

ชื่อโครงการ ฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ของราที่แยกจากดินในถ้ำในภาคใต้ของประเทศไทย
ผู้วิจัย สุมาลี เลี่ยมทอง
ปีงบประมาณ 2557

บทคัดย่อ

จากการศึกษาฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคของเชื้อราจำนวน 315 ไอโซเลต ที่แยกได้จากดินถ้ำใน 7 จังหวัดในภาคใต้ของประเทศไทย พบว่า เมื่อนำน้ำเลี้ยงเชื้ออายุ 3 สัปดาห์ ของราดินถ้ำที่แยกได้ ไปทดสอบฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคในคน 7 ชนิด คือ *Staphylococcus aureus* ATCC25923, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* SK1, *Escherichia coli* ATCC25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853, *Candida albicans* ATCC90028, *Cryptococcus neoformans* ATCC90012 และ *Microsporium gypseum* โดยวิธี agar well diffusion method พบว่ามีเชื้อราจำนวน 108 ไอโซเลต (34.3%) ที่ยับยั้งจุลินทรีย์ทดสอบได้อย่างน้อย 1 ชนิด เมื่อนำน้ำเลี้ยงเชื้อราและเส้นใยราที่มีฤทธิ์ในการทดสอบน้ำเลี้ยงเชื้อ ไปสกัดสารด้วยตัวทำละลาย แล้วนำสารสกัดหยาบที่ได้มาทดสอบฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคด้วยวิธี colorimetric broth microdilution พบว่ามีสารสกัดหยาบจำนวน 129 สารจากสารสกัดหยาบทั้งหมด 324 สาร (39.8%) ที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ที่ระดับความเข้มข้น 200 µg/ml โดยให้ค่า MIC ต่ำสุดสำหรับเชื้อ *S. aureus*, MRSA, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *C. albicans*, *C. neoformans* and *M. gypseum* เท่ากับ 16, 16, 128, 128, 8, 8, และ 32 µg/mL ตามลำดับ มีสารสกัดเพียง 1 สารที่มีฤทธิ์ฆ่าจุลินทรีย์ และมีสารสกัดหยาบจำนวน 3 สารที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ 5-6 ชนิด เมื่อนำสารดังกล่าวไปบันทึกข้อมูล ข้อมูล ¹H-NMR พบว่าสามารถแบ่งสารได้เป็น 6 กลุ่ม ซึ่งมีบางกลุ่มที่ให้ข้อมูล ¹H-NMR ที่น่าสนใจ จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อราดินถ้ำ 315 ไอโซเลต พบว่าเป็นเชื้อราใน division Eumycota ใน sub-division Zygomycotina และ Deuteromycotina ซึ่งใน sub-division Zygomycotina พบ 1 genus คือ *Cunninghamella* sp. (n=2) ส่วนใน sub-division Deuteromycotina จัดเป็นเชื้อราในกลุ่ม Hyphomycetes (n=271) ได้แก่ *Aspergillus* sp. (n= 111), *Penicillium* sp. (n= 91), *Trichoderma* sp. (n=37), *Fusarium* sp. (n= 14), *Curvularia* sp. (n=13), *Gliocladium* sp. (n=2) และ *Acremonium* sp. (n=2) และ *Paecilomyces* sp. (n=2) ส่วนเชื้อราที่เหลือจำนวน 42 ไอโซเลต เป็นเชื้อราในกลุ่ม mycelia sterilia เชื้อราถ้ำที่สร้างสารออกฤทธิ์ดี 14 ไอโซเลต เป็นเชื้อราในจีนัส *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* และ *Trichoderma*

จากการศึกษาในครั้งนี้นอกจากแสดงให้เห็นถึงความหลากหลายของราดินถ้ำแล้ว ยังพบว่าเชื้อราดินถ้ำเป็นแหล่งของสารออกฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคที่สำคัญที่อาจนำไปใช้ในการควบคุมโรคติดเชื้อในมนุษย์ได้

Research Title: Antimicrobial Activities of Fungi Isolated from Cave Soils in Southern Region of Thailand
Resercher : Sumalee Liamthong

ABSTRACT

The aim of this study was to study antimicrobial activities of cave fungi isolated from cave soils in 7 provinces in the southern region of Thailand. Three week old fermentation broths of 315 isolates of cave fungi were tested for antimicrobial activity against 7 human pathogens including *Staphylococcus aureus* ATCC25923, Methicillin resistant *S. aureus* SK1, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853, *Escherichia coli* ATCC25922, *Candida albicans* ATCC90028, *Cryptococcus neoformans* ATCC90112 and *Microsporum gypseum* using the agar well-diffusion method. Fermentation broths and cells of active cave fungi were further extracted with chemical agents and tested for minimum inhibitory concentrations (MIC) using the colorimetric broth microdilution method. The results show that 129 of the total of 324 crude extracts (39.8%) produced MIC \leq 200 μ g/ml. The lowest MIC for *S. aureus*, MRSA, *P. aeruginosa*, *E. coli*, *C. albicans*, *C. neoformans* and *M. gypseum* were 16, 16, 128, 128, 8, 8, and 32 μ g/mL, respectively. Only one crude extract killed pathogen and 3 crude extracts inhibited 5-6 pathogens. Twenty crude extracts were chemically analysis using the $^1\text{H-NMR}$ method. The results showed 6 groups of $^1\text{H-NMR}$ profiles and some profiles poses interesting characteristic. Morphological studies of all 315 isolates of cave fungi revealed that these isolates belong to the division Eumycota in sub-division Zygomycotina and Deuteromycotina. Sub-division Zygomycotina found 1 genus, *Cunninghamella* sp. (n=2). Subdivision Deuteromycotina includes 271 isolates of Hyphomycetes including *Aspergillus* sp. (n= 111), *Penicillium* sp. (n= 91), *Trichoderma* sp. (n=37), *Fusarium* sp. (n= 14), *Curvularia* sp. (n=13), *Gliocladium* sp. (n=2) and *Acremonium* sp. (n=2) และ *Paecilomyces* sp. (n=2). Moreover, it also includes 42 isolates of sterile hyphae. The 14 top cave fungi were identified by morphological characteristics and molecular technique. The result showed that these 14 isolates belonged to 4 genus; *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* and *Trichoderma*

This study indicates that cave fungi not only diverse but also are potential sources of antimicrobial substances that might assist in the control of infectious diseases in humans.