

ชื่อวิทยานิพนธ์	ราเอนโดไฟท์ที่ผลิตสารต้านจุลินทรีย์จากพืชสกุล <i>Garcinia</i>
ผู้เขียน	นายณัฐวุฒิ รุ่งจินดามัย
สาขาวิชา	จุลชีววิทยา
ปีการศึกษา	2548

บทคัดย่อ

ทำการแยกราเอนโดไฟท์จากพืชสกุล *Garcinia* 5 ชนิดจากภาคใต้ของประเทศไทยประกอบไปด้วย ส้มแขก (*Garcinia atroviridis*) มะปูด (*G. dulcis*) มังคุด (*G. mangostana*) ชะมวง (*G. nigrolineata*) และ *G. scortechinii* ได้ทั้งหมด 1,979 isolates สุ่มเลือกราเอนโดไฟท์ที่มีลักษณะ colony ที่แตกต่างกันจำนวน 377 isolates (19.0%) นำไปเลี้ยงในอาหารเหลว potato dextrose broth (PDB) แล้วนำตัวอย่างน้ำเลี้ยงเชื้อราอายุ 2 และ 3 สัปดาห์ ไปทดสอบฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ก่อโรค ด้วยวิธี agar well diffusion พบว่ามีราเอนโดไฟท์ที่สร้างสารต้านจุลินทรีย์จำนวน 70 isolates (18.6%) โดยมีราเอนโดไฟท์ 34 isolates (48.6%) ที่มีฤทธิ์ยับยั้ง *Staphylococcus aureus* ATCC25923 และ methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) สายพันธุ์ SK1 ราเอนโดไฟท์ 37 isolates (52.8%) แสดงฤทธิ์ยับยั้ง *Cryptococcus neoformans* ATCC 90012 และมีเพียง 3 isolates (4.2%) ที่ยับยั้ง *Candida albicans* ATCC90028 น้ำเลี้ยงเชื้อราเอนโดไฟท์ทุก isolate ที่นำมาทดสอบ ไม่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Escherichia coli* ATCC29522, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853 และเชื้อรา *Microsporium gypseum* เมื่อนำน้ำเลี้ยงเชื้อราเอนโดไฟท์ไปสกัดด้วย ethyl acetate และเส้นใยเชื้อราสกัดด้วย hexane และ ethyl acetate แล้วนำสารสกัดไปทดสอบหาค่า minimal inhibitory concentration (MIC) ด้วยวิธี microdilution พบว่าสารสกัดจากราเอนโดไฟท์ 11 isolates สามารถยับยั้ง *S. aureus* ATCC25923 และ MRSA (MIC 32-512 µg/ml) สารสกัดจากราเอนโดไฟท์ 2 isolates สามารถยับยั้ง *C. albicans* ATCC90028 (MIC 128-200 µg/ml) สารสกัดจากราเอนโดไฟท์ 1 isolates ยับยั้ง *C. neoformans* ATCC90012 (MIC 64 µg/ml) และสารสกัดจากราเอนโดไฟท์ 7 isolates ยับยั้ง *M. gypseum* ได้ (MIC 2-64 µg/ml) เมื่อนำราเอนโดไฟท์ที่คัดเลือกได้ 22 isolates ไปจัดจำแนกด้วยข้อมูลทางพันธุกรรม โดยวิเคราะห์ลำดับเบส ribosomal DNA ส่วน Internal Transcribed Spacers (ITS1-5.8S-ITS2, ITS) พบว่าราเอนโดไฟท์ มีความหลากหลาย กระจายอยู่ใน 6 Order ได้แก่ Diaporthales, Dothideomycetes et Chaetothyriomycetes incertae sedis, Eurotiales, Hypocreales, Pleosporales และ Xylariales ราเอนโดไฟท์ D15 (*Phomopsis* sp.) และ

M76 (*Botryosphaeria* sp.) สามารถยับยั้งแบคทีเรีย *S. aureus* ATCC25923 และ MRSA ได้ดีที่สุด โดยมีค่า MIC 32 และ 64 $\mu\text{g/ml}$ ตามลำดับ ราเอนโดไฟท์ M76 (*Botryosphaeria* sp.) และ N24 (unidentified fungal endophyte) มีฤทธิ์ต้านรา *M. gypseum* ได้ดีที่สุด โดยมีค่า MIC 2 และ 4 $\mu\text{g/ml}$ ตามลำดับ จากผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าราเอนโดไฟท์จากพืชสกุล *Garcinia* เป็นแหล่งสำคัญของสารต้านจุลินทรีย์

Thesis Title Endophytic Fungi from *Garcinia* spp. which Produce Antimicrobial Substances
Author Mr. Nattawut Rungjindamai
Major Program Microbiology
Academic Year 2005

ABSTRACT

A total of 1,979 endophytic fungi were isolated from healthy plant tissues of five *Garcinia* species grown in southern Thailand; *Garcinia atroviridis*, *G. dulcis*, *G. mangostana*, *G. nigrolineta* and *G. scortechini*. Three hundred and seventy seven isolates (19.0%) were randomly selected according to the colony morphology differences and screened for their antimicrobial activities against seven potential human pathogens. Fungal isolates were grown with 300 ml potato dextrose broth (PDB) at room temperature for two to three weeks. Culture filtrates were then checked for their antimicrobial activities by an agar well diffusion method. Seventy out of the 377 isolates (18.6%) demonstrated antimicrobial activity against at least one test microorganism. Among these, 34 isolates (48.6%) inhibited *Staphylococcus aureus* ATCC29523 and methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA SK1), 37 isolates (52.8%) inhibited *Cryptococcus neoformans* ATCC90012 and 3 isolates (4.2%) inhibited *Candida albicans* ATCC90028. No inhibitory activity was detected in any broth against *Escherichia coli* ATCC29522, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853, and *Microsporium gypseum*. Crude ethyl acetate extracts of the culture broth and crude hexane and ethyl acetate extracts of the fungal mycelium were then tested for their minimum inhibitory concentrations (MICs) by microdilution. Crude extracts from 11 fungal isolates inhibited *S. aureus* ATCC 25923 and MRSA with MIC values of 32-512 µg/ml. Extracts from two fungal isolates inhibited *C. albicans* ATCC90028 (MICs 128-200 µg/ml), extracts from one isolate inhibited *C. neoformans* ATCC90012 (MICs 64 µg/ml), and extracts from seven of the fungal isolates inhibited *M. gypseum* (MICs 2-64 µg/ml). Fungal identification based on the ribosomal DNA-Internal Transcribed Spacers (ITS1-5.8S-ITS2, ITS) analysis revealed that 22 of the selected isolates belonged to six orders; Diaporthales, Dothideomycetes et Chaetothyriomycetes