

## สารบัญ

|                             | หน้า |
|-----------------------------|------|
| สารบัญ                      | (10) |
| รายการตาราง                 | (11) |
| รายการรูป                   | (12) |
| สัญลักษณ์คำย่อและตัวย่อ     | (15) |
| 1. บทนำ                     | 1    |
| บทนำต้นเรื่อง               | 1    |
| บทตรวจเอกสาร                | 2    |
| วัตถุประสงค์                | 26   |
| 2. วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ | 27   |
| 3. ผลการทดลอง               | 48   |
| 4. วิเคราะห์ผลการทดลอง      | 91   |
| 5. สรุปผลการทดลอง           | 106  |
| เอกสารอ้างอิง               | 108  |
| ภาคผนวก                     | 138  |
| ประวัติผู้เขียน             | 156  |

## รายการตาราง

| ตารางที่   | หน้า |
|--|------|
| 1. รายละเอียดการเก็บตัวอย่างพืชสกุล <i>Garcinia</i>  | 35   |
| 2. ส่วนผสมของปฏิกิริยา PCR (PCR mixture)   | 45   |
| 3. จำนวนราเอนโคไฟท์ที่แยกได้จากพืชสกุล <i>Garcinia</i> ชนิดต่างๆ   | 50   |
| 4. จำนวนราเอนโคไฟท์จากพืชสกุล <i>Garcinia</i> ชนิดต่างๆ ที่คัดเลือกไปทดสอบ และความสามารถของราเอนโคไฟท์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรค                     | 53   |
| 5. แหล่งของราเอนโคไฟท์ที่สร้างสารต้านจุลินทรีย์ ที่แยกได้จากส่วนต่างๆ ของพืชสกุล <i>Garcinia</i>   | 56   |
| 6. ฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ของน้ำเลี้ยงเชื้อราเอนโคไฟท์อายุ 2 และ 3 สัปดาห์ที่แยกได้จากต้นส้มแขก ( <i>G. atroviridis</i> ) ทดสอบโดยวิธี agar well diffusion | 59   |
| 7. ฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ของน้ำเลี้ยงเชื้อราเอนโคไฟท์อายุ 2 และ 3 สัปดาห์ที่แยกได้จากต้นมะพูด ( <i>G. dulcis</i> ) ทดสอบโดยวิธี agar well diffusion       | 60   |
| 8. ฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ของน้ำเลี้ยงเชื้อราเอนโคไฟท์อายุ 2 และ 3 สัปดาห์ที่แยกได้จากต้นมังคุด ( <i>G. mangostana</i> ) ทดสอบโดยวิธี agar well diffusion  | 61   |
| 9. ฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ของน้ำเลี้ยงเชื้อราเอนโคไฟท์อายุ 2 และ 3 สัปดาห์ที่แยกได้จากต้นชะมวง ( <i>G. nigrolineata</i> ) ทดสอบโดยวิธี agar well diffusion | 63   |
| 10. ฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ของน้ำเลี้ยงเชื้อราเอนโคไฟท์อายุ 2 และ 3 สัปดาห์ที่แยกได้จากต้น <i>G. scortechnii</i> ทดสอบโดยวิธี agar well diffusion          | 64   |
| 11. เส้นผ่านศูนย์กลางของ inhibition zone และค่า MIC ของสารสกัดจากน้ำเลี้ยงเชื้อรา และเส้นใยของราเอนโคไฟท์ ต่อจุลินทรีย์ก่อโรค                          | 68   |
| 12. ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของราเอนโคไฟท์ 22 isolates ที่มีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ หรือสร้างสารที่มี NMR profile น่าสนใจ                                      | 71   |
| 13. สรุปข้อมูลที่ได้จากการวิเคราะห์ข้อมูลทางพันธุกรรมของราเอนโคไฟท์แต่ละ order   | 77   |
| 14. สรุปผลการจัดจำแนกราเอนโคไฟท์ โดยใช้ข้อมูลทางพันธุกรรม  | 91   |

## รายการรูป

| รูปที่  | หน้า |
|---|------|
| 1. ลักษณะทั่วไปของต้นส้มแขก ( <i>G. atroviridis</i> )   | 6    |
| 2. ลักษณะทั่วไปของต้นมะปูด ( <i>G. dulcis</i> )   | 8    |
| 3. ลักษณะทั่วไปของต้นชะมวง ( <i>G. nigrolineata</i> )   | 8    |
| 4. ลักษณะทั่วไปของต้น <i>G. scortechinii</i>  | 9    |
| 5. ลักษณะทั่วไปของต้นมังคุด ( <i>G. mangostana</i> )  | 11   |
| 6. ราเอนโดไฟท์ที่อาศัยอยู่ในเนื้อเยื่อพืช   | 13   |
| 7. ตำแหน่งของส่วน ITS ที่อยู่ในยีน ribosomal RNA ของเชื้อรา   | 21   |
| 8. ใบของต้นส้มแขก ( <i>G. atroviridis</i> ) จากจังหวัดยะลา  | 32   |
| 9. กิ่งต้นมะปูด ( <i>G. dulcis</i> ) จากวัดหินกลิ้ง จังหวัดสงขลา  | 33   |
| 10. กิ่งต้นมะปูด ( <i>G. dulcis</i> ) จากวัดทรายขาว จังหวัดสงขลา  | 33   |
| 11. กิ่งต้นมังคุด ( <i>G. mangostana</i> ) จากแปลงเพาะปลูก<br>คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์                    | 33   |
| 12. ต้นชะมวง ( <i>G. nigrolineata</i> ) จากเขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่าโตนงาช้าง<br>จังหวัดสงขลา                                    | 34   |
| 13. ต้น <i>G. scortechinii</i> จากเขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่าโตนงาช้าง<br>จังหวัดสงขลา   | 34   |
| 14. ส่วนต่างๆ ของพืชที่ทำการแยกตัวอย่าง   | 34   |
| 15. การแยกเชื้อราเอนโดไฟท์จากตัวอย่างพืชสกุล <i>Garcinia</i> บนอาหาร CMA<br>ที่ผสมยาปฏิชีวนะ ที่อุณหภูมิ 25 °C เป็นเวลา 5 วัน | 36   |
| 16. การเพาะเลี้ยงราเอนโดไฟท์ในอาหารเหลว PDB ที่อุณหภูมิห้อง<br>เป็นเวลา 3 สัปดาห์ สำหรับทดสอบฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์              | 37   |
| 17. แผนภูมิการสกัดทางเคมีของราเอนโดไฟท์ ด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ   | 39   |
| 18. ตำแหน่งของส่วน ITS และบริเวณการจับของ primers (conserved region)<br>ที่อยู่ในยีน ribosomal RNA ของเชื้อรา                 | 45   |
| 19. ราเอนโดไฟท์ที่นำมาศึกษาฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ แบ่งตามพืชสกุล<br><i>Garcinia</i> ชนิดต่างๆ                                    | 51   |

## รายการรูป (ต่อ)

| รูปที่  | หน้า |
|---|------|
| 20. ฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย <i>S. aureus</i> ATCC29523 และ MRSA จากน้ำเลี้ยงเชื้อราเอน โดไฟท์ ทดสอบโดยวิธี agar well diffusion   | 54   |
| 21. ฤทธิ์ต้านยีสต์ <i>C. albicans</i> ATCC90028 และ <i>C. neoformans</i> ATCC90012 จากน้ำเลี้ยงเชื้อราเอน โดไฟท์ ทดสอบโดยวิธี agar well diffusion                 | 54   |
| 22. เปรี่เซนต์ของราเอน โดไฟท์ที่สร้างสารต้านจุลินทรีย์ แยกตามชนิดของพืชสกุล <i>Garcinia</i> ทดสอบโดยวิธี agar well diffusion                                      | 55   |
| 23. เปรี่เซนต์ของราเอน โดไฟท์ที่สามารถยับยั้ง <i>S. aureus</i> ATCC29523 และ MRSA แยกตามชนิดของพืชสกุล <i>Garcinia</i>  | 55   |
| 24. เปรี่เซนต์ของราเอน โดไฟท์ที่สามารถยับยั้ง <i>C. neoformans</i> ATCC90012 แยกตามชนิดของพืชสกุล <i>Garcinia</i>   | 55   |
| 25. เปรี่เซนต์ของราเอน โดไฟท์ที่สร้างสารต้านจุลินทรีย์ แยกตามส่วนต่างๆ ของพืชที่นำมาแยก   | 57   |
| 26. ฤทธิ์ต้าน <i>S. aureus</i> ATCC29523 ของสารสกัดจากราเอน โดไฟท์  | 66   |
| 27. ฤทธิ์ต้าน MRSA ของสารสกัดจากราเอน โดไฟท์  | 67   |
| 28. ฤทธิ์ต้านยีสต์และรา ของสารสกัดจากราเอน โดไฟท์   | 67   |
| 29. ราเอน โดไฟท์จากต้นส้มแขก ( <i>G. atroviridis</i> ) ที่สร้างสารต้านจุลินทรีย์ และสารที่มี NMR profile น่าสนใจ บนอาหาร PDA ที่อุณหภูมิ 25 °C เป็นเวลา 1 สัปดาห์ | 72   |
| 30. ราเอน โดไฟท์จากต้นมะพลูด ( <i>G. dulcis</i> ) ที่สร้างสารต้านจุลินทรีย์ และสารที่มี NMR profile น่าสนใจ บนอาหาร PDA ที่อุณหภูมิ 25 °C เป็นเวลา 1 สัปดาห์      | 73   |
| 31. ราเอน โดไฟท์จากต้นมังคุด ( <i>G. mangostana</i> ) ที่สร้างสารต้านจุลินทรีย์ และสารที่มี NMR profile น่าสนใจ บนอาหาร PDA ที่อุณหภูมิ 25 °C เป็นเวลา 1 สัปดาห์  | 74   |

## รายการรูป (ต่อ)

| รูปที่  | หน้า |
|---|------|
| 32. ราเอนโดไฟท์จากต้นชะมวง ( <i>G. nigrolineata</i> ) ที่สร้างสารต้านจุลินทรีย์และสารที่มี NMR profile น่าสนใจ บนอาหาร PDA ที่อุณหภูมิ 25 °C เป็นเวลา 1 สัปดาห์   | 74   |
| 33. MPT ที่เหมาะสมที่สุด (best tree) จาก 26 MPTs ของส่วน ITS rDNA sequences ของราเอนโดไฟท์ทั้ง 22 isolates กระจายตัวอยู่ใน order ต่างๆ  | 78   |
| 34. MPT ที่เหมาะสมที่สุด จาก 42 MPTs จากการวิเคราะห์ส่วน ITS rDNA sequences ของราเอนโดไฟท์ใน order Hypocreales ที่มีค่าความเชื่อมั่น bootstrap ที่มากกว่า 50%   | 80   |
| 35. MPT ที่เหมาะสมที่สุด จาก 8 MPTs จากการวิเคราะห์ส่วน ITS rDNA sequences ของราเอนโดไฟท์ใน order Diaporthales ที่มีค่าความเชื่อมั่น bootstrap ที่มากกว่า 50%   | 82   |
| 36. MPT ที่เหมาะสมที่สุด จาก 12 MPTs จากการวิเคราะห์ส่วน ITS rDNA sequences ของราเอนโดไฟท์ใน order Xylariales ที่มีค่าความเชื่อมั่น bootstrap ที่มากกว่า 50%  | 84   |
| 37. MPT จากการวิเคราะห์ส่วน ITS rDNA sequences ของราเอนโดไฟท์ใน order Pleosporales ที่มีค่าความเชื่อมั่น bootstrap ที่มากกว่า 50%   | 86   |
| 38. MPT ที่เหมาะสมที่สุด จาก 73 MPTs จากการวิเคราะห์ส่วน ITS rDNA sequences ของราเอนโดไฟท์ใน order Eurotiales ที่มีค่าความเชื่อมั่น bootstrap ที่มากกว่า 50%  | 88   |
| 39. MPT ที่เหมาะสมที่สุด จาก 100 MPTs จากการวิเคราะห์ส่วน ITS rDNA sequences ของราเอนโดไฟท์ใน order Dothideomycetes et Chaetothyriomycetes <i>incertae sedis</i> ที่มีค่าความเชื่อมั่น bootstrap ที่มากกว่า 50% | 90   |

## สัญลักษณ์คำย่อและตัวย่อ

|                    |   |                            |
|--------------------|---|----------------------------|
| $^{\circ}\text{C}$ | = | องศาเซลเซียส               |
| g                  | = | กรัม                       |
| mg                 | = | มิลลิกรัม                  |
| $\mu\text{g}$      | = | ไมโครกรัม                  |
| ng                 | = | นาโนกรัม                   |
| mm                 | = | มิลลิเมตร                  |
| L                  | = | ลิตร                       |
| ml                 | = | มิลลิลิตร                  |
| $\mu\text{l}$      | = | ไมโครลิตร                  |
| M                  | = | โมลาร์ (โมล/ลิตร)          |
| mM                 | = | มิลลิโมลาร์                |
| $\mu\text{M}$      | = | ไมโครโมลาร์                |
| isolate            | = | สายพันธุ์ของจุลินทรีย์     |
| EtOAc              | = | Ethyl acetate              |
| MeOH               | = | Methanol                   |
| NMR                | = | Nuclear Magnetic Resonance |