

การคัดแยกหาแอนโดไฟติกแบคทีเรีย  
ที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์

นางสาวจรีพรรณ ภูมิสถิตย์พงษ์  
นางสาวณัฐกานต์ สุรีย์พงษ์

โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร  
ปริญญาเภสัชศาสตรบัณฑิต  
คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล  
พ.ศ. 2559

SCREENING OF ENDOPHYTIC BACTERIA  
FOR ANTIMICROBIAL ACTIVITIES

MISS JUREEPARN POOMSTITPONG

MISS NUTTAKAN SUREEPONG

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILMENT  
OF THE REQUIREMENTS FOR  
THE DEGREE OF DOCTOR OF PHARMACY  
FACULTY OF PHARMACY  
MAHIDOL UNIVERSITY

2016

โครงการพิเศษ

เรื่อง การคัดแยกหาเอนโดไฟติกแบคทีเรียที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์

ลายเซ็น

(นางสาวจรีพรรณ ภูมิสถิตย์พงษ์)

ลายเซ็น

(นางสาวณัฐกานต์ สุรีย์พงษ์)

ลายเซ็น

(อ.ดร.ภก.สุเมธ จรุงจิโรจน์)

อาจารย์ที่ปรึกษา

ลายเซ็น

(ผศ.ดร.ภก.จตุรงค์ ประเทืองเดชกุล)

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

## บทคัดย่อ

### การคัดแยกหาเอนโดไฟติกแบคทีเรียที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์

จรีพรรณ ภูมิสถิตย์พงษ์, ณัฐกานต์ สุรีย์พงษ์

อาจารย์ที่ปรึกษา : สุเมธ จงจุจิโรจน์\*, จตุรงค์ ประเทืองเดชกุล\*

\*ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

คำสำคัญ : เอนโดไฟติกแบคทีเรีย, จุลินทรีย์จากพืช, ฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์

โครงการพิเศษนี้จัดทำขึ้นเพื่อคัดแยกหาเอนโดไฟติกแบคทีเรียที่มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อจุลินทรีย์จากตัวอย่างพืชในกรุงเทพมหานครจำนวน 17 ชนิด สามารถคัดแยกเอนโดไฟติกแบคทีเรียได้ทั้งหมด 58 ไอโซเลต เมื่อนำมาทดสอบฤทธิ์ต้านการเจริญเติบโตของเชื้อทดสอบ 7 ชนิด ได้แก่ *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumonia* ATCC 700603, Methicillin-resistance *Staphylococcus aureus* (MRSA) ATCC 43300, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Salmonella typhi* ATCC 13311 และ *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 โดยทดสอบ 2 วิธี ได้แก่ 1) วิธี Cross streak method โดยนำเอนโดไฟติกแบคทีเรียขีดเป็นเส้นกลางบน Tryptic soy agar (TSA) และทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นนำเชื้อทดสอบทั้ง 7 ชนิดมาขีดใกล้กับเอนโดไฟติกแบคทีเรียในแนวตั้งฉาก และบ่มที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าเอนโดไฟติกแบคทีเรียที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อทดสอบ มีจำนวน 20 ไอโซเลต, 13 ไอโซเลต, 4 ไอโซเลต, 19 ไอโซเลต, 2 ไอโซเลต, 15 ไอโซเลต, และ 20 ไอโซเลตตามลำดับ 2) วิธี Agar well diffusion method โดยเฉพาะเลี้ยงเอนโดไฟติกแบคทีเรียใน Tryptic soy broth (TSB) ในเครื่องเขย่าที่ 37 °C 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นำมาปั่นเหวี่ยงและนำส่วนใสไปทดสอบบน Mueller Hinton agar (MHA) บันทึกผลค่าเฉลี่ยโซนใส (zone of inhibition) หลังบ่มที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบจำนวนเอนโดไฟติกแบคทีเรียที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อทดสอบจำนวน 7 ไอโซเลต, 3 ไอโซเลต, 2 ไอโซเลต, 3 ไอโซเลต, 0 ไอโซเลต, 2 ไอโซเลตและ 2 ไอโซเลตตามลำดับเชื้อทดสอบข้างต้น

## Abstract

### Screening of endophytic bacteria for antimicrobial activities

Jureeparn Poomstipong, Nuttakan Sureepong

**Project advisor :** Sumet Chongruchiroj\*, Jaturong Pratuangdejkul\*

\*Department of Microbiology, Faculty of Pharmacy, Mahidol University

**Keyword :** endophytic bacteria, microorganism from plants, antimicrobial activities

This special project is intended to screening of endophytic bacteria for antimicrobial activities from 17 plants in Bangkok. The 58 isolates of endophytic bacteria were identified. Their antimicrobial activities against 7 microorganisms including *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumonia* ATCC 700603, Methicillin-resistance *Staphylococcus aureus* (MRSA) ATCC 43300, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Salmonella typhi* ATCC 13311, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 were determined using two methods. First, cross streak method, streaked the endophytic bacteria on the middle of tryptic soy agar (TSA) and incubated at room temperature for 48 hours. Then 7 microorganisms were streak perpendicularly near the endophytic bacteria and incubated at 37°C for 24 hours. There were inhibiting effects of 7 microorganisms as 20 isolates, 13 isolates, 4 isolates, 19 isolates, 2 isolates, 15 isolates and 20 isolates, respectively. Second, the agar well diffusion method, the endophytic bacteria were cultured in tryptic soy broth (TSB) and incubated in shaking incubator at 37°C 200 rpm for 48 hours, centrifuged and pipetted the supernatant solution to determine their antimicrobial activities on Mueller Hinton agar (MHA). According to the zone of inhibition, there were inhibiting effects of 7 microorganisms as 7 isolates, 3 isolates, 2 isolates, 3 isolates, 0 isolates, 2 isolates and 2 isolates, respectively.