากต้นมังคุดต้นที่ 2 และ 3 นี้ได้ทำการเลือกราเอนโดไฟท์ที่มีลักษณะ colony ที่แตกต่างเป็นจำนวนต้นละ 32 isolates ไปทดสอบต่อ ซึ่งเมื่อรวมราเอนโดไฟท์ทั้งหมดจากต้นมังคุดที่นำไปทดสอบมีจำนวนเท่ากับ 112 isolates

ตารางที่ 3 จำนวนราเอนโดไฟท์ ที่แยกได้จากพืชสกุล *Garcinia* ชนิดต่างๆ

รายการ	พืชสกุล *Garcinia*										รวม
	ส้มแขก			มะพูด		มังคุด			ชะมวง	GS	
	1GA*	2GA	3GA	1GD&1Gd	2GD	1GM	2GM	3GM	1GN	1GS	
จำนวนเชื้อที่แยกได้	179	94	235	334	81	184	166	165	274	257	1,979
จำนวนเชื้อที่เลือกไปทดสอบ	31	10	39	80	4	48	32	32	47	54	377
รวม	80			84		112			47	54	

หมายเหตุ * = รหัสพืช (plant code) ตามตารางที่ 1



รูปที่ 19 ราเอนโดไฟท์ที่นำมาศึกษาฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ แบ่งตามพืชสกุล *Garcinia* ชนิดต่างๆ

3.2 การคัดเลือกราเอนโดไฟท์ ที่สามารถสร้างสารต้านจุลินทรีย์ด้วยวิธี agar well diffusion

จากการนำราเอนโดไฟท์ ที่แยกได้จากพืชสกุล *Garcinia* ที่มีลักษณะ colony แบบแตกต่างกัน ไปเพาะเลี้ยงในอาหาร PDB แล้วนำน้ำเลี้ยงเชื้อรา (culture broth) ที่อายุ 2 และ 3 สัปดาห์ไปทดสอบหาความสามารถในการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรค โดยวิธี agar well diffusion (รูปที่ 20-21) พบว่า จากราเอนโดไฟท์ ทั้งหมด 377 isolates มีเชื้อที่สามารถสร้างสารต้านจุลินทรีย์ก่อโรคชนิดใดชนิดหนึ่งที่นำมาทดสอบจำนวน 70 isolates (18.56%) (ตารางที่ 4)

เมื่อพิจารณาถึงความสามารถในการสร้างสารต้านจุลินทรีย์ของราเอนโดไฟท์ แยกตามชนิดของต้นไม้ในสกุล *Garcinia* พบว่าราเอนโดไฟท์จากต้นมังคุดสามารถสร้างสารต้านจุลินทรีย์ได้จำนวนมากที่สุดคือ 34 isolates จากทั้งหมด 70 isolates คิดเป็น 48.57% รองลงมาคือราเอนโดไฟท์จากต้นส้มแขก และมะพูด ที่สร้างสารต้านจุลินทรีย์ได้เป็นจำนวน 18 และ 15 isolates (25.71 และ 21.42% ตามลำดับ) ส่วนราเอนโดไฟท์จากต้นชะมวงและ *G. scortechinii* นั้นมีความสามารถในการสร้างสารต้านจุลินทรีย์ได้น้อย โดยพบเป็นจำนวน 2 และ 1 isolate เท่านั้น (4.26 และ 1.85% ตามลำดับ) (รูปที่ 22)

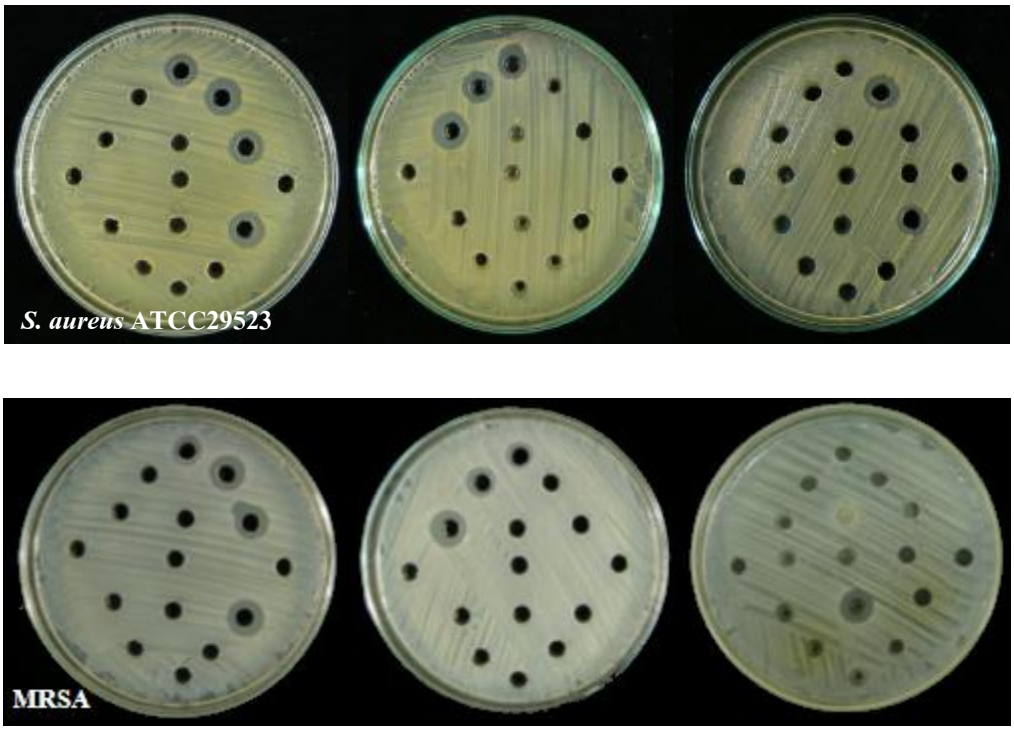
ราเอนโดไฟท์ที่สามารถสร้างสารยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ATCC 25923 และ methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) ได้ มีจำนวน 34 isolates (48.57%) โดยที่ราเอนโดไฟท์ส่วนใหญ่ แยกได้จากต้นมังคุด 15 isolates (44.11%) มีจำนวนใกล้เคียงกับราเอนโดไฟท์จากต้นมะพูด คือ 12 isolates (35.29%) จากต้นส้มแขก มีจำนวน 6 isolates (17.64%) และพบว่ามีราเอนโดไฟท์จากต้นชะมวงเพียง 1 isolate เท่านั้น (2.94%) และพบว่าไม่มีราเอนโดไฟท์จากต้น *G. scortechinii* ที่สร้างสารยับยั้ง *S. aureus* ATCC25923 และ MRSA ได้เลย (รูปที่ 23) สำหรับเชื้อ *C. albicans* ATCC 90028 มีราเอนโดไฟท์เพียง 3 isolates เท่านั้น (4.28%) ที่สามารถยับยั้งได้ เป็นราเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากต้นส้มแขกและมะพูด เป็นจำนวน 1 และ 2 isolates ตามลำดับ

ราเอนโดไฟท์สามารถยับยั้ง *C. neoformans* ATCC90012 ได้ มีจำนวน ทั้งหมด 37 isolates คิดเป็น 52.85% เมื่อแยกตามชนิดของพืช (รูปที่ 24) พบว่าราเอนโดไฟท์ส่วนใหญ่ มาจากต้นมังคุด เช่นเดียวกัน โดยมีจำนวน 24 isolates (64.86%) จากต้นส้มแขกมีจำนวน 11 isolates (29.27%) และจากต้นมะพูดและชะมวงมีเพียงต้นละ 1 isolate เท่านั้น ที่สามารถสร้างต้านจุลินทรีย์ได้ คิดเป็น 2.70% และพบว่าไม่มีราเอนโดไฟท์จากต้น *G. scortechinii* ที่สร้างสารยับยั้ง *C. neoformans* ATCC90012 ได้

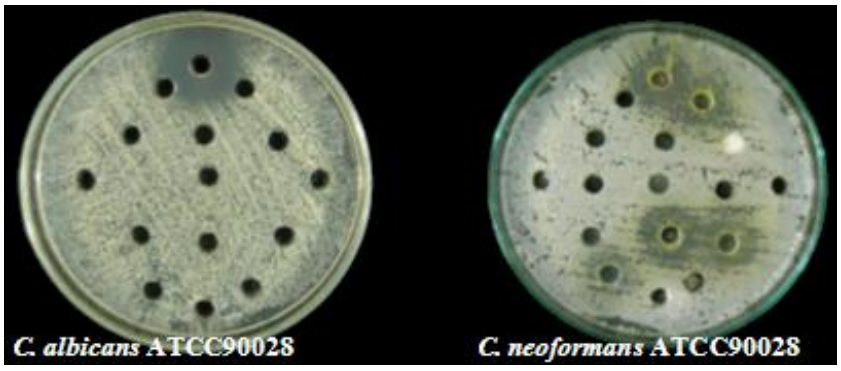
สำหรับ *E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* ATCC 27853 และ *M. gypseum* พบว่า ราเอนโดไฟท์จากพืชสกุล *Garcinia* ทุก isolates ที่นำมาทดสอบ ไม่สามารถยับยั้งเชื้อทั้ง 3 ชนิดนี้ ได้ (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 4 จำนวนราเอนโดไฟท์จากพืชสกุล *Garcinia* ชนิดต่างๆ ที่คัดเลือกไปทดสอบ และความสามารถของราเอนโดไฟท์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรค

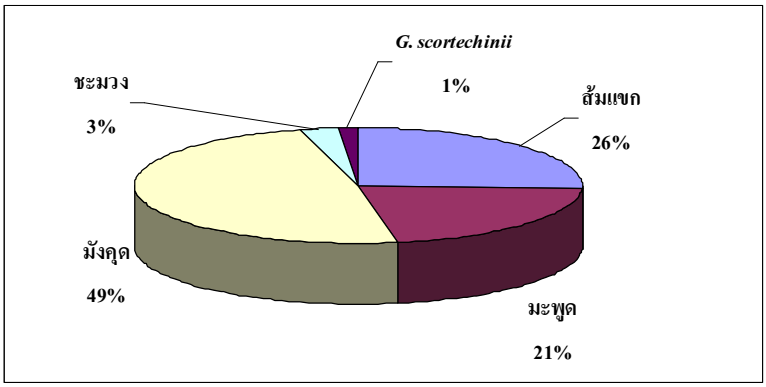
รายการ	จำนวนราเอนโดไฟท์จากพืชสกุล *Garcinia* (isolates)					รวม
	ส้มแขก	มะพูด	มังคุด	ชะมวง	*G. scortechinii*	
จำนวนราเอนโดไฟท์ ที่นำมาทดสอบ	80	84	112	47	54	377
การสร้างสารต้านจุลินทรีย์	18	15	34	2	1	70
% การสร้างสารต้านจุลินทรีย์ภายในพืชสกุล *Garcinia* ชนิดเดียวกัน	(22.50)	(17.86)	(30.35)	(4.26)	(1.85)	
% การสร้างสารต้านจุลินทรีย์จากราเอนโดไฟท์ที่สร้างสารต้านจุลินทรีย์ทั้งหมด (70 isolates)	(25.71)	(21.42)	(48.57)	(2.85)	(1.42)	(18.56)
การยับยั้ง *S. aureus* ATCC 29523 และ MRSA (%) (34 isolates)	6 (17.64)	12 (35.29)	15 (44.11)	1 (2.94)	0 (0.00)	34 (48.57)
การยับยั้ง *C. albicans* ATCC 90028 (%) (3 isolates)	1 (33.33)	2 (66.67)	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)	3 (4.28)
การยับยั้ง *C. neoformans* ATCC 90012 (%) (37 isolates)	11 (29.72)	1 (2.70)	24 (64.86)	1 (2.70)	0 (0.00)	37 (52.85)
การยับยั้ง *E. coli* ATCC25922, *P. aeruginosa* ATCC27853 และ *M. gypseum* (%)	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)



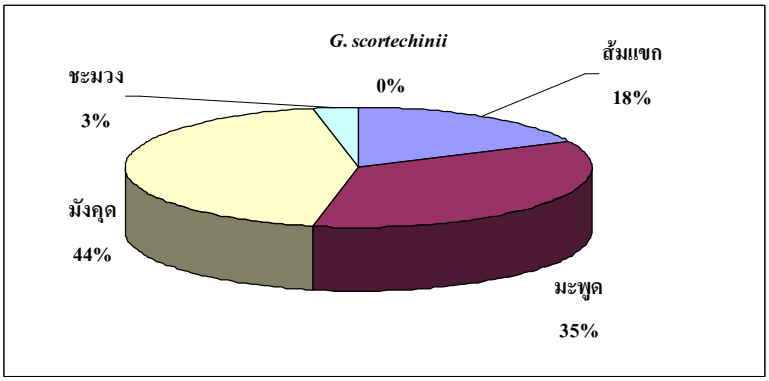
รูปที่ 20 ฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย *S. aureus* ATCC29523 (แถวบน) และ MRSA (แถวล่าง) จากน้ำเลี้ยงเชื้อราเอนโดไฟท์ ทดสอบโดยวิธี agar well diffusion



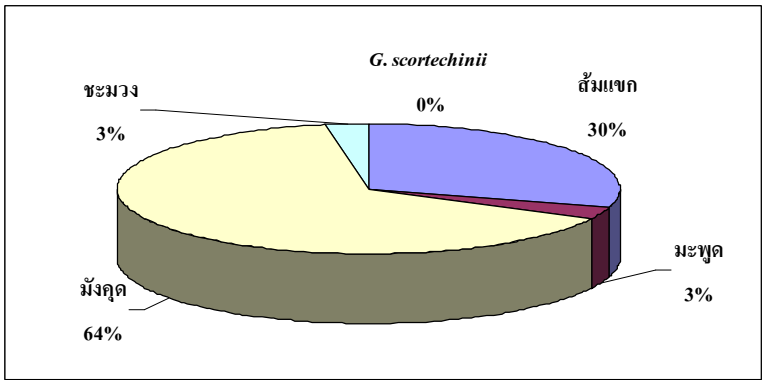
รูปที่ 21 ฤทธิ์ต้านยีสต์ *C. albicans* ATCC90028 (ซ้าย) *C. neoformans* ATCC90012 (ขวา) จากน้ำเลี้ยงเชื้อราเอนโดไฟท์ ทดสอบโดยวิธี agar well diffusion



รูปที่ 22 เปอร์เซ็นต์ของราเอนโดไฟท์ที่สร้างสารต้านจุลินทรีย์ แยกตามชนิดของพืชสกุล *Garcinia*



รูปที่ 23 เปอร์เซ็นต์ของราเอนโดไฟท์ที่สามารถยับยั้ง *S. aureus* ATCC29523 และ MRSA แยกตามชนิดของพืชสกุล *Garcinia*



รูปที่ 24 เปอร์เซ็นต์ของราเอนโดไฟท์ที่สามารถยับยั้ง *C. neoformans* ATCC90012 แยกตามชนิดของพืชสกุล *Garcinia*

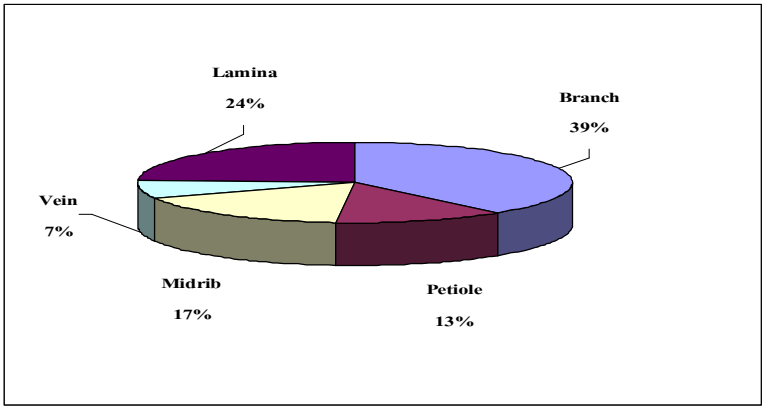
จากราเอนโดไฟท์ที่สร้างสารต้านจุลินทรีย์ทั้งหมด 70 isolates เมื่อพิจารณาจากส่วนต่างๆ ของพืชที่นำมาทำการแยกตัวอย่าง ซึ่งประกอบไปด้วย กิ่ง (branch), ก้านใบ (petiole), เส้นกลางใบ (midrib), เส้นใบ (vein) และ ผิวใบ (lamina) พบว่าราเอนโดไฟท์ที่สร้างสารต้านจุลินทรีย์ แยกได้จากทุกส่วนของพืชสกุล *Garcinia* ยกเว้นชะมวง และ *G. schortechinii* ซึ่งพบจำนวนน้อยมีเพียง 2 isolates จากส่วนกิ่งและ 1 isolate จากเส้นกลางใบ ตามลำดับ โดยพบว่าราเอนโดไฟท์ที่สร้างสารต้านจุลินทรีย์ส่วนใหญ่สามารถแยกได้จากส่วนกิ่งมากที่สุดคือ 27 isolates คิดเป็น (38.57%) ส่วนอื่นๆ ของพืชที่พบรองลงมาคือผิวใบ 17 isolates (24.48%), เส้นกลางใบ 12 isolates (17.14%), ก้านใบ 9 isolates (12.85%) และจากเส้นใบ มีการพบน้อยที่สุดคือ 5 isolates (7.14%) (ตารางที่ 5 และรูปที่ 25)

ตารางที่ 5 แหล่งของราเอนโดไฟท์ที่สร้างสารต้านจุลินทรีย์ ที่แยกได้จากส่วนต่างๆ ของพืชสกุล *Garcinia*

พืชสกุล *Garcinia*	ชิ้นส่วนของพืชที่นำมาแยกราเอนโดไฟท์					
	B	P	M	V	L	รวม
ส้มแขก	10	1	4	0	3	18
มะพูด	3	3	1	3	5	15
มังคุด	12	5	6	2	9	34
ชะมวง	2	0	0	0	0	2
GS	0	0	1	0	0	1
รวม	27	9	12	5	17	70
% ราเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากส่วนต่างๆ ของพืช	38.57	12.85	17.14	7.14	24.28	

B = กิ่ง (branch) P = ก้านใบ (petiole)

M = เส้นกลางใบ (midrib) V = เส้นใบ (vein) L = ผิวใบ (lamina)



รูปที่ 25 เปอร์เซ็นต์ของราเอนโดไฟท์ ที่สร้างสารต้านจุลินทรีย์ แยกตามส่วนต่างๆ ของพืช ที่นำมาแยก

เมื่อพิจารณาถึงราเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากพืชสกุล *Garcinia* แต่ละชนิด พบว่าราเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากต้นส้มแขก 18 isolates จาก 80 isolates (22.50%) (ตารางที่ 6) ที่สามารถสร้างสารต้านจุลินทรีย์ได้ โดยมีเพียง 1 isolate ที่ยับยั้ง *C. albicans* ATCC90028 ได้ คือ A59 แต่เกิดการยับยั้งไม่สมบูรณ์ และมีจำนวน 11 isolates ที่ยับยั้ง *C. neoformans* ATCC90012 ได้ โดยแบ่งเป็น 7 isolates สามารถยับยั้งได้อย่างสมบูรณ์ และ 4 isolates ยับยั้งได้เพียงบางส่วนเท่านั้น จึงเกิดเป็น inhibition zone จางๆ โดยพบว่ามีขนาด inhibition zone กว้างตั้งแต่ 9.00-15.57 mm และยังพบว่าราเอนโดไฟท์ ทั้ง 6 isolates สามารถยับยั้ง ได้ทั้ง *S. aureus* ATCC29523 และ MRSA แต่ isolate A2 สามารถสร้างสารต้านจุลินทรีย์ได้เมื่อเลี้ยงนาน 4 สัปดาห์ ในขณะที่ ราเอนโดไฟท์ isolate อื่นๆ จะสร้างสารในสัปดาห์ที่ 2 หรือ 3

สำหรับราเอนโดไฟท์ จากต้นมะพูด สามารถสร้างสารต้านจุลินทรีย์ได้จำนวน 15 isolates จาก 84 isolates (17.86%) (ตารางที่ 7) โดยพบว่าสามารถยับยั้ง *C. albicans* ATCC90028 ได้จำนวน 2 isolates โดยมี inhibition zone ขนาด 12.38 และ 17.90 mm และมีเพียง 1 isolates ที่สามารถยับยั้ง *C. neoformans* ATCC90012 โดยไม่สามารถยับยั้งได้อย่างสมบูรณ์ แต่ปรากฏเป็น inhibition zone ที่มีเชื้อขึ้นเป็น colony จางๆ นอกจากนี้ยังพบว่ามีเชื้อถึง 12 isolates ที่สามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ATCC29523 ได้ และมี 10 isolates ที่สามารถยับยั้ง MRSA ได้ โดยมี inhibition zone อยู่ระหว่าง 9.10-11.85 mm และ 8.35-12.38 mm ตามลำดับ สำหรับเชื้อ ราเอนโดไฟท์ D9, D11, D12 และ D15 พบว่ามีการยับยั้งไม่ชัดเจน ราเอนโดไฟท์ที่สร้างสารต้านจุลินทรีย์ เห็นวงใสได้ชัดเจนที่สุดคือ D2 ซึ่งมี inhibition zone กว้าง 11.85 และ 12.38 mm และสามารถยับยั้งได้ทั้ง *S. aureus* ATCC29523 และ MRSA

ราเอนโดไฟท์จากต้นมังคุดสามารถสร้างสารต้านจุลินทรีย์ได้มากที่สุด 34 isolates จากทั้งหมด 112 isolates (30.35%) (ตารางที่ 8) ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์เชื้อที่สร้างสารต้านจุลินทรีย์มากที่สุด

เมื่อเปรียบเทียบกับราเอนโดไฟท์ ที่แยกจาก *Garcinia* ชนิดอื่นๆ มีราเอนโดไฟท์ ทั้งหมด 15 isolates ที่สามารถยับยั้ง *S. aureus* ATCC90023 และ MRSA ได้ โดยจำนวน 13 isolates ที่สามารถยับยั้งได้ทั้งสองชนิด โดยมีค่า inhibition zone อยู่ในช่วง 7.40-11.73 mm ซึ่งราเอนโดไฟท์ ที่มีความสามารถในการยับยั้งมากที่สุดในกลุ่มนี้คือ M80 ที่สามารถทำให้เกิด inhibition zone ต่อ *S. aureus* ATCC29523 และ MRSA เท่ากับ 11.73 และ 10.15 mm ตามลำดับ ส่วน M106 สามารถยับยั้งได้เฉพาะ *S. aureus* ATCC29523 และ M76 ยับยั้งเฉพาะ MRSA เท่านั้น โดยมีค่า inhibition zone เท่ากับ 8.75 และ 7.65 mm ตามลำดับ สำหรับเชื้อ *C. neoformans* ATCC90012 พบว่ามีราเอนโดไฟท์ 19 isolates ที่แสดงการยับยั้งได้ แต่มีเพียง 2 isolate เท่านั้นที่สามารถยับยั้งได้อย่างสมบูรณ์คือ M42 และ M47 ส่วนอีก 17 isolates แสดงการยับยั้งบางส่วนเท่านั้น โดย inhibition zone ที่ได้มี colony ขึ้นจางๆ มีค่าอยู่ระหว่าง 9.00-19.00 mm

ราเอนโดไฟท์จากต้นชะมวงทั้งหมด 47 isolates มีเพียง 2 isolates (4.26%) ที่แสดงความสามารถในการยับยั้งจุลินทรีย์ โดย isolate N24 สามารถยับยั้งได้ทั้ง *S. aureus* ATCC29523 และ MRSA มีขนาด inhibition zone เท่ากับ 16.63 และ 18.53 mm ตามลำดับ และ N41 สามารถยับยั้ง *C. neoformans* ATCC90012 ได้ แต่พบว่าทั้งสอง isolates ไม่สามารถยับยั้งจุลินทรีย์ได้อย่างสมบูรณ์ (ตารางที่ 9) และในทำนองเดียวกันจากต้น *G. scortechinii* พบว่ามี ราเอนโดไฟท์ เพียง 1 isolate เท่านั้นจาก 54 isolates (1.85%) คือ S32 ที่สามารถสร้างสารต้านจุลินทรีย์ได้ โดยสามารถยับยั้งได้เฉพาะ *S. aureus* ATCC25923 ได้ในสัปดาห์ที่ 3 ของการเลี้ยง แต่พบว่าการยับยั้งที่เกิดขึ้นยังไม่สมบูรณ์ (ตารางที่ 10) สำหรับการทดสอบควบคุมในครั้งนี้ใช้ยาต้านจุลินทรีย์มาตรฐาน vancomycin สำหรับเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* ATCC25922 และ MRSA ซึ่งให้ค่าเส้นผ่านศูนย์กลางของ inhibition zone อยู่ในช่วง 15.60-17.60 mm และใช้ยา gentamicin สำหรับเชื้อแบคทีเรีย *E. coli* ATCC25923 และ *P. aeruginosa* ATCC27853 ให้ค่าอยู่ในช่วง 19.90-23.10 mm และสำหรับเชื้อยีสต์ *C. albicans* ATCC90028 และ *C. neoformans* ATCC90012 ใช้ยา amphotericin B ซึ่งให้ค่าเส้นผ่านศูนย์กลาง inhibition zone เท่ากับ 15.20-17.03 mm และสำหรับเชื้อรา *M. gypseum* เมื่อทดสอบกับยา miconazole พบว่าเกิดการยับยั้งเชื้อราได้ สามารถแปลผลได้ว่า เชื้อจุลินทรีย์ที่นำมาทดสอบไวต่อยามาตรฐาน

ตารางที่ 6 ฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ของน้ำเลี้ยงราเอนโดไฟท์อายุ 2 และ 3 สัปดาห์ ที่แยกได้จากต้นส้มแขก (*G. atroviridis*) ทดสอบโดยวิธี agar well diffusion

ราเอนโดไฟท์	รหัสราเอนโดไฟท์	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของ Inhibition zone diameter (mm) ในช่วงสัปดาห์ที่ 2 และ 3													
		SA		MRSA		PA		EC		CA28		CN12		MG	
		2	3	2	3	2	3	2	3	2	3	2	3	2	3
1GA4 B9	A1											13.23	15.57		
1GA2 B13	A2		13.35*		17.65*										
1GA1 B9	A3	14.00	#	17.38	13.65										
1GA3 B11	A4	9.10		8.45											
1GA4 B12	A5	10.80		10.23											
3GA4 B20	A42												12.00		
3GA2 P3	A43												11.00		
3GA4 B7	A52	8.10		8.20											
3GA4 L1	A55												14.80		
3GA5 M4	A56												13.00		
3GA5 B11	A58												12.00		
3GA4B17	A59									11.23#					
3GA2 M6	A66												9.00		
3GA5 M6	A68												14.00#		
3GA5B14/3GA4 B26	A67/A71**												15.00#		
3GA1 L1	A73												15.00#		
3GA5 M5	A78												12.25#		
3GA5 L10	A79		#		#										

SA = *Staphylococcus aureus* ATCC25923 MRSA = methicillin-resistant *S. aureus* sk1 PA= *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853 EC = *Escherichia coli* ATCC25922

CA28 = *Candida albicans* ATCC90028 CN12 = *Cryptococcus neoformans* ATCC90112 MG = *Microsporum gypseum*

หมายเหตุ ทำอย่างละสองซ้ำ , * = ผลใน week ที่ 4, #= Inhibition zone จางๆ ** = จาก NMR profile พบว่าสารสกัดจาก A67 และ A71 เป็นชนิดเดียวกัน

ตารางที่ 7 ฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ของน้ำเลี้ยงราเอนโดไฟท์อายุ 2 และ 3 สัปดาห์ ที่แยกได้จากต้นมะพูด (*G. dulcis*) ทดสอบโดยวิธี agar well diffusion

ราเอนโดไฟท์	รหัสราเอนโดไฟท์	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของ Inhibition zone diameter (mm) ในช่วงสัปดาห์ที่ 2 และ 3													
		SA		MRSA		PA		EC		CA28		CN12		MG	
		2	3	2	3	2	3	2	3	2	3	2	3	2	3
1GD4 B2	D1									12.38					
1GD2 P3	D2	11.85	9.43	12.38											
1Gd1 L1	D3	9.10		8.35											
1Gd1 V1	D4	10.45		9.85											
1Gd2 V1	D5	10.00		9.65											
1Gd3 L4	D6	10.53		10.73											
1Gd4 V4	D7	9.10		8.73											
1Gd4 M3	D8	9.38		9.18											
1Gd4 L1	D9		#*		#*										
1Gd4 L2	D10	10.93		11.43											
1Gd2 B4	D11		9.18*		#*										
1Gd3 L2	D12		#*												
1Gd4 B12	D13												#*		
1Gd4 P6	D14									17.90					
1Gd4 P7	D15		#*												

SA = *Staphylococcus aureus* ATCC25923 MRSA = methicillin-resistant *S. aureus* sk1 PA= *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853 EC = *Escherichia coli* ATCC25922

CA28 = *Candida albicans* ATCC90028 CN12 = *Cryptococcus neoformans* ATCC90112 MG = *Microsporum gypseum*

หมายเหตุ ทำอย่างละสองซ้ำ , * = ผลใน week ที่ 4, #= Inhibition zone จางๆ

ตารางที่ 8 ฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ของน้ำเลี้ยงราเอนโดไฟท์อายุ 2 และ 3 สัปดาห์ ที่แยกได้จากต้นมังคุด (*G. mangostana*) ทดสอบโดยวิธี agar well diffusion

ราเอนโดไฟท์	รหัสราเอนโดไฟท์	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของ Inhibition zone diameter (mm) ในช่วงสัปดาห์ที่ 2 และ 3													
		SA		MRSA		PA		EC		CA28		CN12		MG	
		2	3	2	3	2	3	2	3	2	3	2	3	2	3
1GM2 L8	M1	7.45		7.6											
1GM5 L1	M2	8.68		8.68									9.00#		
1GM2 B9	M8												15.00#		
1GM4 P1	M10	9.70		9.53											
1GM3 P2	M16	8.40		8.20											
1GM4 P5	M17												14.00#		
1GM5 L4	M19	11.08		10.05									15.00#		
1GM2 B8	M27												19.00#		
1GM5 P3	M29	9.13		8.23									16.00#		
1GM1 B9	M30												15.00#		
1GM3 B9	M41	7.93		8.68											
1GM3 M2	M42												15.75		
1GM4 B4	M46												12.00#		
1GM3 B5	M47												12.5		
2GM2 B11	M71											#			
2GM5 M5	M72											#			
2GM2 B9	M76				8.75										

SA = *Staphylococcus aureus* ATCC25923 MRSA = methicillin-resistant *S. aureus* sk1 PA= *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853 EC = *Escherichia coli* ATCC25922

CA28 = *Candida albicans* ATCC90028 CN12 = *Cryptococcus neoformans* ATCC90112 MG = *Microsporum gypseum*

หมายเหตุ ทำอย่างละสองซ้ำ , * = ผลใน week ที่ 4, #= Inhibition zone จางๆ

ตารางที่ 8 (ต่อ)

ราเอนโดไฟท์	รหัสราเอนโดไฟท์	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของ Inhibition zone diameter (mm) ในช่วงสัปดาห์ที่ 2 และ 3													
		SA		MRSA		PA		EC		CA28		CN12		MG	
		2	3	2	3	2	3	2	3	2	3	2	3	2	3
2GM3 P3	M79												#		
2GM2 V5	M80	11.73		10.15											
2GM1 B7	M81											#			
2GM3 B11	M86												#		
2GM2 B12	M87												#		
2GM3 B8	M88												#		
2GM5 M4	M89												#		
3GM3 V2	M101		7.63		7.50							#			
3GM3 L1	M102		8.38		8.08							#			
3GM3 L5	M103											#			
3GM3 L2	M104		7.50		7.40										
3GM1 L2	M106		7.65												
3GM3 L6	M107		9.85		9.40										
3GM3 L3	M113		7.35		7.05										
3GM1 M1	M117											#			
3GM5 M7	M118											#			
3GM5 M1	M130											#			

SA = *Staphylococcus aureus* ATCC25923 MRSA = methicillin-resistant *S. aureus* sk1 PA= *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853 EC = *Escherichia coli* ATCC25922

CA28 = *Candida albicans* ATCC90028 CN12 = *Cryptococcus neoformans* ATCC90112 MG = *Microsporum gypseum*

หมายเหตุ ทำอย่างละสองซ้ำ , * = ผลใน week ที่ 4, #= Inhibition zone จางๆ

ตารางที่ 9 ฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ของน้ำเลี้ยงราเอนโดไฟท์อายุ 2 และ 3 สัปดาห์ ที่แยกได้จากต้นชะมวง (*G. nigrolineata*) ทดสอบโดยวิธี agar well diffusion

ราเอนโดไฟท์	รหัสราเอนโดไฟท์	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของ Inhibition zone diameter (mm) ในช่วงสัปดาห์ที่ 2 และ 3													
		SA		MRSA		PA		EC		CA28		CN12		MG	
		2	3	2	3	2	3	2	3	2	3	2	3	2	3
1GN3 B16	N24	16.63#	#	18.53#											
1GN5 B27	N41										#				

SA = *Staphylococcus aureus* ATCC25923 MRSA = methicillin-resistant *S. aureus* sk1 PA= *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853 EC = *Escherichia coli* ATCC25922

CA28 = *Candida albicans* ATCC90028 CN12 = *Cryptococcus neoformans* ATCC90112 MG = *Microsporum gypseum*

หมายเหตุ ทำอย่างละสองซ้ำ , * = ผลใน week ที่ 4, #= Inhibition zone จางๆ

ตารางที่ 10 ฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ของน้ำเลี้ยงราเอนโดไฟท์อายุ 2 และ 3 สัปดาห์ ที่แยกได้จากต้น *G. scortechinii* ทดสอบโดยวิธี agar well diffusion

ราเอนโดไฟท์	รหัสราเอนโดไฟท์	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของ Inhibition zone diameter (mm) ในช่วงสัปดาห์ที่ 2 และ 3													
		SA		MRSA		PA		EC		CA28		CN12		MG	
		2	3	2	3	2	3	2	3	2	3	2	3	2	3
1GS3 M2	S32		#												
Vancomycin	30 µg/disc	17.60	17.00	16.50	15.60										
Gentamicin	10 µg /disc					23.10	21.00	19.90	21.00						
Amphotericin B	10 µg/ disc									17.03	16.85	15.2	15.35		
Miconazole	30 µg /disc													+	

SA = *Staphylococcus aureus* ATCC25923 MRSA = methicillin-resistant *S. aureus* sk1 PA= *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853 EC = *Escherichia coli* ATCC25922

CA28 = *Candida albicans* ATCC90028 CN12 = *Cryptococcus neoformans* ATCC90112 MG = *Microsporum gypseum*

หมายเหตุ ทำอย่างละสองซ้ำ

3.3 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ของสารสกัดราเอนโดไฟท์

จากการนำน้ำเลี้ยงเชื้อ ราเอนโดไฟท์ ที่ทดสอบแล้วพบว่ามีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์เมื่อทดสอบโดยวิธี agar well diffusion และเส้นใยของราเอนโดไฟท์บาง isolate ไปสกัดด้วยวิธีทางเคมี แล้วนำสารสกัดหยาบที่ได้มาทดสอบเบื้องต้น โดยวิธี agar disk diffusion และหาค่า minimal inhibitory concentration (MIC) โดยวิธี agar microdilution ผลแสดงในตารางที่ 11 พบว่าราเอนโดไฟท์ 70 isolates ที่เกิดผลการยับยั้งด้วยวิธี agar well diffusion เมื่อทดสอบกับแบคทีเรีย *S. aureus* ATCC25923 และ MRSA และยีสต์ *C. albicans* ATCC90028 และ *C. neoformans* ATCC90012 มีสารสกัดหยาบเชื้อรา 20 isolates (28.57%) รวม 33 สารสกัด ที่สามารถยับยั้งเชื้อทดสอบชนิดใดชนิดหนึ่งได้

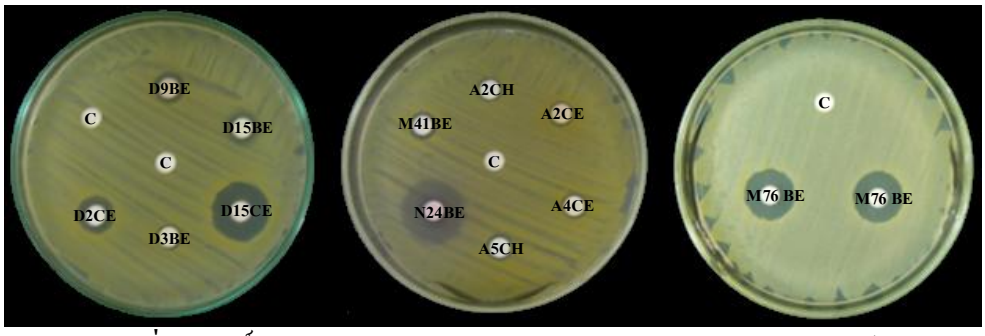
สารสกัดจำนวน 18 สาร มีผลต่อ *S. aureus* ATCC25923 โดยให้ค่า inhibition zone อยู่ในช่วง 7.48-18.05 mm (รูปที่ 26) และค่า MIC กระจายอยู่ในช่วงตั้งแต่ 32-512 µg/ml สำหรับเชื้อ MRSA พบว่ามี 9 สารสกัดสามารถยับยั้ง MRSA ได้บางส่วนจนถึงยับยั้งได้อย่างสมบูรณ์ โดยให้ค่า inhibition zone อยู่ในช่วง 9.55-20.00 mm (รูปที่ 27) และค่า MIC อยู่ในช่วง 64-500 µg/ml โดยมีสารสกัดจากราเอนโดไฟท์ 2 isolates ที่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทั้งสองชนิดได้ดีคือ สารสกัด D15CE ที่สกัดจากเส้นใยราเอนโดไฟท์ D15 ด้วย EtOAc และ M76BE ที่สกัดจากน้ำเลี้ยงเชื้อรา M76 ด้วย EtOAc มีค่า inhibition zone กว้างมากที่สุดคือ 18.05, 14.25 และ 15.58, 17.50 mm ตามลำดับ และให้ค่า MIC ต่ำกว่าสารสกัดอื่นๆ ในกลุ่มเดียวกันสำหรับ *S. aureus* ATCC25923 และ MRSA เท่ากับ 32 และ 64 µg/ml ตามลำดับ (ตารางที่ 11) และสารสกัดจากน้ำเลี้ยงเชื้อรา N24 ที่สกัดด้วย EtOAc (N24BE) ให้ค่า inhibition zone ที่กว้างประมาณ 20 mm แต่ไม่ชัดเจน และไม่เกิดการยับยั้งอย่างสมบูรณ์ แต่สารสกัดชนิดนี้สามารถยับยั้งทั้ง *S. aureus* ATCC25923 และ MRSA ได้ โดยให้ค่า MIC เท่ากับ 128 และ 256 µg/ml ตามลำดับ ส่วนสารสกัดหยาบจากน้ำเลี้ยงเชื้อราเอนโดไฟท์ D44 มีฤทธิ์ในการยับยั้ง *S. aureus* ATCC90023 และ MRSA ต่ำ โดยให้ค่า MIC เท่ากับ 500 µg/ml แต่พบว่าน้ำเลี้ยงเชื้อรา D44 มี NMR profile น่าสนใจ จึงทำการแยกสารสกัดหยาบจนได้สารบริสุทธิ์ทั้งหมด 7 สาร แล้วนำสารบริสุทธิ์กลับมาทดสอบพบว่า มีฤทธิ์ต้าน *S. aureus* ATCC25923 และ MRSA ได้ดีขึ้น โดยให้ค่า MIC ต่ำลงอยู่ในช่วง 32->128 µg/ml สำหรับยาต้านจุลินทรีย์มาตรฐานที่ใช้คือ vancomycin ให้ค่า inhibition zone เท่ากับ 17.45 และ 14.15 mm และให้ค่า MIC เท่ากับ 1 และ 2 µg/ml ตามลำดับ ชุดควบคุมทำการทดสอบโดยใช้ DMSO (C) พบว่าไม่ทำให้เกิด inhibition zone กับเชื้อทดสอบชนิดใดเลย

สำหรับยีสต์ *C. albicans* ATCC90028 พบว่ามีสารสกัด 3 ชนิด คือ D14BE, D14CE และ A59BE ที่สามารถยับยั้งได้ โดยที่สารทั้ง 3 ชนิด ไม่สามารถทำให้เกิด inhibition zone ที่ชัดเจนได้

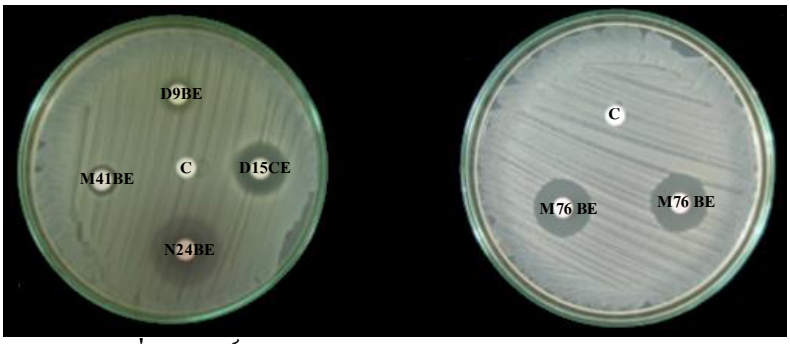
จึงเกิดเป็นบริเวณใสจางๆ รอบๆ disc (รูปที่ 28) แต่เมื่อนำไปหาค่าการยับยั้ง พบว่าสามารถให้ค่า MIC เท่ากับ 128, 200 และ 200 µg/ml ตามลำดับ

เมื่อนำสารสกัดไปทดสอบกับ *C. neoformans* ATCC90012 พบว่าสารทั้ง 4 สาร คือ D13BE, A1BE, A1CE และ A67+A71BE สามารถยับยั้งจนเกิด inhibition zone ที่ชัดเจนได้ (8.05-19.08 mm) โดยสารสกัด A1BE และ A1CE ให้ค่า inhibition zone กว้างมากที่สุด เท่ากับ 19.08 และ 15.68 mm ตามลำดับ และเมื่อนำไปหาค่า MIC ก็พบว่าสารสกัดทั้ง 2 สารมีค่า MIC ค่อนข้างต่ำเมื่อเทียบกับสารอื่นๆ คือมีค่าเท่ากับ 64 µg/ml สำหรับยาต้านจุลินทรีย์มาตรฐานที่ใช้กับเชื้อ *C. albicans* ATCC90028 และ *C. neoformans* ATCC90012 คือยา amphotericin B ทำให้เกิด inhibition zone เท่ากับ 17.25 และ 17.48 mm และค่า MIC เท่ากับ 0.5 และ 1 µg/ml ตามลำดับ

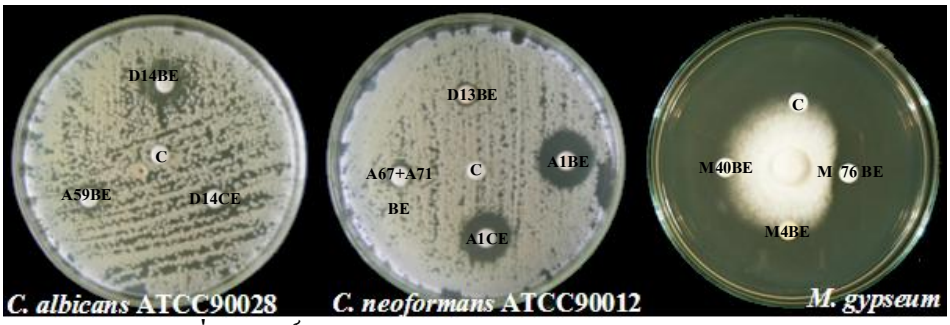
สำหรับการทดสอบกับเชื้อรา *M. gypseum* นั้น ในการทดสอบเบื้องต้นกับน้ำเลี้ยงเชื้อราเอนโดไฟท์ ใช้วิธี hyphal extension inhibition ไม่พบว่ามีราเอนโดไฟท์ตัวใดที่สามารถยับยั้งได้ อย่างไรก็ตาม ได้นำสารสกัดจากราเอนโดไฟท์ 41 ชนิด รวมทั้ง N24 และ M76 ที่มี NMR profile ที่น่าสนใจมาทดสอบอีกครั้ง พบว่ามีสารสกัด 9 สาร จากเชื้อรา 7 isolates คือ A71BE, D2CH, D38BE, M5BE, M76BE, M76CH, M76CE, N24BE และ N28BE ที่สามารถยับยั้งเชื้อ *M. gypseum* ได้มีค่า MIC อยู่ในช่วง 2-64 µg/ml โดยสารสกัด M76BE ให้ค่า MIC ต่ำสุด เท่ากับ 2 µg/ml ส่วนยาต้านรามาตรฐาน miconazole ให้ค่า MIC เท่ากับ 1 µg/ml



รูปที่ 26 ฤทธิ์ต้าน *S. aureus* ATCC29523 ของสารสกัดจากราเอนโดไฟท์



รูปที่ 27 ฤทธิ์ต้าน MRSA ของสารสกัดจากราเอนโดไฟท์



รูปที่ 28 ฤทธิ์ต้านยีสต์และรา ของสารสกัดจากราเอนโดไฟท์

ตารางที่ 11 เส้นผ่านศูนย์กลางของ inhibition zone และค่า MIC ของสารสกัดจากน้ำเลี้ยงเชื้อและเส้นใยราเอนโดไฟท์ ต่อจุลินทรีย์ก่อโรค

ราเอนโดไฟท์	สารสกัด	เส้นผ่านศูนย์กลางของ inhibition zone (mm) และค่า MIC (µg/ml)									
		SA		MRSA		CA28		CN12		MG	
		IZ	MIC	IZ	MIC	IZ	MIC	IZ	MIC	Inh	MIC
D2	CE	9.58	128 #		ND						
	CH									+	16
D3	BE	8.05	512		ND						
D9	BE	10.25	256	*	256						
D15	BE	11.75	512 #		ND						
	CE	18.05	32	14.25	64						
D44	crude	ND	500	ND	500						
	2D44A-2	ND	128	ND	128						
	2D44A-3	ND	64	ND	128						
	2D44B	ND	32	ND	128						
	2D44E (16)	ND	128	ND	>128						
	P17-18 (3)	ND	$	ND	$						
	2D44-19P2	ND	128	ND	>128						
	RE-P2	ND	>128	ND	>128						
A2	CH	8.58	256		ND						
	CE	8.13	256 #		ND						
A4	CE	7.48	256*		ND						
A5	CH	8.18	256*		ND						
N24	BE	20.00*	128	20.00*	256					+	4
M41	BE	9.05	128	9.55	128						

* = colony ขึ้นจางๆ # = ความเข้มข้นถัดไป เชื้อขึ้นจางๆ Inhibition แบ่งเป็น 3 ระดับ, + = IZ <1 mm, ++ = IZ >1-3 mm, +++ = IZ >4 mm

SA = *Staphylococcus aureus*ATCC25923, MRSA = methicillin-resistant *S. aureus* sk1, CA28 = *Candida aibicans* ATCC90028, CN12 = *Cryptococcus neoformans* ATCC90112, MG = *Microsporum gymseum*

BE = Broth ethyl acetate CH = Cell hexane CE = Cell ethyl acetate $ = สาร P17-P18(3) มีปริมาณน้อย จึงไม่ได้ทำการทดสอบ

ตารางที่ 11 เส้นผ่านศูนย์กลางของ inhibition zone และค่า MIC ของสารสกัดจากน้ำเลี้ยงเชื้อและเส้นใยราเอนโดไฟท์ ต่อจุลินทรีย์ก่อโรค (ต่อ)

ราเอนโดไฟท์	สารสกัด	เส้นผ่านศูนย์กลางของ inhibition zone (mm) และค่า MIC (µg/ml)									
		SA		MRSA		CA28		CN12		MG	
		IZ	MIC	IZ	MIC	IZ	MIC	IZ	MIC	Inh	MIC
M76	BE	15.85	32	17.50	64					+++	2
	CE									++	32
	CH									+++	16
	Vancomycin	17.45	1	14.15	2						
D14	BE					*	128				
	CE					*	200				
A59	BE					*	200				
	Amphotericin B					17.25	0.5				
D13	BE							8.08	>128		
A1	BE							19.08	64#		
	CE							15.68	64#		
A67+A71**	BE							8.05	>128	+++	8
	Amphotericin B							16.48	1		
D38	BE									+	16
M5	BE									+	64
N28	BE									+	16
	Miconazole									+++	1

* = colony ขึ้นจางๆ # = ความเข้มข้นถัดไป เชื้อขึ้นจางๆ Inhibition แบ่งเป็น 3 ระดับ, + = IZ <1 mm, ++ = IZ >1-3 mm, +++ = IZ >4 mm

SA = *Staphylococcus aureus*ATCC25923, MRSA = methicillin-resistant *S. aureus* sk1, CA28 = *Candida aibicans* ATCC90028, CN12 = *Cryptococcus neoformans* ATCC90112, MG = *Microsporum gymseum*

BE = Broth ethyl acetate CH = Cell hexane CE = Cell ethyl acetate ** = จาก NMR profile พบว่าสารสกัดจาก A67 และ A71 เป็นชนิดเดียวกัน

3.4 การจัดจำแนกราเอนโดไฟท์ โดยใช้ข้อมูลจากลักษณะทางสัณฐานวิทยา (morphology identification)

ราเอนโดไฟท์ทั้ง 22 isolates ที่คัดเลือกไว้ เมื่อทำการเลี้ยงบนอาหาร PDA เมื่อมีอายุ 7-14 วัน พบว่ามีลักษณะ colony และลักษณะของเส้นใยดังตารางที่ 12 และรูปที่ 29-32 โดยเชื้อทุก isolates มีเส้นใยแบบมีผนังกั้น ใสไม่มีสี (hyaline) ยกเว้นราเอนโดไฟท์ A4, A5, D3, D9 และ D12 ที่มีเส้นใยสีน้ำตาล จัดเป็น dematiaceous fungi ราเอนโดไฟท์ส่วนใหญ่ไม่สร้างโครงสร้างการสืบพันธุ์ หรือ spore มีเพียงราเอนโดไฟท์ D2 ที่สร้าง conidia สีดำ แบบ *Aspergillus*, A2, A67 และ A71 มี conidia แบบ *Penicillium* ส่วน A1 และ M41 มี conidia แบบ *Fusarium*

ตารางที่ 12 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของราเอนโดไฟท์ 22 isolates ที่มีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ หรือสร้างสารที่มี NMR profile น่าสนใจ

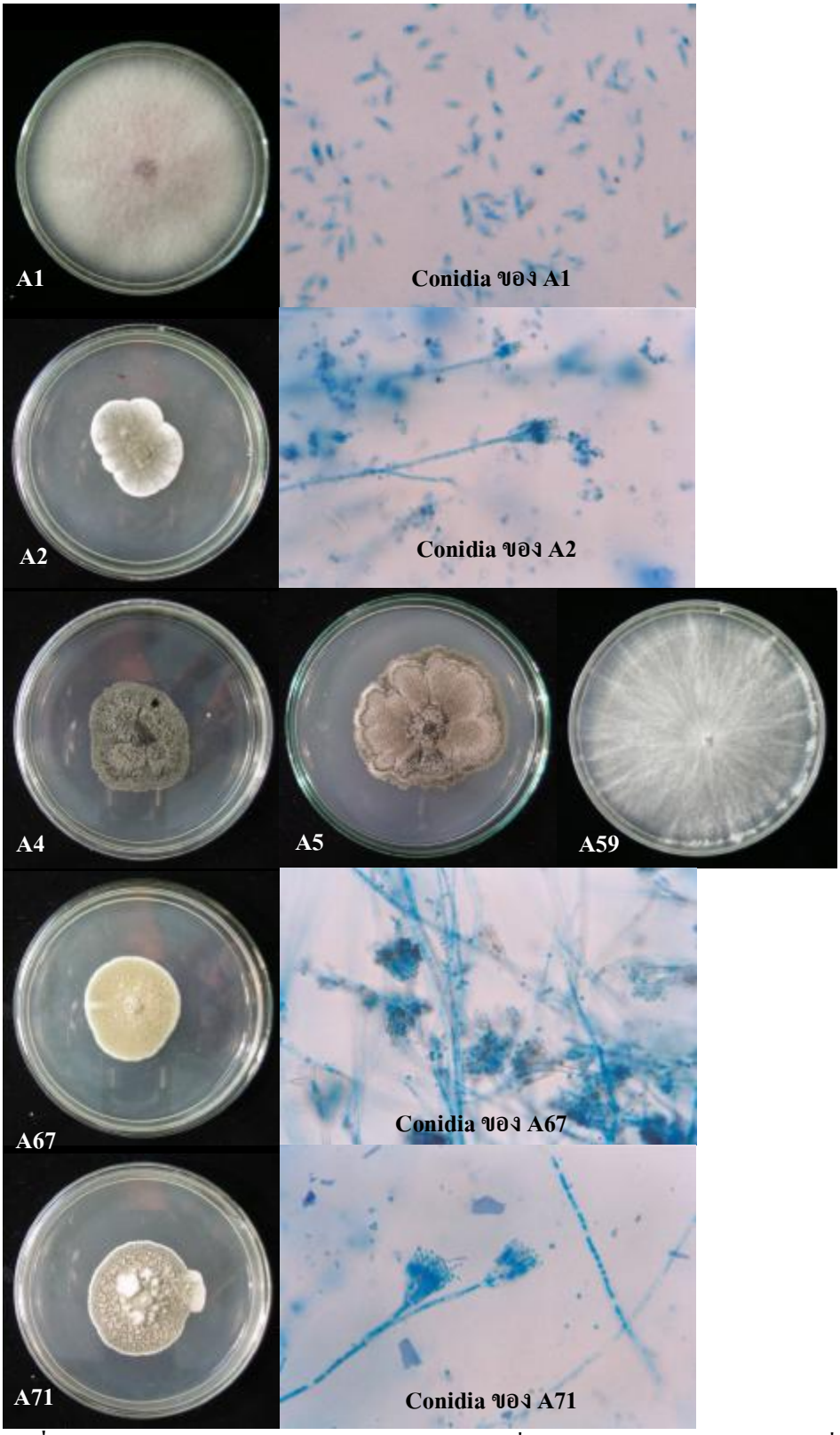
ราเอนโด-ไฟท์	ลักษณะ colony	GR	สีของเส้นใย	โครงสร้างการสืบพันธุ์	รูปที่	AM	NMR
A1	สีขาวฟู เมื่อแก่ เป็นสีชมพู	F	H	conidia	29	/	
A2	สีเขียว กำมะหยี่ อัดแน่น	S	H	conidia		/	/
A4	สีเขียวเข้ม ขรุขระ แข็ง	S	B	-		/	
A5	สีเขียวเข้ม ขรุขระ แข็ง	S	B	-		/	
A59	สีขาว แบนราบ	F	H	-		/	/
A67	สีเขียว กำมะหยี่ อัดแน่น	S	H	conidia		/	/
A71	สีเขียว กำมะหยี่ อัดแน่น	S	H	conidia			/
D2	สีขาว เมื่อแก่ สีน้ำตาล	F	H	conidia	30	/	/
D3	สีเขียวเข้ม ขรุขระ แข็ง	S	B	-		/	
D9	สีเขียวเข้ม ขรุขระ แข็ง	S	B	-		/	
D12	สีขาว ฟู เมื่อแก่สีเขียวแก่	F	B	-			/
D13	สีขาว เมื่อแก่สีเขียวเข้ม	F	H	-		/	
D14	สีขาว แบนราบ	F	H	-		/	
D15	สีขาว ด้าน	F	H	-		/	
D44	สีขาว เมื่อแก่เป็นสีเขียวเข้ม	S	H	-			/
D50	สีขาว รอบๆ เป็นแฉก	F	H	-			/
D53	สีขาว ด้าน	F	H	-			/
D55	สีขาว แบนราบ	F	H	-			/
D65	สีขาว แบน เมื่อแก่สีน้ำตาล	F	H	-			/
M41	สีขาวฟู เมื่อแก่ เป็นสีแดง	F	H	conidia	31	/	
M76	สีขาว ฟู เมื่อแก่สีเขียวแก่	F	H	-		/	/
N24	สีส้มน้ำตาลตรงกลางสีแดง	F	H	-	32	/	/

GR= อัตราการเจริญเติบโต F = เจริญเต็ม plate ในเวลา 5-7 วัน S = เจริญเติม plate มากกว่า 7 วัน

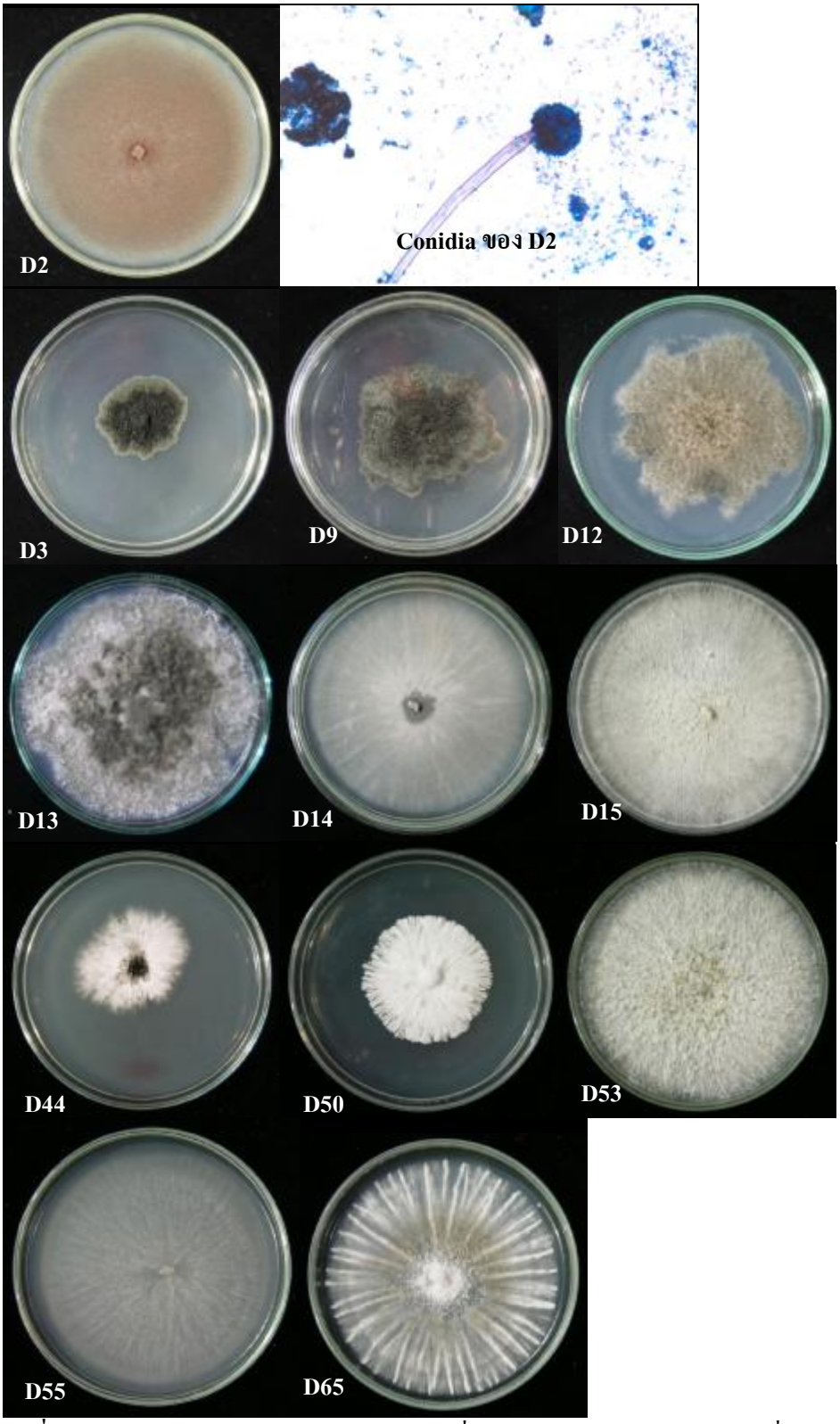
สีของเส้นใย H = เส้นใยใสไม่มีสี B = เส้นใยมีสีน้ำตาล

AM = Antimicrobial positive (สร้างสารต้านจุลินทรีย์)

NMR = Interesting NMR profile (สารที่มี NMR profile น่าสนใจ)

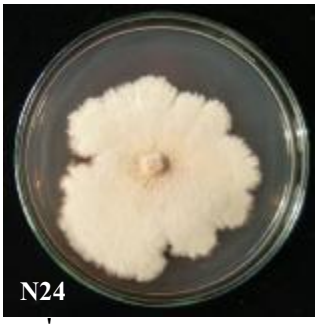


รูปที่ 29 ราเอนโดไฟท์จากต้นส้มแขก (*G. atroviridis*) ที่สร้างสารต้านจุลินทรีย์ และสารที่มี NMR profile น่าสนใจ บนอาหาร PDA ที่อุณหภูมิ 25 ^{0}C เป็นเวลา 1 สัปดาห์



รูปที่ 30 ราเอนโดไฟท์จากต้นมะพูด (*G. dulcis*) ที่สร้างสารต้านจุลินทรีย์ และสารที่มี NMR profile น่าสนใจบนอาหาร PDA ที่อุณหภูมิ 25 ^{0}C เป็นเวลา 1 สัปดาห์

รูปที่ 31 ราเอนโดไฟท์จากต้นมังคุด (*G. mangostana*) ที่สร้างสารต้านจุลินทรีย์และสารที่มี NMR profile น่าสนใจ บนอาหาร PDA ที่อุณหภูมิ 25 ^{0}C เป็นเวลา 1 สัปดาห์



รูปที่ 32 ราเอนโดไฟท์จากต้นชะมวง (*G. nigrolineata*) ที่สร้างสารต้านจุลินทรีย์และสารที่มี NMR profile น่าสนใจ บนอาหาร PDA ที่อุณหภูมิ 25 ^{0}C เป็นเวลา 1 สัปดาห์

3.5 การจัดจำแนกราเอนโดไฟท์ โดยใช้ข้อมูลทางพันธุกรรม

ตารางที่ 13 แสดงถึงข้อมูลต่างๆ ที่ใช้และได้จากการวิเคราะห์ ซึ่งประกอบไปด้วย จำนวนของ taxa, tree length, จำนวนของ MPT, ค่าสถิติ Consistency Index (CI), Retention Index (RI), total character, constant character, parsimony informative character และparsimony uninformative character

3.5.1 การกระจายตัวของราเอนโดไฟท์ใน order ต่างๆ

จากข้อมูลของส่วน ITS ของราเอนโดไฟท์ 22 isolates ที่สร้างสารต้านจุลินทรีย์ และสารที่มีข้อมูล NMR profile น่าสนใจ เมื่อทำการเทียบเคียงเบื้องต้นโดยใช้โปรแกรม BLAST search ของฐานข้อมูล GenBank พบว่า ราเอนโดไฟท์ทั้ง 22 isolates มีความสัมพันธ์ใกล้เคียงกับเชื้อรากลุ่ม Ascomycota ใน 6 order ซึ่งประกอบไปด้วย 1) Diaporthales 2) Dothideomycetes *et* Chaetothyriomycetes *incertae sedis* 3) Eurotiales 4) Hypocreales 5) Pleosporales และ 6) Xylariales จากนั้นได้ทำการเปรียบเทียบราเอนโดไฟท์ 22 isolates กับเชื้อราซึ่งอยู่ใน order อื่นๆ ทั้งหมดจำนวน 37 isolates ซึ่งประกอบไปด้วย order Agyriales, Dothideales, Halosphaeriales, Microascales, Phyllachorales, Pyrenulales, Ophiostomatales และ Sordariales โดยใช้เชื้อราในกลุ่ม Basidiomycota คือ *Ganoderman fornicatum* และ *Lentinus tigrinus* เป็น outgroup

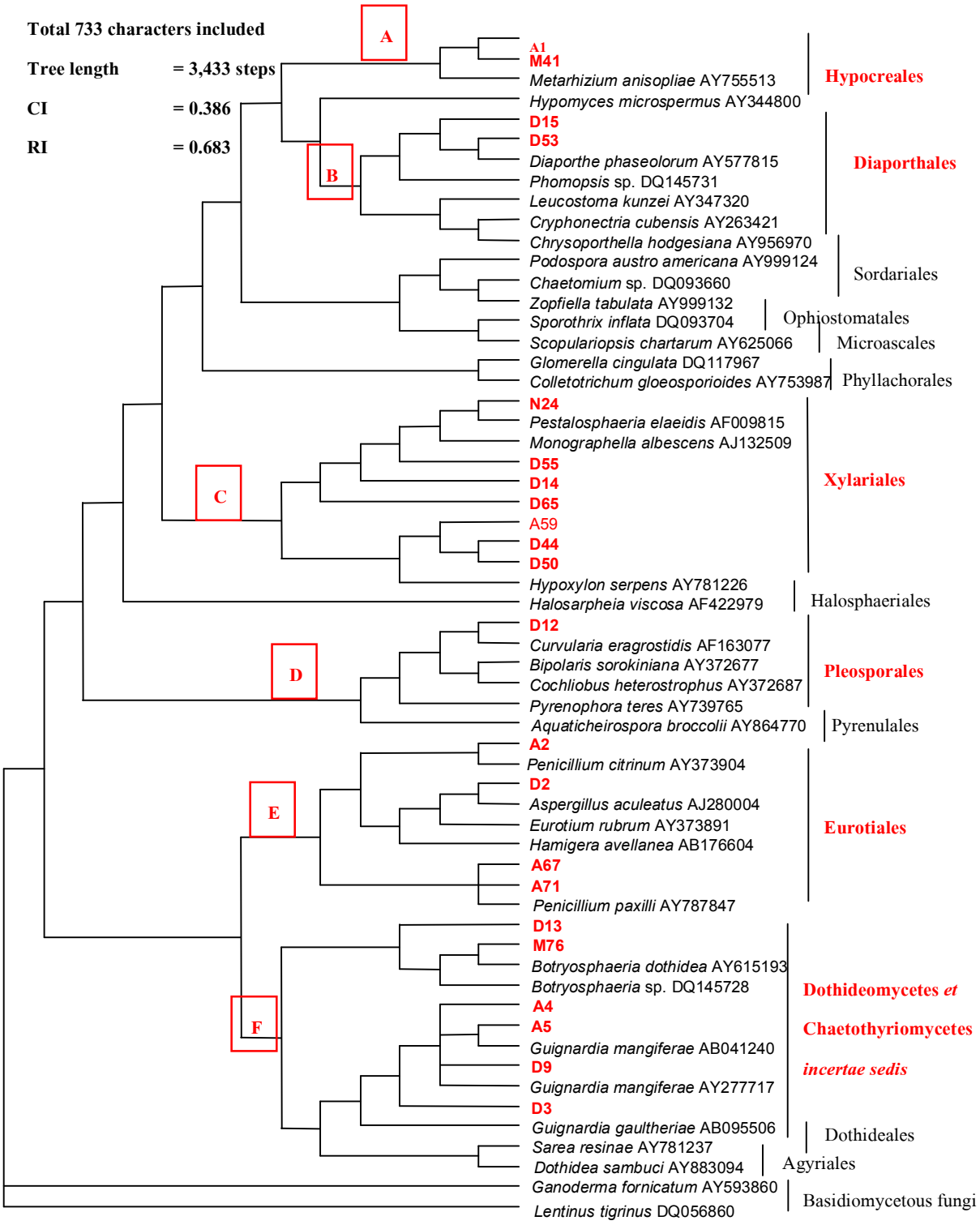
จาก total character 733 characters ประกอบไปด้วย character แต่ละชนิดดังต่อไปนี้ constant 153 characters, parsimony informative 497 characters และ parsimony uninformative 83 characters เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี maximum parsimony ทำให้ได้ MPTs ทั้งหมด 26 trees ซึ่งมีค่า tree length, CI และ RI เท่ากับ 3,433 steps, 0.386 และ 0.683 ตามลำดับ ความแตกต่างของ MPTs ทั้ง 26 trees เป็นความแตกต่างเพียงเล็กน้อยในตำแหน่งบาง taxa ใน clade Dothideomycetes *et* Chaetothyriomycetes *incertae sedis* หลังจากนั้น จึงใช้ การทดสอบทางสถิติ ด้วยวิธี K-H test แล้วเลือก MPTs ที่มี topology เหมาะสมที่สุดจากทั้งหมด 26 trees และได้นำเสนอในรูปที่ 33ในการวิเคราะห์เบื้องต้นนี้ไม่ได้วิเคราะห์ค่าความเชื่อมั่นด้วยวิธี bootstrap analysis เนื่องจากมีข้อจำกัดทางด้านหน่วยความจำของโปรแกรมซอฟท์แวร์ PAUP* แต่จะทำการวิเคราะห์ดังกล่าวของราเอนโดไฟท์ในแต่ละ order ซึ่งจะแสดงข้อมูลในหัวข้อต่อไป

ผลจากการวิเคราะห์พบว่า ราเอนโดไฟท์ทั้ง 22 isolates กระจายตัวอยู่ใน order ที่แตกต่างกัน โดยกระจายออกเป็นกลุ่ม (clade) โดยแบ่งได้เป็น clade A-F (รูปที่ 33) ราเอนโดไฟท์ 2 isolates (A1 และ M41) มีความสัมพันธ์ใกล้เคียงกับเชื้อราใน order Hypocreales (clade A) ส่วนราเอนโดไฟท์อีก 2 isolates (D15 และ D53) มีความสัมพันธ์อยู่ใน order Diaporthales (clade B)

และกลุ่มต่อมา ซึ่งเป็นกลุ่มที่ใหญ่ที่สุด ประกอบด้วยราเอนโดไฟท์ทั้งหมด 7 isolates (A59, D14, D44, D50, D55, D65 และ N24) มีความสัมพันธ์ใกล้เคียงกับเชื้อราใน order Xylariales (clade C) ส่วนราเอนไฟท์ D12 มีความใกล้เคียงกับเชื้อราใน order Pleosporales ในขณะที่ราเอนโดไฟท์ 4 isolates (A2, A67, A71 และ D2) แสดงความสัมพันธ์ใกล้เคียงกับเชื้อราใน order Eurotiales และสำหรับราเอนโดไฟท์กลุ่มสุดท้ายทั้งหมด 6 isolates (A4, A5, D3, D9, D13 และ M76) ตกอยู่ในกลุ่มของ Dothideomycetes *et* Chaetothyriomycetes *incertae sedis* ซึ่งจะเสนอผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของราเอนโดไฟท์ กับเชื้อราอื่นๆ ในกลุ่มดังกล่าว อย่างละเอียดต่อไป

ตารางที่ 13 สรุปข้อมูลที่ได้จากการวิเคราะห์ลักษณะทางพันธุกรรมของราเอนโดไฟท์ แต่ละ order

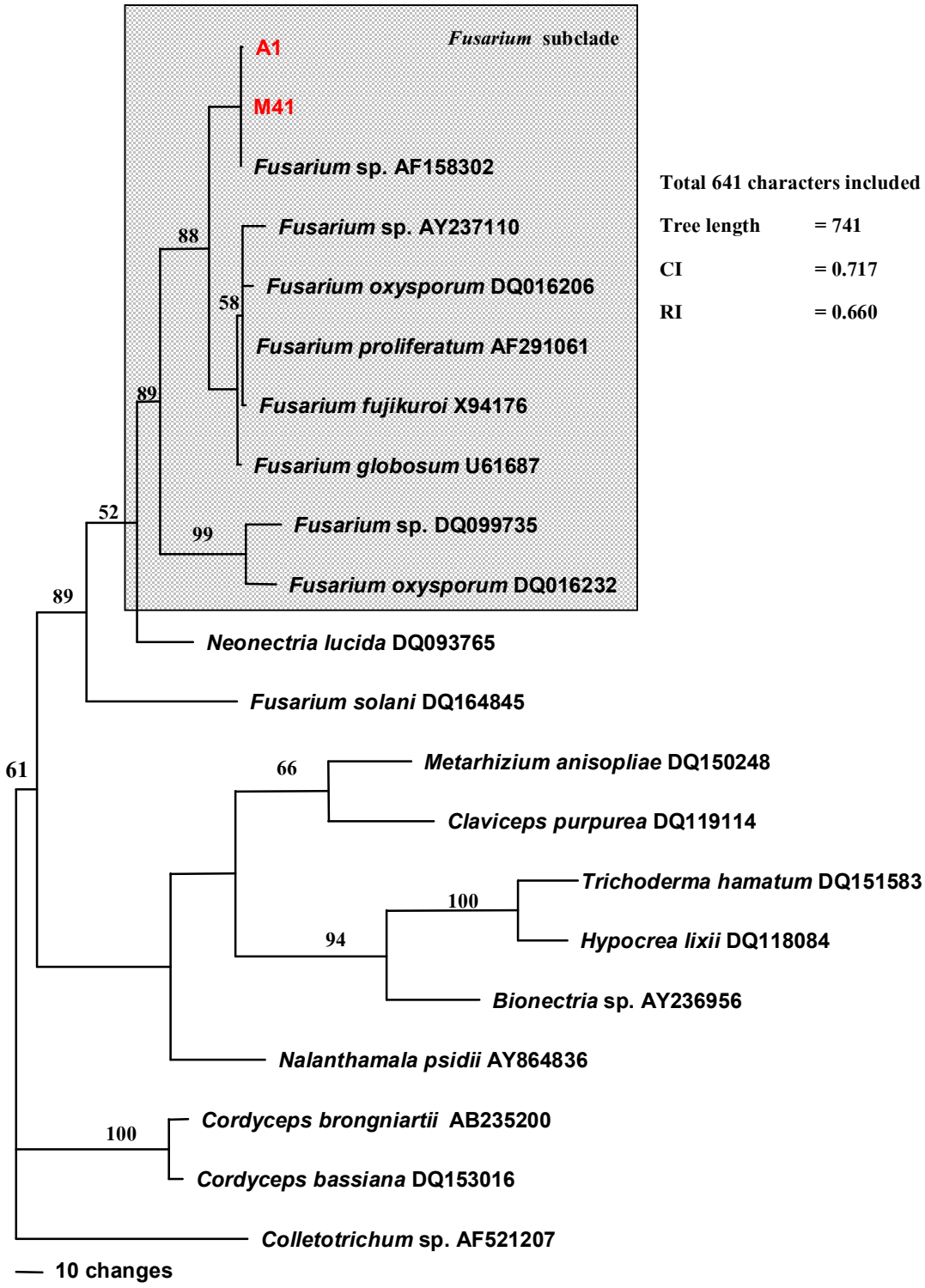
Order	Total taxa included	Tree length (Steps)	จำนวนของ MPTs	CI	RI	Character			
						Total	Constant	Parsimony Infor-mative	Parsimony Uninfor-mative
Overall	59	3,433	26	0.386	0.683	773	153	497	83
Hypocreales	21	741	42	0.717	0.660	641	305	179	157
Diaporthales	20	534	8	0.904	0.934	578	170	330	78
Xylariales	51	1,887	12	0.509	0.687	758	223	330	205
Pleosporales	20	602	1	0.743	0.662	624	328	185	111
Eurotiales	29	449	73	0.815	0.904	692	426	173	93
Incertae sedis	34	615	100	0.727	0.906	712	407	222	83



รูปที่ 33 MPT ที่เหมาะสมที่สุด (best tree) จาก 26 MPTs ของส่วน ITS rDNA sequences ของราเอนโดไฟท์ทั้ง 22 isolates กระจายตัวอยู่ใน Order ต่างๆ

3.5.2 Order Hypocreales

สำหรับการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของราเอนโดไฟท์ใน orderนี้ ชุดข้อมูลประกอบด้วยราเอนโดไฟท์ 2 taxa (A1 และ M41) และเชื้อราอื่นๆ จาก order Hypocreales 18 taxa โดยใช้ *Colletotrichum gleosporioides* (order Phyllachorales) เป็น outgroup ซึ่ง total character 641 characters ประกอบด้วย character แต่ละชนิดดังต่อไปนี้ constant 305 characters, parsimony informative 179 characters และ parsimony uninformative 157 characters เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี maximum parsimony ทำให้ได้ MPTs ทั้งหมด 42 trees ซึ่งมีค่า tree length, CI และ RI เท่ากับ 741 steps, 0.717 และ 0.660 ตามลำดับ ลักษณะของ MPTs ทั้ง 42 trees มีความใกล้เคียงกัน มีความแตกต่างเพียงเล็กน้อยในบริเวณ *Fusarium* subclade หลังจากนั้นใช้วิธี K-H test ทำการเลือก MPTs ที่เหมาะสมที่สุด ซึ่งแสดงไว้ในรูปที่ 34 จาก MPT ดังกล่าว แสดงให้ว่าราเอนโดไฟท์ มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับเชื้อใน *Fusarium* subclade ถึงแม้ว่าผลการวิเคราะห์ค่าความเชื่อมั่น bootstrap ของราเอนโดไฟท์ทั้ง 2 isolates กับเชื้อรา *Fasarium* sp. AF158302 จะต่ำกว่า 50% แต่เมื่อพิจารณาจากความสั้นของ branch length จะเห็นได้ว่า ราเอนโดไฟท์มีความสัมพันธ์อย่างใกล้ชิดกับเชื้อราชนิดดังกล่าว

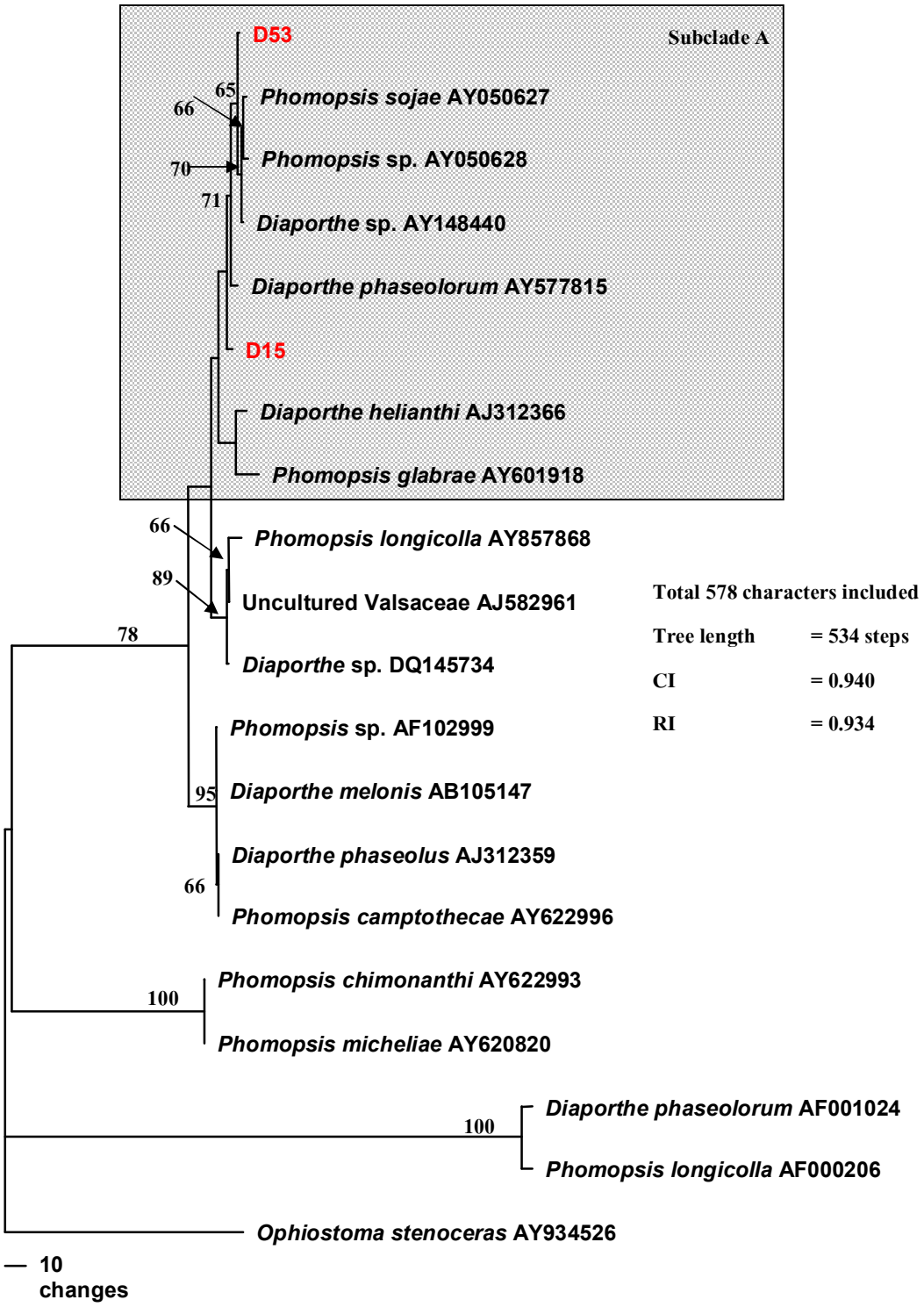


รูปที่ 34 MPT ที่เหมาะสมที่สุด จาก 42 MPTs จากการวิเคราะห์ส่วน ITS rDNA sequence ของราเอนโดไฟท์ใน order Hypocreales ที่มีค่าความเชื่อมั่น bootstrap ที่มากกว่า 50%

3.5.3 Order Diaporthales

จากการเทียบเคียงข้อมูลเบื้องต้นของราเอนโดไฟท์ D15 และ D53 พบว่ามีความสัมพันธ์กับเชื้อใน order Diaporthales จึงได้ทำการเปรียบเทียบราเอนโดไฟท์ทั้ง 2 taxa กับเชื้อราอื่นๆ ใน order ดังกล่าว ทั้งหมด 17 taxa โดยใช้ *Ophiostoma stenoceras* ซึ่งจัดอยู่ใน order Ophiostomatales มาเป็น outgroup

จาก total character 578 characters ประกอบด้วย character แต่ละชนิดดังต่อไปนี้ constant 170 characters, parsimony informative 330 characters และ parsimony uninformative 78 characters จากการวิเคราะห์ด้วยวิธี maximum parsimony ทำให้ได้ MPTs ทั้งหมด 8 trees ซึ่งมีค่า tree length, CI และ RI เท่ากับ 534 steps, 0.940 และ 0.934 ตามลำดับ มีความแตกต่างเพียงเล็กน้อยภายในแต่ละ MPTs ทำการเลือก MPTs ที่เหมาะสมที่สุดจากวิธี K-H test (รูปที่ 35) จะเห็นได้ว่าราเอนโดไฟท์ทั้ง 2 isolates ตกอยู่ใน species complex subclade A ซึ่ง subclade ดังกล่าวแสดงให้เห็นถึงความสัมพันธ์อย่างใกล้ชิดกับทั้ง *Phomopsis* sp. และ *Diaporthe* sp. โดยสังเกตได้จากความสั้นของ branch length ราเอนโดไฟท์ D53 มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับ *Phomopsis* sp. ที่ความเชื่อมั่น bootstrap 65% ขณะที่ D15 ก็มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดในกลุ่มเดียวกัน โดยอยู่บริเวณด้านล่างของ subclade A ที่ความเชื่อมั่น bootstrap ต่ำกว่า 50%



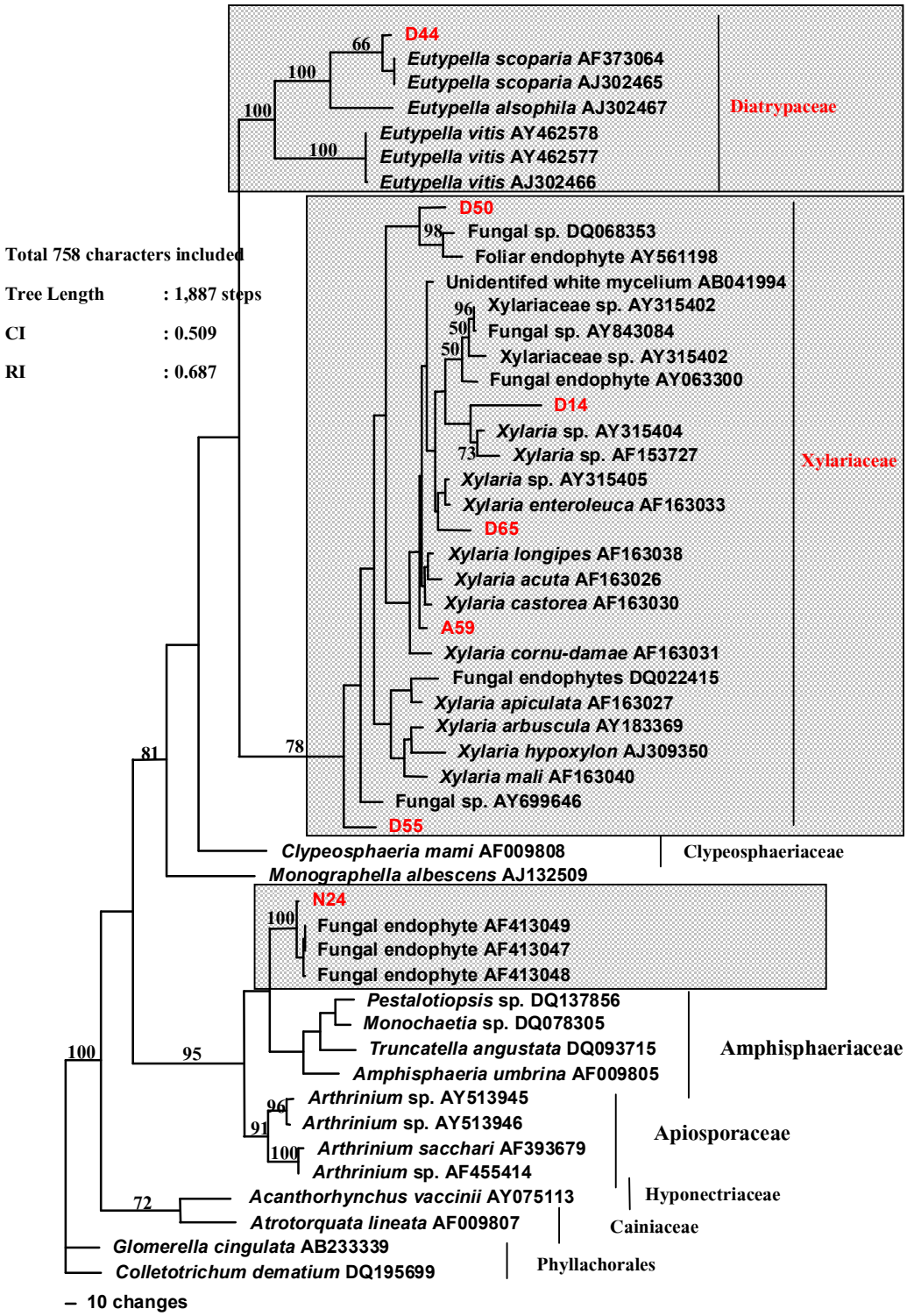
รูปที่ 35 MPT ที่เหมาะสมที่สุดจาก 8 MPTs จากการวิเคราะห์ส่วน ITS rDNA sequence ของราเอนโดไฟท์ใน order Diaporthales ที่มีค่าความเชื่อมั่น bootstrap ที่มากกว่า 50%

3.5.4 Order Xylariales

ราเอนโดไฟท์ใน order Xylariales เป็นกลุ่มที่มีจำนวน isolates มากที่สุด คือ 7 isolates (A59, D14, D44, D50, D55, D65 และ N24) ทำให้ชุดข้อมูลของการวิเคราะห์มีจำนวน taxa มากที่สุดด้วยเช่นกัน โดยชุดข้อมูลประกอบด้วย 51 taxa จาก 3 families หลักได้แก่ Diatrypaceae, Xylariaceae และ Amphisphaeriaceae และ 4 families รอง ได้แก่ Apiosporaceae, Cainiaceae, Clypeosphaeriaceae และ Hyponectriaceae โดยที่ทำการเลือก *Glomerella cingulata* และ *Colletotrichum dematium* (order Phyllachorales) เป็น outgroup

จาก total character 758 characters ประกอบด้วย character แต่ละชนิดดังต่อไปนี้ constant 223 characters, parsimony informative 330 characters และ parsimony uninformative 205 characters เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี maximum parsimony พบว่าได้ MPTs ทั้งหมด 12 trees ซึ่งมีค่า tree length, CI และ RI เท่ากับ 1,887 steps, 0.509 และ 0.687 ตามลำดับ ลักษณะของ topology ของ MPTs มีความใกล้เคียงกันมาก จึงใช้ K-H test เพื่อเลือก MPTs ที่เหมาะสมที่สุด (รูปที่ 36)

จากการวิเคราะห์พบว่าราเอนโดไฟท์ทั้ง 7 taxa กระจายตัวอยู่ใน 3 clade หลัก ซึ่งราเอนโดไฟท์ D44 แสดงความสัมพันธ์กับเชื้อราในกลุ่ม Diatrypaceae โดยแสดงความสัมพันธ์ใกล้เคียงกับเชื้อ *Eutypella scoparia* (AY373064 และ AY373065) โดยมีค่าความเชื่อมั่น bootstrap เพียง 66% และแม้ว่าราเอนโดไฟท์อีก 5 isolates (A59, D14, D50, D55 และ D65) จะมีค่าความเชื่อมั่น bootstrap ในระดับ family ไม่สูงนัก (78%) แต่เชื้อเอนโดไฟท์ดังกล่าวก็แสดงความสัมพันธ์กับเชื้อในกลุ่ม Xylariaceae โดยที่ D50 แสดงความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับเชื้อรา fungal sp. (DQ068353) และ foliar endophyte (AY561198) ในขณะที่ D14, D65 และ A59 แสดงความสัมพันธ์กับเชื้อรา *Xylaria* species ที่แตกต่างกันหลายชนิด แต่สำหรับ D55 ถึงแม้จะอยู่ในกลุ่ม Xylariaceae แต่กลับไม่แสดงความสัมพันธ์กับ species ใดๆ ส่วนเชื้อเอนโดไฟท์ N24 แสดงความสัมพันธ์อย่างใกล้ชิดกับ fungal endophyte ซึ่งมีค่าความเชื่อมั่น bootstrap สูงถึง 100%

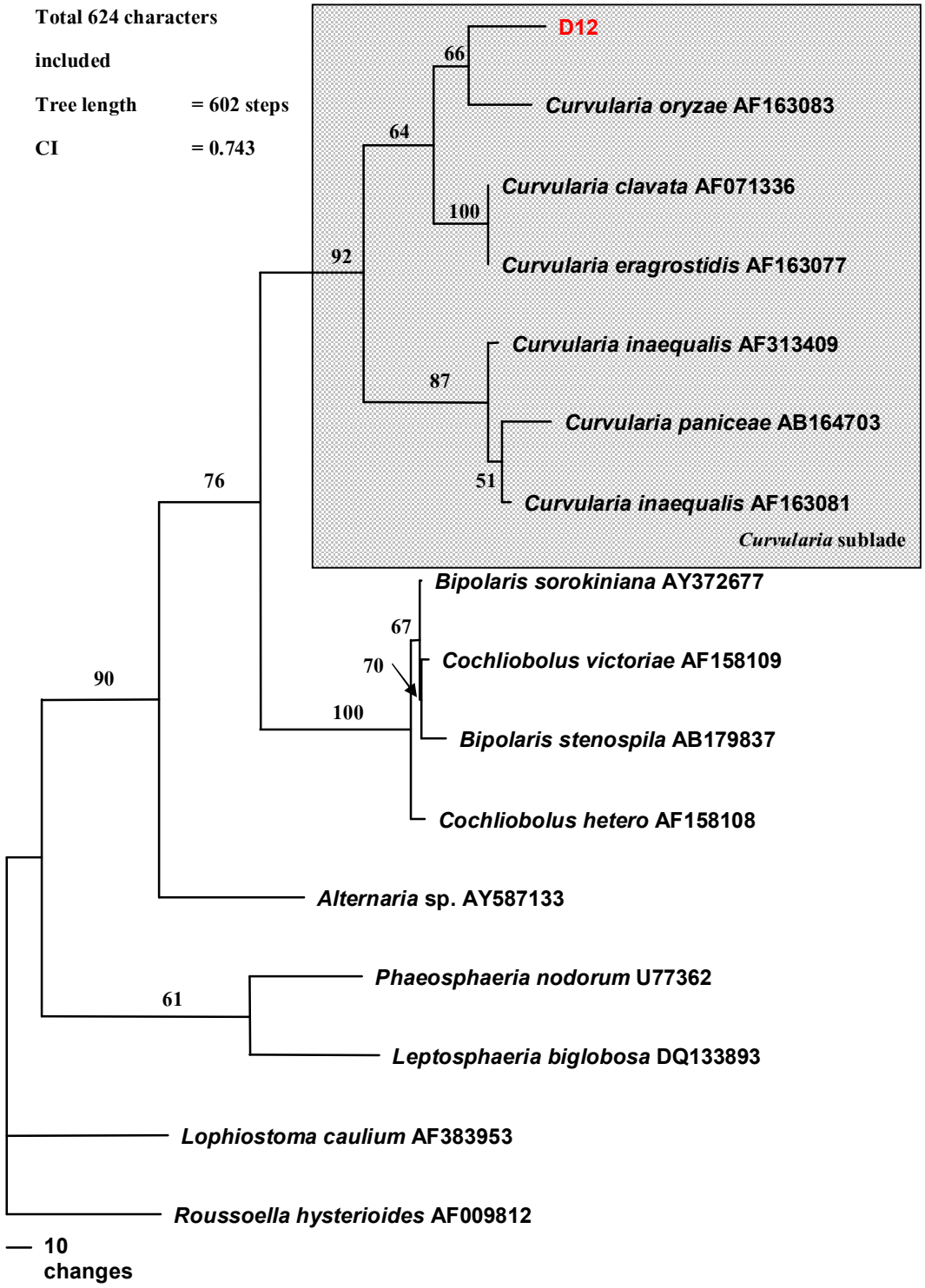


รูปที่ 36 MPT ที่เหมาะสมที่สุด จาก 12 MPTs จากการวิเคราะห์ส่วน ITS rDNA sequence ของราเอนไฟท์ใน order Xylariales ที่มีค่าความเชื่อมั่น bootstrap ที่มากกว่า 50%

3.5.5 Order Pleosporales

ชุดข้อมูลในการวิเคราะห์ ประกอบด้วยราเอนโดไฟท์ D12 เพียง 1 taxon และเชื้อราชนิดอื่นๆ ใน order Pleosporales 14 taxa โดยที่ใช้ *Roussoella hysterioides* (order Xylariales) เป็น outgroup ซึ่ง total character 624 characters ประกอบด้วย character แต่ละชนิดดังต่อไปนี้ constant 328 characters, parsimony informative 185 characters และ parsimony uninformative 111 characters เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี maximum parsimony ทำให้ได้ MPT เพียง 1 tree ซึ่งมีค่า tree length, CI และ RI เท่ากับ 602 steps, 0.743 และ 0.662 ตามลำดับ (รูปที่ 37)

ราเอนโดไฟท์ D12 จัดอยู่ใน *Curvularia* subclade ที่ค่าความเชื่อมั่น 92% ซึ่งใน subclade นี้มีเชื้อรา *Curvularia* หลายชนิดคือ *C. clavata*, *C. eragrostidis*, *C. inaequalis*, *C. oryzae* และ *C. paniceae* โดยที่ราเอนโดไฟท์ D12 แสดงความสัมพันธ์ใกล้เคียงกับเชื้อรา *C. oryzae* AY163083 มากที่สุด แม้ว่าจะมีค่าความเชื่อมั่น bootstrap ปานกลาง (66%)

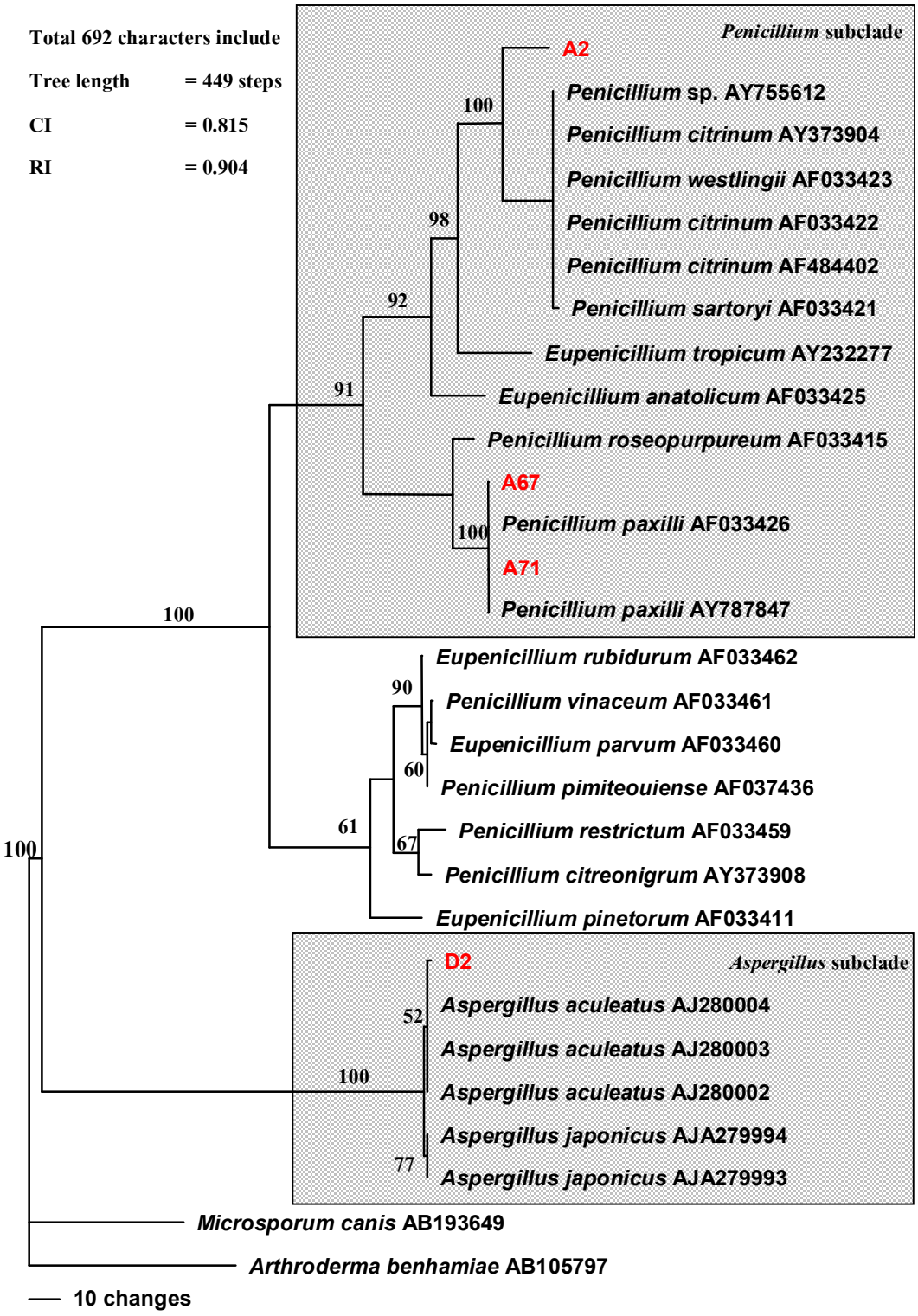


รูปที่ 37 MPT จากการวิเคราะห์ส่วน ITS rDNA sequence ของราเอนโดไฟท์ใน order Pleosporales ที่มีค่าความเชื่อมั่น bootstrap ที่มากกว่า 50%

3.5.6 Order Eurotiales

สำหรับราเอนโดไฟท์ 4 taxa ซึ่งประกอบด้วย isolates A2, A67, A71 และ D2 เมื่อนำไปเทียบเคียงกับเชื้อราอื่นๆ 23 taxa ใน order Eurotiales โดยใช้เชื้อรา *Microsporum canis* และ *Arthroderma benhamiae* (order Onygenales) เป็น outgroup ซึ่งจาก total character 692 characters ประกอบด้วย character แต่ละชนิดดังต่อไปนี้ constant 426 characters, parsimony informative 173 characters และ parsimony uninformative 93 characters หลังจากวิเคราะห์ด้วยวิธี maximum parsimony พบว่าได้ MPTs ทั้งหมด 73 trees ซึ่งมีค่า tree length, CI และ RI เท่ากับ 449 steps, 0.815 และ 0.904 ตามลำดับ แล้วจึงใช้วิธีการทางสถิติ K-H test เลือก MPT ที่เหมาะสมที่สุด ซึ่งแสดงไว้ในรูปที่ 38 มีความแตกต่างของ topology เพียงเล็กน้อยในบริเวณ *Penicillium* subclade

ราเอนโดไฟท์ 3 taxa (A2, A67 และ A71) จัดอยู่ในกลุ่ม *Penicillium* subclade โดยที่ A2 แสดงความสัมพันธ์อย่างใกล้ชิดกับเชื้อรา *Penicillum* ชนิดต่างๆ ซึ่งมีค่าความเชื่อมั่น bootstrap สูงถึง 100% ในขณะที่ A67 และ A71 แสดงความสัมพันธ์อย่างยิ่งกับเชื้อรา *Penicillium paxilli* (AF033426 และ AY787847) ซึ่งเห็นได้จากความสั้นของ branch length และค่าความเชื่อมั่น bootstrap ที่สูงถึง 100% สำหรับ D2 กระจายอยู่ใน *Aspergillus* subclade ด้วยค่าความเชื่อมั่น bootstrap 100% และเมื่อสังเกตจากความสั้นของ branch length แสดงให้เห็นว่าราเอนโดไฟท์ D2 มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับเชื้อรา *Aspergillus aculeatus* (AJ280002, AJ280003 และ AJ280004) แม้ว่าจะมีค่าความเชื่อมั่น bootstrap ปานกลาง (52%)



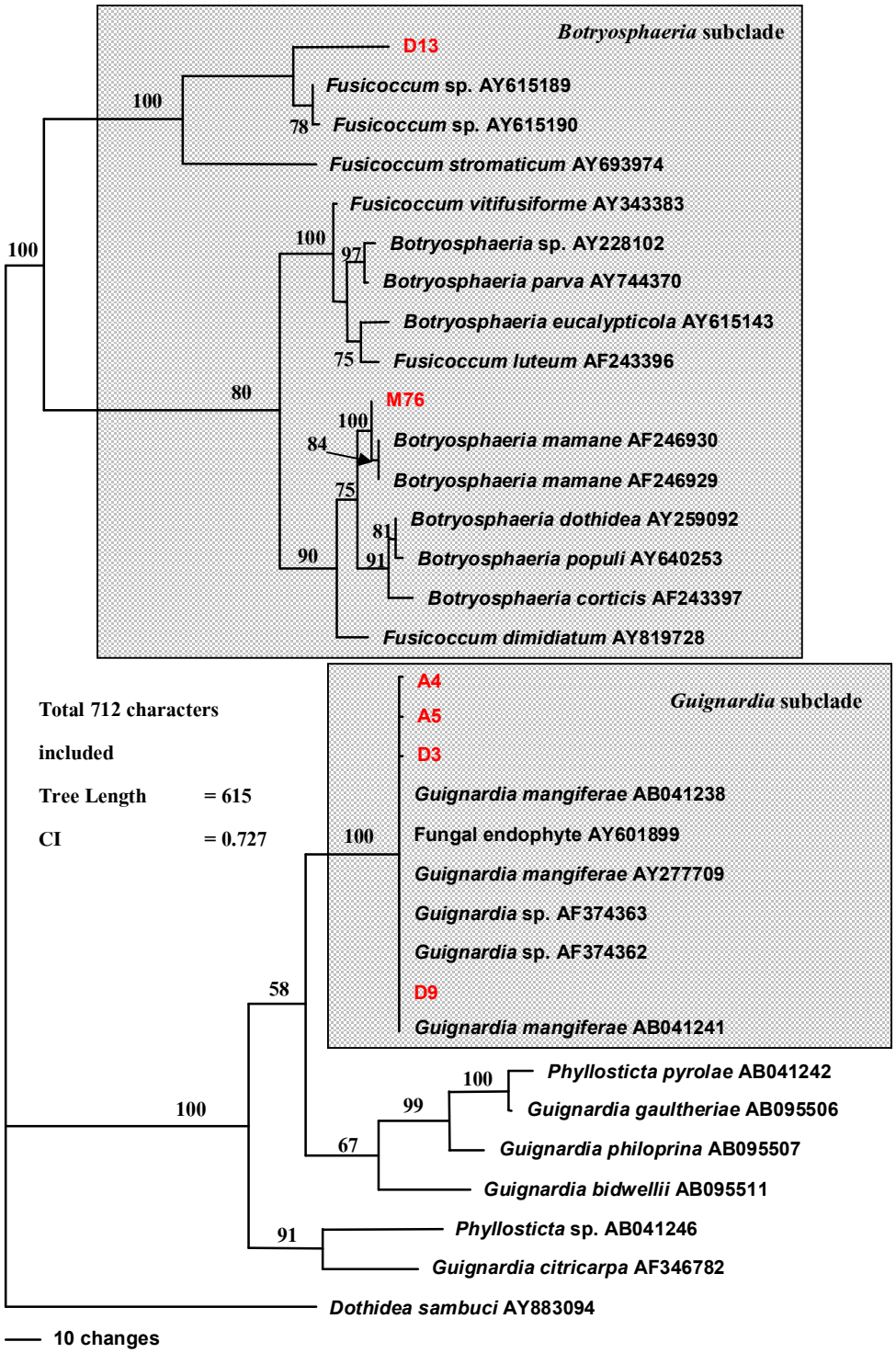
รูปที่ 38 MPT ที่เหมาะสมที่สุด จาก 73 MPTs จากการวิเคราะห์ส่วน ITS rDNA sequence จากราเอนโดไฟท์ใน order Eurotiales ที่มีค่าความเชื่อมั่น bootstrap ที่มากกว่า 50%

3.5.7 Order Dothideomycetes *et* Chaetothyriomycetes *incertae sedis*

จากวิเคราะห์พบว่าราเอนโดไฟท์ 6 taxa (A4, A5, D3, D9, D13 และ M76) มีความสัมพันธ์กับเชื้อราในกลุ่ม Botryosphaeriaceae (order Dothideales) โดยทำการเลือกเชื้อรา *Dothidea sambuci* (order Dothideales) เป็น outgroup จาก total character 712 characters ประกอบด้วย character แต่ละชนิดดังต่อไปนี้ constant 407 characters, parsimony informative 222 characters, parsimony uninformative 83 characters เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี maximum parsimony ทำให้ได้ MPTs 100 trees โดยมีค่า tree length, CI และ RI เท่ากับ 615 steps, 0.727 และ 0.906 ตามลำดับ MPT ที่เหมาะสมที่สุดจากการคัดเลือกด้วย K-H test แสดงไว้ในรูปที่ 39

จากการวิเคราะห์ความสัมพันธ์พบว่าราเอนโดไฟท์ D13 และ M76 จัดอยู่ใน *Botryosphaeria* subclade ด้วยค่าความเชื่อมั่น bootstrap 100% แม้ว่า D13 จะมี branch length ที่ยาว แต่มีความสัมพันธ์ใกล้เคียงอย่างยิ่งกับเชื้อรา *Fusicoccum* sp. (AY615189 และ AY615190) ที่ความเชื่อมั่น bootstrap 100% สำหรับ M76 มีความสัมพันธ์อย่างใกล้ชิดกับเชื้อรา *Botryosphaeria* หลายชนิด ซึ่งเชื้อราที่มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดมากที่สุดคือ *B. mamane* (AF246929 และ AF246930) ที่ค่าความเชื่อมั่น bootstrap value สูง 100% และมี branch length สั้นมาก

เนื่องจากราเอนโดไฟท์ทั้ง 4 taxa (A4, A5, D3 และ D9) มีลำดับเบส DNA คล้ายกันมาก ดังนั้นเมื่อนำราเอนโดไฟท์ในกลุ่มนี้ไปเทียบเคียงกับเชื้อราอื่นๆ พบว่าราเอนโดไฟท์แสดงความสัมพันธ์อย่างใกล้ชิด โดยกระจายอยู่ที่เดียวกัน ในบริเวณ *Guignardia* subclade โดยแสดงความใกล้ชิดกับเชื้อรา *Guignardia* sp., *Guignardia mangiferae* และ fungal endophyte AY601899 โดยที่มีค่าความเชื่อมั่น bootstrap 100% และ branch length มีความสั้นมาก



รูปที่ 39 MPT ที่เหมาะสมที่สุด จาก 100 MPTs จากการวิเคราะห์ส่วน ITS rDNA sequence ของราเอนโดไฟท์ใน order Dothideomycetes *et* Chaetothyriomycetes *incertae sedis* ที่มีค่าความเชื่อมั่น bootstrap ที่มากกว่า 50%

3.5.8 สรุปการจัดจำแนกราเอนโดไฟท์

จากการวิเคราะห์ด้วยข้อมูลทางพันธุกรรม โดยใช้วิธีทาง phylogeny สามารถสรุปและจัดจำแนกราเอนโดไฟท์ทั้ง 22 isolates ที่สร้างสารต้านจุลินทรีย์ และสารที่มี NMR profile น่าสนใจ ซึ่งสรุปไว้ในตารางที่ 14

ตารางที่ 14 สรุปผลการจัดจำแนกราเอนโดไฟท์ โดยใช้ข้อมูลทางพันธุกรรม

Phylum	Class	Order	Expected species	%Identity	รหัสราเอนโดไฟท์	Accession numbers
Ascomycota	Sordariomycetes	Hypocreales	*Fusarium* sp.	99.7	A1	DQ480340
			Fusarium sp.	100.0	M41	DQ480359
		Diaporthales	*Phomopsis* sp.	98.6	D15	DQ480353
			Phomopsis sp.	99.3	D53	DQ480356
		Xylariales	*Xylaria* sp.	95.9	A59	DQ480344
			Fungal endophyte	97.6	N24	DQ480361
			Xylaria sp.	65.4	D14	DQ480352
			Eutypella sp.	98.6	D44	DQ480354
			Xylariaceous fungi	79.7	D50	DQ480355
			Xylariaceous fungi	81.9	D55	DQ480357
			Xylaria sp.	91.8	D65	DQ480358
	Dothideomycetes	Pleosporales	*Curvularia* sp.	90.0	D12	DQ480350
	Eurotiomycetes	Eurotiales	*Penicillium* sp.	100.0	A2	DQ480341
			Penicillium paxilli	100.0	A67	DQ480345
			Penicillium paxilli	100.0	A71	DQ480346
			Aspergillus aculeatus	99.5	D2	DQ480347
	Dothideomycetes *et* Chaetothyriomycete	*incertae sedis*	*Guignardia mangiferae*	99.8	A4	DQ480342
			Guignardia mangiferae	99.8	A5	DQ480343
			Guignardia mangiferae	99.8	D3	DQ480348
			Guignardia mangiferae	100.0	D9	DQ480349
			Fusicoccum sp.	98.7	D13	DQ480351
			Botryosphaeria sp.	99.3	M76	DQ480360